

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane MIRA-Béjaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Spécialité : Pharmacotoxicologie



جامعة بجاية
Tasdawit n Bgayet
Université de Béjaïa

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Thème

**Effets immunodulateurs et anti-
inflammatoires des alcaloïdes isoquinoléiques
de *Fumaria capreolata***

◆ *Réalisé par* : Mr BENOUARET Karim et Mr BEHLOULI Boubekeur

◆ *Encadré par* : Mr BRIBI Noureddine

◆ *Soutenu le* : 12/09/2022 devant le jury composé de :

Mr BRIBI.N*MCA*.....*Encadreur*

M^{me} KARA.S.....*MCB*..... *Présidente*

M^{me} ABDELOUAHAB.K*MCB*.....*Examinatrice*

Année universitaire 2021/2022

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre entière reconnaissance envers **Mr BRIBI Nouredine**, l'encadreur de ce mémoire, qui nous a donné l'opportunité de travailler sur une expérimentation animale. Nous le remercions pour sa disponibilité, ses pertinents conseils et pour les efforts qu'il avait consentis durant la réalisation de ce mémoire.

Nous ne manquerons pas de remercier aussi les doctorants qui sont sous sa direction, **Mr MALEK Amar**, **Mr FERHAT Riad**, **M^{lle} AZIEZ Meriem**, **M^{lle} AFFENAI Safia** et **Mr MERAKEB Mohamed-Sofiane**, auprès de qui nous avons appris énormément de choses.

Nous adressons également nos remerciements aux membres du jury à savoir **M^{me} KARA.S** et **M^{me} ABDELOUAHAB.K** qui ont accepté d'examiner ce travail.

Dédicaces

Nous dédions ce travail à Karim et Boubekeur.

Liste des tableaux

Tableau 1: Gènes mutants impliqués dans les MICI.....	6
Tableau 2: Solubilité des alcaloïdes.....	18
Tableau 3: Critères de classification des alcaloïdes.....	19
Tableau 4: Types d'alcaloïdes et leurs précurseurs	21
Tableau 5: Médicaments contenant des alcaloïdes	23
Tableau 6: Description botanique de <i>Fumaria capreolata</i>	25
Tableau 7: Conditions et gestion de l'environnement d'expérimentation	26
Tableau 8: Reactifs et appareillage	48

Liste des figures

Figure 1: Représentation schématique des pathologies regroupées sous le terme de MICI	3
Figure 2: Localisation des atteintes intestinales	4
Figure 3: Représentation schématique de l'interaction des facteurs impliqués dans les MICI	5
Figure 4 : Représentation schématique d'une paroi intestinale saine	10
Figure 5: Représentation schématique d'une paroi intestinale enflammée	12
Figure 6: Structure des trios types d'anti-TNF	15
Figure 7: Noyaux de base des alcaloïdes	21
Figure 8: Photographie de <i>Fumaria capreolata</i> , A:fruits, B: fleurs, C:feuilles.... Error! Bookmark not defined.	
Figure 9: Photographie d'une souris Balb/c.....	26
Figure 10: Protocole d'extraction des alcaloïdes de <i>Fumaria capreolata</i>	28
Figure 11: Protocole expérimentale préventif.....	29
Figure 12: Administration des différents traitements par voie orale	30
Figure 13: Induction de l'inflammation : administration du DNBS par voie rectale.....	31
Figure 14: Souris disséquée et récupération de la rate et du colon	32
Figure 15 : Evolution du poids corporel des souris traitées avec AFC.	37
Figure 16: Rapport P/L des côlons des souris des différents lots expérimentaux.....	38
Figure 17: Morphologie générale des colons de souris des différents lots.....	38
Figure 18: Evaluation de la concentration en NO chez les différents lots expérimentaux.....	39
Figure 19: Evaluation de la concentration en GSH chez les différents lots expérimentaux.....	40

Liste des abréviations

Ac: anticorp.

AFC : alcaloïdes totaux de *Fumaria capreolata*.

ASA: aminosalicylique.

AZA : azathioprine

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

COX2: cyclo-oxygénase 2

DNBS : di nitrobenzène sulfonique.

DTNB: 5,5 dithio-bis-2-nitobenzoïque

GALT: Gut-associated lymphoid tissue.

GSH: glutathion

HGPRT: hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase.

IFN- γ : Interféron γ .

IgA: Immunoglobuline A.

IgG : Immunoglobuline G.

iNOS: inductible nitric oxyde synthase.

IL-10 : Interleukine 10.

LB: Lymphocytes B.

LT: Lymphocytes T.

LTh: Lymphocytes T helper.

MC : maladie de Crohn.

MDA: malonaldéhyde

MDP: muramyl dipeptide.

MICI : maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

MMP: méthyl-mercaptopurine.

MTX : méthotrexate.

NED: N-(1-Naphyl)éthylé diamine

NO: nitric oxide

NOD2: nucleotide-binding oligomerization domain 2.

PBS: Phosphate-buffered saline.

PGE2: Prostaglandine E2.

RCH : recto-colite hémorragique .

TBA: acide thiobarbiturique

TCA: acide trichloracétique

TG: thioguanine .

TGF- β : Transforming growth factor β .

TLR: Toll Like Receptors.

TNB: acide thionitrobenzoïque

TNF α : Tumor necrosis factor α .

TPMT: thiopurine methyl transferase

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	III

Sommaire

Introduction	1
I. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin	3
I.1 Définition et généralités.....	3
I.2 Topographie et caractéristiques des lésions intestinales	4
I.3 Manifestations cliniques	4
I.4 Etiologie de MICI.....	5
I.5 Physiopathologie des MICI	8
I.6 Traitements des MICI.....	12
I.7 Phytothérapie et MICI	15
II. Les alcaloïdes	17
II.1 Définition	17
II.2 Etat naturel et répartition botanique	17
II.3 Rôles des alcaloïdes dans la plante	18
II.4 Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes.....	18
II.5 Classification et structure chimique des alcaloïdes	19
II.6 Propriétés pharmacologiques	22
III. Matériel et méthodes	25
III.1 Matériel.....	25
III.1.1 Matériel végétal.....	25
III.1.2 Matériel animal	26
III.2 Méthodes.....	27
III.2.1 Récolte et conservation de <i>Fumaria capreolata</i>	27
III.2.2 Extraction des alcaloïdes	27
III.2.3 Evaluation de l'effet préventif anti-inflammatoire des alcaloïdes de <i>Fumaria capreolata</i>	29

IV. Résultats et discussion	36
IV.1 Résultats.....	36
IV.1.1 Taux d'extraction des alcaloïdes totaux	36
IV.1.2 Evaluation de l'effet préventif anti-inflammatoire de AFC	36
IV.2 Discussion.....	40
Conclusion	43
Références bibliographiques	44
Annexe	
Résumé	

Introduction

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) désignent deux entités, la maladie de Crohn (MC) et la recto-colite hémorragique (RCH). Ce sont des maladies qui affectent le tractus digestif à travers de graves lésions tissulaires qui se manifestent par des douleurs abdominales ainsi que d'autres symptômes tout aussi désagréables. Ces maladies atteignent des personnes jeunes, durent toute la vie et s'accompagnent d'une dégradation de la qualité de vie (**Racine, 2015**).

Actuellement, les MICI sont non curables, en principe, la prise en charge tend à minimiser les symptômes, pour cela on fait appel à des traitements conventionnels à savoir les aminosalicylates, les corticoïdes, les immunosuppresseurs et les antibiotiques (**Sairenji et al., 2017**). Ces traitements montrent une efficacité chez la plupart des patients, mais ils sont associés à des effets secondaires lourdement supportable par ces derniers, d'où l'émergence d'autres alternatives thérapeutiques qui sont en quête de nouvelles molécules thérapeutiques avec le moins d'effets secondaires possibles.

La phytothérapie est le parfait exemple d'alternative thérapeutique, en effet, le règne végétal renferme un nombre inépuisable de molécules bioactives qui se sont manifestés autrefois à travers la médecine traditionnelle. Les alcaloïdes représentent une famille fascinante de métabolites secondaires dotés d'un arsenal d'effets pharmacologiques, ce sont des composés qui figurent déjà sur le marché et qui sont employés en médecine formelle, à titre d'exemple, la morphine qui est le chef de file des analgésiques et bien d'autres (**Aniszewski, 2015**). Des récentes études à caractère ethnobotaniques, phytochimiques et pharmacologiques faites sur les fumariacées, une famille de plantes médicinales, révèlent un lien direct entre les alcaloïdes et certaines activités biologiques telles : antibactériennes, antitumorales, anti-inflammatoires et hépato-protectives (**Zhang et al., 2020**).

L'aspect curatif des alcaloïdes totaux de *Fumaria capreolata* (AFC) vis-à-vis de l'inflammation intestinale ayant déjà été évalué et ayant montré d'excellents résultats (**Bribi *et al.*, 2016**), cette présente étude par voie de logique aura pour but d'évaluer l'aspect préventif anti-inflammatoire de AFC, cela à travers un modèle murin de colite induite par l'acide di nitrobenzène sulfonique (DNBS).

Ce manuscrit est scindé en trois volets, le premier volet est purement théorique, c'est une synthèse bibliographique des connaissances existantes dans la littérature sur les deux mots-clés phare qui constituent le thème de ce travail à savoir les alcaloïdes et les MICI. Le deuxième volet quant à lui expose l'aspect pratique de toute cette étude à travers la description du matériel végétal et animal ainsi que toutes les étapes de la procédure expérimentale. Enfin, le troisième volet est consacré pour l'exposition des résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

Synthèse bibliographique

I. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)

II. Les alcaloïdes



I. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

I.1 Définition et généralités

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) sont des pathologies qui correspondent à une inflammation chronique du système digestif (principalement de l'intestin) évoluant par poussées inflammatoires de durées variables (phase symptomatique) entrecoupées par des phases de rémission (phase asymptomatique) (Flynn *et al.*, 2019).

Le terme MICI regroupe deux entités principales, la maladie de Crohn (MC) d'une part et la rectocolite hémorragique (RCH) d'autre part, diagnostiquées en fonction de l'observation chez le patient de critères cliniques, endoscopiques, radiologiques et histologiques précis (Kökten *et al.*, 2016). Pour 15 % des patients souffrant de MICI, les signes observés ne permettent pas de définir l'une ou l'autre de ces entités pathologiques et on parle alors de « colite indéterminée » (Figure 1).

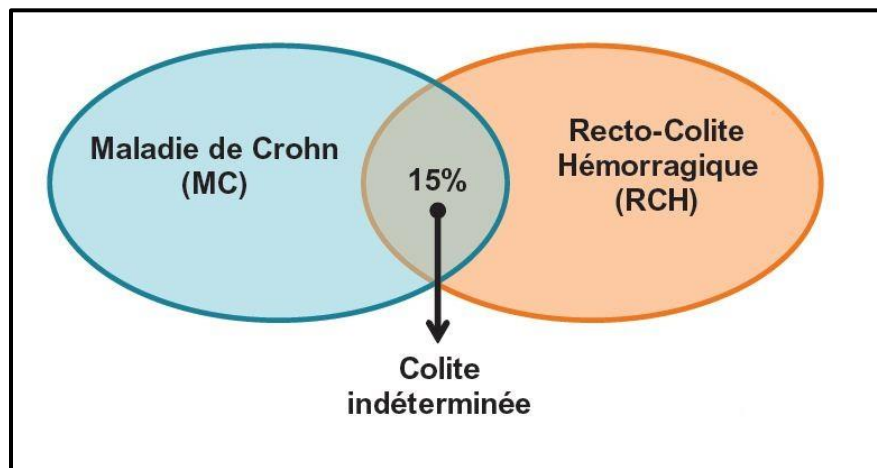


Figure 1: Représentation schématique des pathologies regroupées sous le terme de MICI (Kökten *et al.*, 2016).

I.2 Topographie et caractéristiques des lésions intestinales

La RCH atteint exclusivement le rectum et le côlon tandis que la MC peut toucher tout le tube digestif avec une prédilection pour la région iléo-caecale (**Figure 2**). Tandis que les lésions de RCH sont superficielles (limitées à la muqueuse ou la sous muqueuse), la MC se caractérise par une atteinte transmurale de la paroi intestinale. Ainsi trois phénotypes lésionnels sont décrits au cours de la MC: les formes inflammatoires, sténosantes et perforantes (**Racine, 2015**).

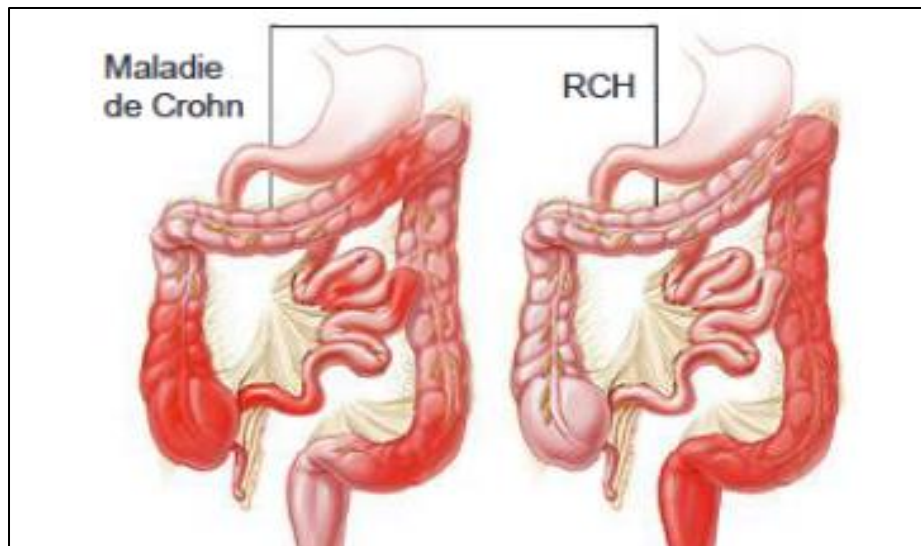


Figure 2: Localisation des atteintes intestinales (**Racine, 2015**).

I.3 Manifestations cliniques

I.3.1 Recto-colite hémorragique

La RCH ne touche que le rectum et le colon, et va se manifester par une diarrhée chronique avec plusieurs selles glairosanglantes par jour, des urgences, une fatigue et potentiellement un retard de croissance chez l'enfant (**Altwegg et al., 2020**).

I.3.2 Maladie de Crohn

La MC peut toucher tout le tube digestif, de la bouche à l'anus, les symptômes de la MC varient selon la localisation des lésions. Les symptômes le plus souvent décrits sont un retard de croissance staturopondéral chez l'enfant, des douleurs abdominales chroniques, une diarrhée chronique, une perte de poids, une fatigue chronique, des lésions anales (fissures, fistules, abcès),

I. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

avec un risque de complications à type de sténose, fistule et cancer colique (Altwegg *et al.*, 2020).

I.4 Etiologie de MICI

L'étiologie des MICI reste inconnue. Il est communément admis que ce sont des pathologies multifactorielles complexes. Différentes études ont démontré l'implication, en proportions variables, de facteurs génétiques, environnementaux et un rôle du microbiote intestinal dans la survenue de ces pathologies. L'hypothèse étiologique décrit ces pathologies comme une réponse inflammatoire et immunitaire anormale vis-à-vis de la microflore intestinale déclenchée ou aggravée par des facteurs environnementaux, chez des individus génétiquement prédisposés (Figure 3) (Kökten *et al.*, 2016).

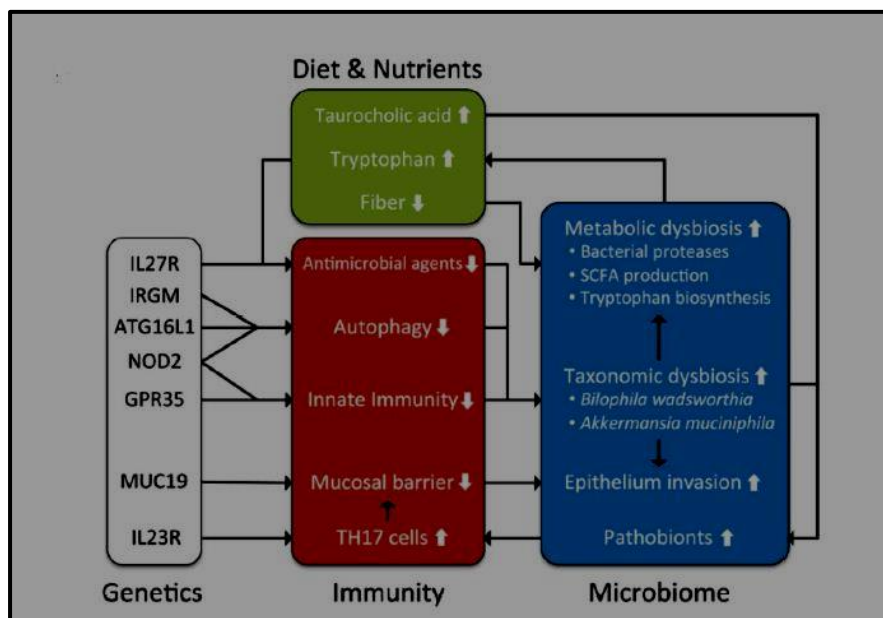


Figure 3: Représentation schématique de l'interaction des facteurs impliqués dans les MICI (Knights *et al.*, 2012).

I.4.1 Facteurs génétiques

La prédisposition génétique impliquée dans la pathogénicité des MICI a été d'abord montrée par des études épidémiologiques, puis d'autres études ce sont succédées afin d'identifier des gènes prédisposant. Le premier gène identifié a été le NOD2 (nucleotide-binding oligomerization domain 2) pour la MC. Ce gène est exprimé par les cellules immunitaires

I. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

(macrophages, lymphocytes, cellules dendritiques) et épithéliales (cellules de Paneth), celui-ci code pour un récepteur intracellulaire impliqué dans la reconnaissance des motifs muramyl-dipeptide (MDP) qu'on trouve sur la paroi bactérienne. Trois mutations ont été identifiées pour ce gène et sont présentes chez 50 % des patients atteints et affectent la réponse immunitaire innée (Kökten *et al.*, 2016).

Plus de 240 gènes prédisposant impliqués dans les MICI ont été identifiés (Tableau 1). Ces gènes codent pour des protéines impliquées dans diverses fonctions biologiques telles que l'immunité, l'autophagie, le stress du réticulum endoplasmique, l'intégrité de la barrière intestinale (Flynn *et al.*, 2019).

Tableau 1: Gènes mutants impliqués dans les MICI (Altwegg <i>et al.</i> , 2020).	
Maladie	Gènes mutants
MC	PTPN22, ADAM30, UCN, FASLG, TNFSF18, SP140, ATG16L1, IL6ST, IL31RA, CPEB4, TAGAP, CEB5, JAZF1, RIPK2, LACC1, RASGRP1, SPRED1, NOD2, LGALS9, NOS2, GPX4, FUT2, HMHA1, IFNGR2, IFNAR1
RCH	TNFRSF14, RFTN2, PLCL1, PRKCD, ITIH4, NFKB1, MANBA, SLC9A3, CARD11, GNA12, DLD, IRF5, JRKL, MAML2, FAM55A, FAM55D, ITGAL, ZFP90, CALM3, ADA, HNF4A
MC et RCH	TNFRSF18, TNFRSF4, TNFRSF9, IL23R, RORC, CD48, FCGR2A/B, FCGR3A, C1orf53, KIF21B, IL10, ADCY3, FOSL2, BRE, REL, SPRED2, IL18RAP, IL1R1, IFIH1, IL18RAP, IL1R1, GPR35, MST1, PFKB4, IL2, IL21, DAP, PTGER4, ERAP2, ERAP1, IBD5 locus, SPRY4, NDFIP1, IRGM, IL12B, DOK3, TRAF3IP2, TNFAIP3, PHACTR2, CCR6, RPS6KA2, ZPBP, IKZF1, SMURF1, EPO, TRIB1, JAK2, NFIL3, TNFSF15, CARD9, IL2RA, IL15RA, MAP3K8, CREM, CISD1, IPMK, TSPAN14, C10orf58, NKX2-3, TNNI2, LSP1, CNTF, LPXN, CD6, RELA, CCDC88B, CXCR5, MUC19, LOH12CR1, VDR, IFNG, SMAD3, GPR183, GPR18, ZFP36L1, FOS, MLH3, GPR65, GALC, CRT3, SOCS1, LITAF, PRKCB, IL27, IRF8, CCL13, CCL2, ORMDL3, STAT3, TUBD1, RPS6KB1, SMAD7, CD226, TYK2, CEBPG, HCK, CD40, DNMT3B, CEBPB, ZNF831, CTSZ, ICOSLG, TNFRSF6B, LIF, OSM

I. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

I.4.2 Facteurs environnementaux

L'implication des facteurs environnementaux dans l'incidence des MICI a été constatée grâce à des études épidémiologiques. En effet, le premier constat stipule que les MICI sont plus fréquentes dans les pays industrialisés que dans les pays en voie de développement. Seuls le tabagisme et l'appendicectomie sont considérés comme facteurs certains (**Kökten et al., 2016**).

Le tabagisme a des effets contradictoires pour chacune des entités pathologiques, il paraît protecteur pour la RCH et délétère pour la MC. Dans le cas de la RCH, l'effet protecteur du tabac est dû à une augmentation de l'épaisseur de la couche du mucus au niveau du côlon, une diminution du flux vasculaire et une diminution de la perméabilité membranaire. En revanche, le tabagisme aggrave l'évolutivité de la MC en augmentant le risque de récurrence et le recours aux interventions chirurgicales (**Racine, 2015**).

L'appendicectomie est le deuxième facteur environnemental dont le rôle a été clairement établi dans les MICI. Différentes études ont démontré qu'une intervention chirurgicale pour une appendicite aiguë avant l'âge de 20 ans avait un effet protecteur vis-à-vis de la RCH en réduisant d'environ 70 % le risque d'apparition de cette pathologie. En revanche dans le cas de la MC, la mise en évidence de son effet direct reste difficile à prouver mais il pourrait augmenter le risque de survenue de la maladie (**Kökten et al., 2016**).

I.4.3 Dysbiose intestinale

Le tube digestif abrite environ 10^{14} micro-organismes avec plus de 1 000 espèces bactériennes différentes. Le microbiote intestinal se compose de 4 grands groupes bactériens majoritaires : *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* et *Proteobacteria*, dont les proportions sont régulées en permanence. La dysbiose correspond à un déséquilibre entre la quantité de bactéries dites « protectrices » (*Bifidobacteria*, *Lactobacilli*) et de bactéries dites « délétères » (*Bacteroides*, *Escherichia coli*, *Enterobacter*) (**Kökten et al., 2016**).

Les bactéries dites protectrices possèdent des propriétés anti-inflammatoires, d'une part en inhibant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les cellules du système immunitaire et d'autre part en favorisant la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires (**Kökten et al., 2016**).

I. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

L'origine de ce déséquilibre est mal connue, néanmoins, il existe un argument en faveur des facteurs génétiques car les gènes de prédisposition aux MICI sont des gènes intervenant dans les interactions hôte/bactéries (Altwegg *et al.*, 2020).

I.5 Physiopathologie des MICI

Deux importantes défenses sont à la disposition de l'intestin. La première s'agit de la muqueuse intestinale qui est caractérisée par une immunité innée. La deuxième correspond à des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses appelés GALT (Gut-associated lymphoid tissue), situés dans la lamina propria sous forme diffuse ou dans les plaques de Peyer sous forme de sites organisés (Mowat, 2003). Leur fonction principale est la discrimination entre les antigènes commensaux (microbiote naturel, antigènes alimentaires,...) et les antigènes pathogènes afin d'assurer une réponse immune rapide et efficace (Hamada *et al.*, 2002).

I.5.1 Situation au niveau d'une paroi intestinale saine

L'épithélium intestinal est doté de plusieurs constituants qui assurent l'invasion des micro-organismes laminaux vers le milieu interne (Figure 4).

Les cellules épithéliales à villosités (cellules caliciformes ou en gobelet) sécrètent un mucus qui constitue à la fois une barrière physique et chimique face aux agents pathogènes et permet de séquestrer les micro-organismes (commensaux ou pathogènes) de la lumière intestinale (McGuckin *et al.*, 2009).

Les cellules épithéliales à cryptes (cellules de Paneth) sont à l'origine de la synthèse de peptides antimicrobiens (léctines, défensines) dans le mucus afin de lyser les membranes des bactéries qui y sont séquestrées (Roda *et al.*, 2010).

La présence de jonctions serrées intercellulaires (E-cadherine, N-cadherine, Occludine, Claudine,...) entre les cellules épithéliales rend la muqueuse impénétrable par les bactéries liminales (Roda *et al.*, 2010).

La paroi intestinale est dotée d'une grande capacité de renouvellement qui permet le remplacement rapide des cellules endommagées. La muqueuse intestinale contient aussi des cellules de l'immunité innée (cellules dendritiques, macrophages, neutrophiles) qui ont pour but

I. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

la reconnaissance des antigènes pathogènes et déclencher une réponse immunitaire (Kökten *et al.*, 2016).

I.5.2 Reconnaissance des antigènes

I.5.2.1 Reconnaissance luminale

Les cellules M présentes dans l'épithélium sont capables de détecter et internaliser les antigènes présents sur les bactéries lumineales grâce à un mécanisme d'endocytose. Les antigènes capturés vont être transférés aux cellules dendritiques présentes dans les plaques de Peyer. Cette action permet l'élimination des bactéries pathogènes avant multiplication et envahissement de la muqueuse (Figure 4) (Kökten *et al.*, 2016).

I.5.2.2 Reconnaissance après envahissement de la muqueuse

Dans ce cas, les antigènes sont reconnus par les lymphocytes (LT) diffus dans les GALT et les cellules dendritiques de la lamina propria (Mowat, 2003). Après migration vers les ganglions lymphatiques mésentériques, les cellules dendritiques présentent les antigènes aux LT CD4 naïfs (immatures) pour induire leur différenciation. Les lymphocytes B (LB) sont également activés afin de sécréter des Immunoglobulines A (IgA) qui vont protéger les muqueuses (Smith, *et al.*, 2002)

Les cellules épithéliales sont aussi capables de reconnaître certains micro-organismes (commensaux ou pathogènes) à travers des récepteurs extracellulaires les TLR (Toll Like Receptors) et intracellulaires, notamment NOD2, et faire la présentation antigénique aux LT CD4 naïfs grâce à leurs molécules de CMH (Maloy *et al.*, 2011).

I.5.2.3 Reconnaissance des antigènes non pathogènes (alimentaires et commensales)

Les cellules épithéliales, les cellules mésenchymateuses et les macrophages vont sécréter des cytokines à savoir TGF- β et PGE2, ces cytokines vont à leur tour induire la maturation et la migration des cellules dendritiques vers les ganglions lymphatiques mésentériques afin de synthétiser de l'IL-10 (cytokine anti-inflammatoire) (Swidsinski *et al.*, 2002).

I. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

L'IL-10 agira en orientant la différenciation des LT CD4⁺ naïfs en LT régulateurs qui vont synthétiser de l'IL-10 et de l'IFN- γ pour d'une part, inhiber l'activation des LT effecteurs LTh1, LTh2 et LTh17 responsables de l'augmentation du taux de sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, et d'autre part, inhiber les macrophages qui permettent l'élimination des agents pathogènes et le recrutement des polynucléaires neutrophiles responsables des lésions intestinales (Figure 4) (Mowat, 2003).

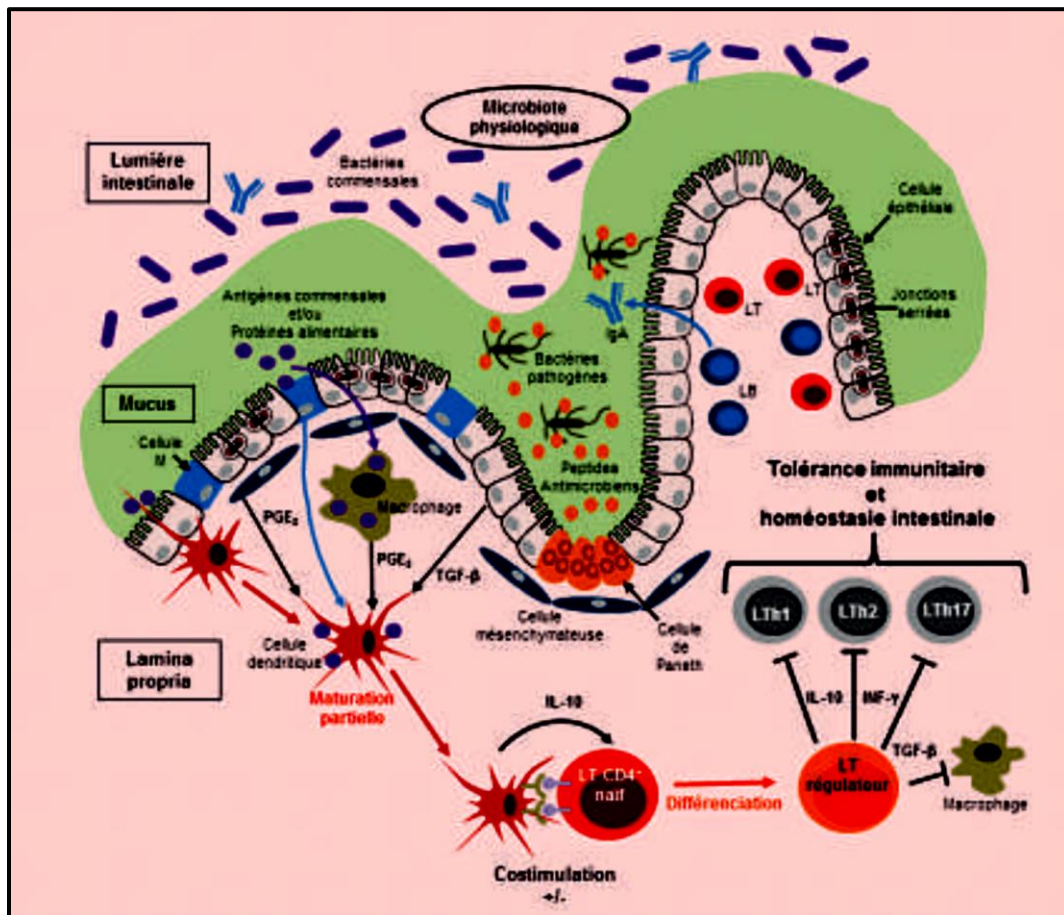


Figure 4 : Représentation schématique d'une paroi intestinale saine (Kökten *et al.*, 2016)

I.5.3 Situation au niveau d'une paroi intestinale enflammée

Les facteurs environnementaux et génétiques contribuent à la perte des mécanismes de contrôle de la flore intestinale comme la diminution de la sécrétion de mucus et de peptides antimicrobiens par les cellules épithéliales (Khor *et al.*, 2011). Cela provoque la mise en place d'une dysbiose intestinale, autrement dit la diminution de la quantité de bactéries « protectrices »,

I. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

ce qui engendre également l'inactivation de l'inhibition de la prolifération des bactéries «délétères » (Manichanh *et al.*, 2006). D'autre part, cela impactera les jonctions intracellulaires de l'épithélium augmentant ainsi la perméabilité et le risque d'envahissement de la lamina propria (Kamada *et al.*, 2013).

Les phénomènes de déséquilibre cités précédemment, auront pour conséquence une activation excessive du système immunitaire qui va aboutir à une inflammation chronique qui engendrera l'apparition des lésions intestinales qui seront accompagnées par des douleurs abdominales (Kökten *et al.*, 2016).

Cette activation excessive du système immunitaire se manifeste par l'augmentation des cytokines pro-inflammatoires. Les cellules épithéliales, les cellules mésenchymateuses et les macrophages vont synthétiser des cytokines pro-inflammatoires comme IL-1 β , IL-6 et IL-8 au lieu des cytokines anti-inflammatoires TGF- β et de PGE2. Contrairement à ce qui se passe dans la muqueuse saine, l'action conjointe de ces cytokines pro-inflammatoires et des antigènes pathogènes reconnus par les cellules dendritiques induiront la maturation complète de celles-ci après migration vers les ganglions lymphatiques mésentériques, les cellules dendritiques matures synthétiseront un fort taux d'IL-12 pro-inflammatoire au lieu de l'IL-10 et la différenciation des LT CD4+naïfs en lymphocytes T effecteurs LTh1, LTh2 et LTh17 (Mowat, 2003).

Finalement, les LT effecteurs vont amplifier l'inflammation en sécrétant à leur tour des cytokines pro-inflammatoires comme : IFN- γ , TGF- β , IL-4 et IL-17 (Mowat, 2003). En effet, les LTh1 permettent l'expansion de la réponse cellulaire en activant les LT cytotoxiques CD8+ et les macrophages qui vont permettre l'élimination des bactéries pathogènes. Les LTh2 permettent la mise en place d'une réponse immunitaire humorale qui active les LB sécrétant des IgA et IgG pour combattre l'infection. Quant aux LTh17, ils sont impliqués à la fois dans le recrutement massif des cellules de l'immunité innée comme les neutrophiles responsables des lésions intestinales mais également dans l'amplification de l'inflammation (Witowski *et al.*, 2000) (Figure 5).

I. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

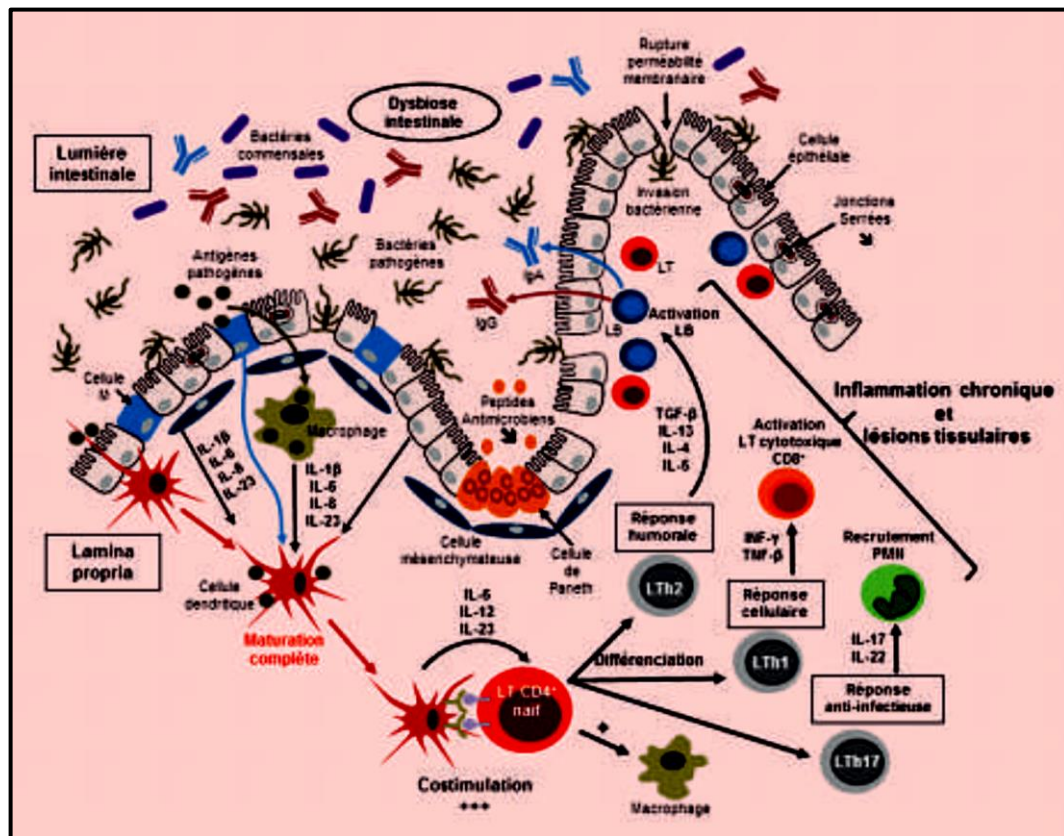


Figure 5: Représentation schématique d'une paroi intestinale enflammée (Kökten *et al.*, 2016).

I.6 Traitements des MICI

Les traitements des MICI ont pour but le maintien de la rémission (phase asymptomatique), ce ne sont pas des traitements étiologiques, ils ont seulement un effet suspensif, c'est-à-dire que l'arrêt de la prise du médicament entraîne la reprise de la maladie. Ces traitements diffèrent selon l'atteinte et la sévérité de la maladie (Racine, 2015). Le choix de la stratégie du traitement commence obligatoirement par la détermination du degré de sévérité de la maladie (Sairenji *et al.*, 2017). Le traitement des MICI ne se contente pas par la prescription d'un unique médicament, mais il s'agit d'une stratégie thérapeutique qui consiste à combiner d'une manière bien précise les différents types de médicaments afin d'atteindre une efficacité thérapeutique meilleure (Sairenji *et al.*, 2017).

I.6.1 Les Corticoïdes

Les corticoïdes sont un traitement des poussées inflammatoires, ils permettent la rémission chez 60 à 90% des patients. Environ un tiers des malades deviennent cortico-dépendants. La corticothérapie n'influence pas l'évolution à long terme de la maladie et est associée à des effets secondaires importants en cas de traitement prolongé (**Racine, 2015**). Les principaux corticoïdes utilisés pour traiter les MICI sont : l'hydrocortisone, le prednisone, le méthylprednisolone et le budesonide (**Sairenji et al., 2017**).

L'effet anti-inflammatoire des corticoïdes consiste à limiter favorablement les conséquences néfastes des inflammations aiguës et freiner l'évolution des lésions résultant des inflammations chroniques, mais elles ont un effet défavorable sur les aspects protecteurs de ces phénomènes et sur la cicatrisation. Leurs actions thérapeutiques sont : l'inhibition de la phospholipase A2, de la cascade de l'acide arachidonique et de la cyclo-oxygénase 2 (COX2), diminution de la libération d'histamine par les mastocytes, diminution du chimiotactisme et de l'afflux cellulaire (leucocytes) au niveau du foyer inflammatoire, diminution de l'activité des mononucléaires et de la néogénèse vasculaire, diminution de la prolifération des fibroblastes et de la production de collagène (**Dangoumau et al., 2006**).

Les corticoïdes interviennent à des niveaux multiples des processus immunitaires, directement sur certains lymphocytes, indirectement par l'intermédiaire des cytokines ou du complément. Leurs principaux points d'action sont : la diminution de la production de cytokines (notamment IL1, IL6, TNF α), diminution de la production clonale de lymphocytes T (la présentation de l'antigène par les macrophages n'aboutit pas à la prolifération du clone de lymphocytes T correspondant), diminution de l'activité des lymphocytes T-helper, diminution de la production de complément, diminution de la production des immunoglobulines IgG (**Kökten et al., 2016**).

I.6.2 Les aminosalicylates

Les aminosalicylates sont prescrits pour traiter des formes minimales à modérées de RCH. Les aminosalicylates utilisés sont : le sulphasalazine et l'acide 5-aminosalicylique (5-ASA) (**Sairenji et al., 2017**). Ce sont des inhibiteurs des deux types de cyclo-oxygénase de manière irréversible (**Dangoumau et al., 2006**).

I.6.3 Immunosuppresseurs

Les immunosuppresseurs permettent de contrôler durablement l'activité de la maladie, en diminuant de près de 50% le risque de poussée et en permettant une épargne corticoïde (Racine, 2015). Les principaux immunosuppresseurs utilisés pour le traitement des MICI sont l'azathioprine (AZA) et le méthotrexate (MTX) (Sairenji *et al.*, 2017).

L'AZA est prescrit en premier lieu, en cas d'échec ou de non tolérance, on a recourt au MTX. Après administration par voie orale, l'AZA est transformé en différents métabolites dont la 6-méthyl-mercaptopurine (6-MMP) via la thiopurine methyl transferase (TPMT), l'acide 6-thiourique via la xanthine oxydase (XO), et la 6-thioguanine (6-TG) via l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase-independent toxicity (HGPRT). La 6-TG est considérée comme le principal métabolite actif de l'AZA (Desreumaux, 2004).

L'effet immunosuppresseur et cytotoxique est basé sur l'incorporation des 6-TGN dans l'ADN notamment des lymphocytes. Le 6-TGN agit en inhibant la protéine RAC1 qui est un agent anti-apoptotique, par voie de conséquence le processus d'apoptose sera enclenché (Desreumaux, 2004).

I.6.4 Anti-TNF

Les anti-TNF (biothérapies) sont un traitement de deuxième intention en cas de poussée sévère corticorésistante et en cas d'échec ou d'intolérance du traitement de fond par immunosuppresseurs (Racine, 2015).

Le TNF α joue un rôle primordial dans la pathogenèse des lésions inflammatoires intestinales. Les anticorps (AC) anti-TNF α permettent de neutraliser le TNF α . Trois différents types d'AC chimériques dirigés contre le TNF α sont utilisés à visée thérapeutique dans la MC. Le premier est un AC chimérique (infliximab) de type IgG1, humanisé à 75 %. Le second est un AC humanisé à 100 % de type IgG1 (adalimumab) et le troisième un AC complètement humanisé, pégylé et sans fragment constant d'Ig (CDP870) (Figure 6) (Desreumaux, 2004).

L'association des anti-TNF et des immunosuppresseurs tend à s'imposer comme le standard dans les formes moyennes à sévères de MICI (Racine, 2015).

I. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

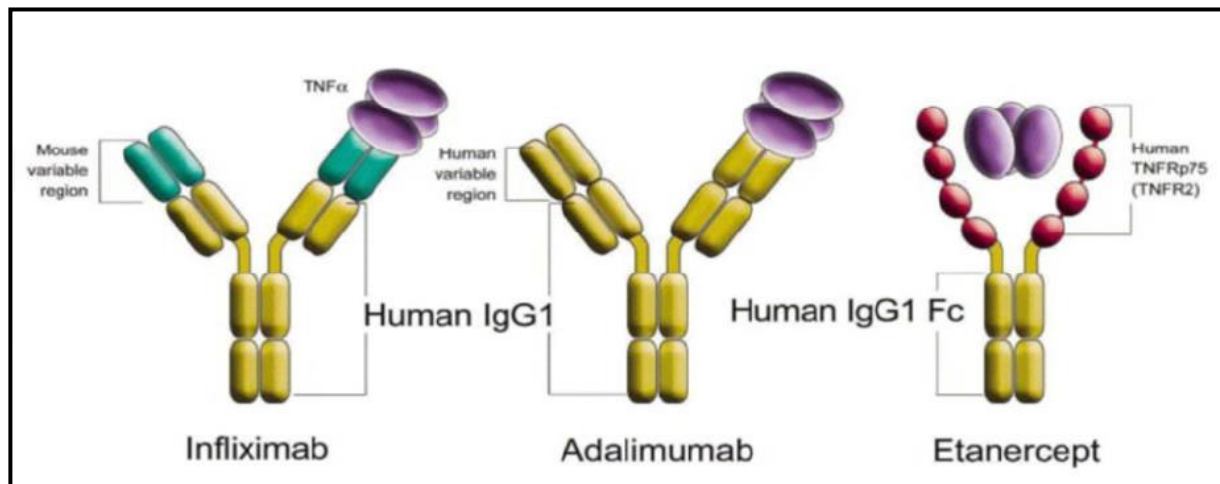


Figure 6: Structure des trois types d'anti-TNF (Desreumaux, 2004)

I.6.5 La chirurgie

Le recours à une résection chirurgicale est parfois nécessaire. Elle consiste à retirer les segments lésés pour la MC et la totalité du côlon et du rectum pour la RCH. Malheureusement, la MC récidivera très fréquemment après résection chirurgicale et le réservoir confectionné par le chirurgien après colectomie totale pourra être le siège d'une inflammation appelée pouchite (Seksik, 2007).

I.7 Phytothérapie et MICI

Les effets extradijestifs non souhaités que les traitements classiques des MICI engendrent, obligent les chercheurs à se tourner vers une autre alternative à savoir la phytothérapie. Le mot « phytothérapie » se compose étymologiquement de deux racines grecques : « *Phuton* » et « *Therapeia* », qui signifient respectivement « *Plante* » et « *Traitement* », elle peut donc être définie comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques par le moyen des plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées par voie externe (Wichtl *et al.*, 2003)..

Le règne végétal renferme un nombre inépuisable de molécules thérapeutiques qui se sont manifestées efficacement à travers la médecine traditionnelle. Ces molécules figurent

I. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

principalement parmi les métabolites secondaires, on l'occurrence les composés phénoliques, les composés terpéniques, les alcaloïdes et les hétérosides (**Vercauteren, 2011**). Cette présente étude fera l'objet des alcaloïdes, plus précisément elle se consacrera sur l'effet anti-inflammatoire intestinal de ces derniers.

Le genre *Fumaria* comprend environ une cinquantaine d'espèces (**Tela-botanica.org**). De 1969 à 2019 on compte 159 articles publiés contenant le mot-clé *Fumaria*, 24 espèces ont été abordé et ont fait l'objet d'études pharmacologiques. Cela a révélé des activités biologiques très prometteuses à savoir hépatoprotectives, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antioxydant et anticancéreuses (**Zhang et al., 2020**). En parallèle, les études phytochimiques faites sur ces même espèces révèlent la présence en proportion importante d'alcaloïdes isoquinoléïnes, ceci à très vite permit de faire le lien et de conclure que l'origine des activités biologiques sont bien les alcaloïdes isoquinoléïques (**Zhang et al., 2020**).

II. Les alcaloïdes

II.1 Définition

Le terme d'alcaloïdes a été introduit en 1818 par W. Meissner ; il rappelle le caractère alcalin de ces substances, caractère mis à profit pour leur extraction, ce terme est dérivé de l'arabe « al kaly » qui signifie la soude et du grec « eidos » qui signifie l'aspect (**Vercauteren, 2011**).

Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose. Les alcaloïdes représentent un groupe fascinant de produits naturels, ils constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12 000 différentes structures. Ils portent tous la terminaison « ine » (**Bruneton, 1999**).

Le premier alcaloïde isolé est la morphine, cela fut en 1805 par Friedrich Serturmer. Suivant la procédure développée par ce dernier d'autres scientifiques ont pu isoler de nouveaux alcaloïdes tels la caféine et la quinine (**Aniszewski, 2015**).

II.2 Etat naturel et répartition botanique

Les alcaloïdes sont des molécules très largement répandues dans le règne végétal, on les retrouve chez les monocotylédones : Amaryllidaceae, Liliaceae, et les dicotylédones : Annonaceae, Apocynaceae, Fumariaceae, Lauraceae, Loganaceae (**Aniszewski, 2015**).

Tous les organes peuvent en contenir, mais on ne trouve pas toujours les mêmes alcaloïdes dans les différents organes d'une plante. Leur teneur est très variable de quelques mg/Kg à plus de 15g/Kg. Dans les végétaux, les alcaloïdes sont dissout dans le suc vacuolaire sous forme de sels organiques ou à l'état de combinaisons insolubles avec les tanins. La synthèse des alcaloïdes s'effectue au niveau de site précis : racine en croissance, cellules spécialisées des laticifères chloroplastes (**Wink, 1999**).

On retrouve aussi les alcaloïdes chez les animaux (salamandre, crapaud, castor, coquillage, poissons), les champignons (*Penicillium*, Ergot de seigle) et les bactéries (*Pseudomonas aeruginosa: pyocyanine*) (**Aniszewski, 2015**).

II.3 Rôles des alcaloïdes dans la plante

Les alcaloïdes font partie du mécanisme d'adaptation d'un organisme à son milieu de vie. Ces substances ne sont pas toxiques lorsqu'elles sont stockées, mais elles le deviennent suite à un changement de pH cellulaire (Aniszewski, 2015). Les réponses des animaux aux alcaloïdes sont très diverses. Certaines d'entre eux les tolèrent, tandis que d'autres sont lésés ou même empoisonnés.

Les alcaloïdes agissent comme des poisons ou des répulsifs vis-à-vis les prédateurs, parasites et concurrents (Aniszewski, 2015). On peut citer à titre exemples :

- La nicotine et la ryanodine exercent un effet insecticide.
- Les alcaloïdes stéroïdiens de la pomme de terre sont répulsifs contre les coléoptères.
- Les alcaloïdes du *Cactus senita* sont toxiques pour la plus part des espèces de drosophile.
- Les alcaloïdes de *Veratrum* inhibent la croissance de l'avoine et du seigle.

II.4 Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes

II.4.1 Caractères physiques

Les alcaloïdes ont une masse moléculaire variant de 100 à 900 Da. Les formes oxygénées se trouvent sous un aspect solide et cristallisé (berbérine). Ceux qui sont dépourvus d'oxygène se présentent à l'état liquide et volatile à température ordinaire (nicotine) (Aniszewski, 2015).

II.4.2 Solubilité

Les alcaloïdes sont des composés à caractère basique, ils forment des sels avec les acides. Leur solubilité dans les solvants varie en fonction du pH, c'est-à-dire selon l'état dont ils se trouvent à savoir, sous forme basique ou sous forme de sels (Tableau 2) (Vercauteren, 2011).

Tableau 1: Solubilité des alcaloïdes, +:soluble, -: non soluble (Vercauteren, 2011)			
	Solvants organique non polaires (benzène, ether, dichlorométhane)	Solvants organiques polaires (Alcools)	Eau
Milieu basique (alcaloïdes : BASES)	+++	+	---
Milieu acide (alcaloïdes : SELS)	---	+/-	+++

II.4.3 Réaction de précipitation

Les alcaloïdes précipitent avec certains réactifs spécifiques appelés « réactifs généraux des alcaloïdes ». Ces réactions de précipitation ont lieu en milieu aqueux légèrement acide. Il existe plusieurs types de réactifs ; les plus importants sont les réactifs iodés : Bouchardat (iodo-iodurée), Mayer (mercuri-iodure de K^+), Dragendroff (Tétraiodo-bismuthate de K^+), Bertrand : silico-tungstique, acide picrique et les tanins (Vercauteren, 2011).

II.5 Classification et structure chimique des alcaloïdes

Vouloir établir une classification des alcaloïdes demeure une tâche très difficile, cela en raison du nombre important de composés connus et de leur large diversité structurale, en effet, plus de 10 000 alcaloïdes ont été isolés et chaque année de nouveaux alcaloïdes sont découverts à travers le monde (Aniszewski, 2015). Par voie de conséquence, on retrouve dans la littérature, différentes classifications basées sur des critères bien déterminés (Tableau 3).

Tableau 2: Critères de classification des alcaloïdes (Aniszewski, 2015).	
Critères de classification	Classes
Classification bioécologique	Alcaloïdes neutres et basiques, d'origine animale, d'origine végétale, d'origine marine, d'origine bactérienne et fongique, non-naturels (structuralement modifié ou analogues)
Classification chimio-technologique	Alcaloïdes naturels, biomimétiques et bioniques, synthétiques
Classification structurale : Position de l'atome d'azote	acridones, aromatics, carbolines, ephedras, ergots, imidazoles, indoles, bisindoles, indolizidines, manzamines, oxindoles, quinolines, quinozoline, quinolizidines, phenylisoquinolines, phenylethylamines, piperidines, purines, pyrrolidines, pyrrolizidines, pyrroloindoles, pyridines, sesquiterpenes, tetrahydroisoquinolines, steroids, tropanes, terpenoids, diterpenes, triterpenes.
Classification biosynthétique: précurseurs et voie de biogenèse	vrais alcaloïdes, proto-alcaloïdes, pseudo-alcaloïdes

La classification détaillée ci-dessous est la classification biosynthétique qui classe les alcaloïdes selon la molécule précurseur dont ces derniers sont dérivés et la position de l'atome d'azote.

L'atome d'azote de ces métabolites secondaires provient en général d'un acide aminé, dont la structure carbonée reste souvent intacte dans la configuration finale des alcaloïdes. Il existe cependant d'autres 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'animation sur des intermédiaires aldéhydes ou cétones (**Muniz, 2006**).

II.5.1 Les alcaloïdes vrais

Les alcaloïdes vrais dérivent des acides aminés, leur atome d'azote est inclus dans le système hétérocyclique (**Jakubke, et al., 1994**). Ils sont principalement d'origine végétale et ils se présentent sous forme libre, sous forme de combinaisons salines ou bien sous forme de N-oxydes. Ils sont dotés d'une activité pharmacologique significative même à faible doses (**Dewick, 2002**).

D'un point de vue aspect, ils se présentent comme un solide blanc à l'exception de la nicotine qui est un liquide brun. On distingue parmi les acides aminés précurseurs, le L-ornithine, L-lysine, L-phénylalanine/L-tyrosine, L-tryptophane et le L-histidine (**Tableau 4**) (**Dewick, 2002**). Les alcaloïdes vrais peuvent être naturels, de provenance biomimétique, bionique ou bien synthétique (**Aniszewski, 2015**). Une liste des noyaux de bases d'alcaloïdes vrais apparaît ci-dessous (**Figure 7**).

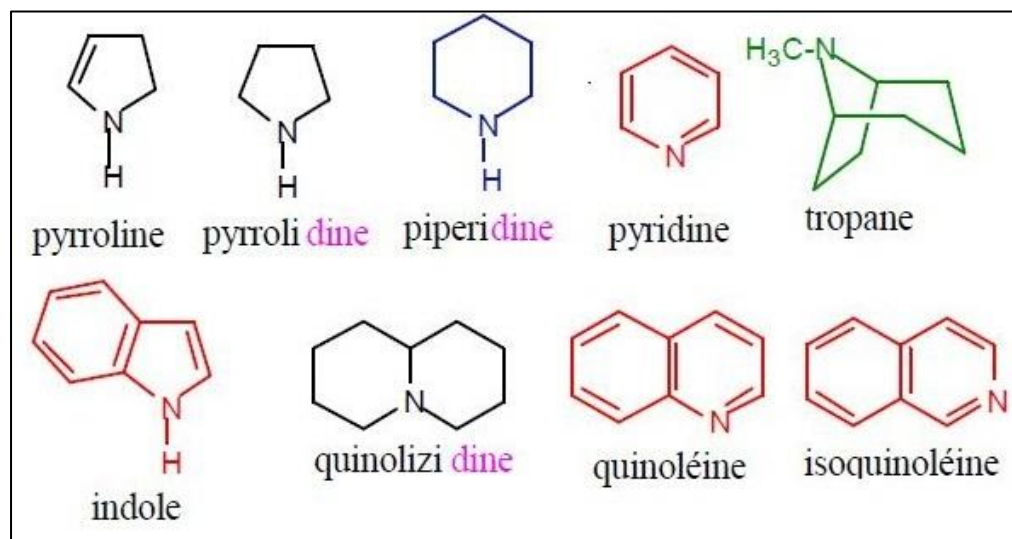


Figure 7: Noyaux de base des alcaloïdes (Vercauteren, 2011).

II.5.2 Les proto-alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes sont des composés de structures simples dans lesquels l'atome d'azote dérivé d'un acide aminé ne fait pas partie de l'hétérocycle (Jakubke, et al., 1994). Ces types d'alcaloïdes comprennent des composés dérivés de la L-tyrosine et du L-tryptophane (Tableau 4). Ils sont élaborés *in vivo* à partir d'acide aminé et ils sont souvent appelés « amines biologiques » (Aniszewski, 2015).

II.5.3 Les pseudo-alcaloïdes

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (Jakubke, et al., 1994).

Ils peuvent cependant être indirectement liés à la voie des acides aminés par l'intermédiaire d'un de leurs précurseurs, ou d'un de leurs postcurseurs (dérivés). Parmi ces précurseurs on cite l'acétate l'acide pyruvique (Tableau 4) (Aniszewski, 2015).

Tableau 3: Types d'alcaloïdes et leurs précurseurs (Aniszewski, 2015).

Type d'alcaloïde	Précurseur	Noyau de base	Exemple
Alcaloïdes vrais	L-ornithine	Pyrrolidine	Hygrine
		Tropane	Atropine
		Pyrrolozidine	Acetyl-lycopsamine
	L-lysine	Piperidine	Anaferine

Proto-alcaloïdes	L-tyrosine	Quinolizidine Indolizine Phénythylamine Bensyltetrahydro- isoquinoline Tetrahydroisoquinoléine	Cyctisine Castanospermine Adrenaline Codéine Morphine
	L-phénylalanine	Indole	Psilocin
	L-tryptophane	Quinoline	Quinine
	L-histidine	Imidazole	Histamine/pilosine
	L-arginine	B-carboline	Saxitoxin
	Acide nicotinique	Pyridine/Pyrrolidine	Nicotine
	L-tyrosine	Phénylthylamine	Mescaline
	L-tryptophane	Indole	Yohimbine
	L-ornithine	Pyrrolizidine	Stachydrine
	Pseudo-alcaloïdes	Acétate	Piperidine Sesquiterpene
Adénine/Guanine		Purine	Caffeine
Acide pyruvique		Phenyl C	Ephedrine
Acide felurique		Phenyl Terpenoid	Atisine

II.6 Propriétés pharmacologiques

Les alcaloïdes se caractérisent par une flexibilité chimique fascinante d'un point de vue structurale. En effet, un seul et même alcaloïde peut présenter plusieurs activités biologiques dans différentes conditions cellulaires, cela est typiquement due à leur capacité de moduler leur structure chimique (**Aniszewski, 2015**). On compte plusieurs médicaments formulés à base d'alcaloïdes qui figurent déjà sur le marché et qui sont utilisés en thérapeutique formelle (**Tableau 5**). Ces alcaloïdes sont soit naturel soit ont subi une modification hémi-synthétique (**Vercauteren, 2011**).

Tableau 4: Médicaments contenant des alcaloïdes (Classification pharmaco-thérapeutique, VIDAL).

Alcaloïde	Mécanisme d'action	Cas d'usage	Médicament contenant la substance
Atropine	Antispasmodique : Elle s'oppose de façon compétitive aux effets muscariniques de l'acétylcholine. Spasmolytique, l'atropine est un antidote des anticholinestérasiques.	Par voie injectable : <ul style="list-style-type: none"> • blocs auriculoventriculaires, • bradycardies sinusales et vagales • coliques hépatiques et néphrétiques • douleurs spasmodiques des voies digestives, • intoxications aiguës par les anticholinestérasiques et les parasymphomimétiques 	ATROPINE SULFATE AGUETTANT
Morphine	Analgésique : Sur le système nerveux central, la morphine est dotée d'une action analgésique dose-dépendante. Elle peut agir sur le comportement psychomoteur et provoquer, selon les doses et le terrain, sédation ou excitation.	Prise en charge des douleurs intenses et douleurs cancéreuses.	ACTISKENAN
Noscapine	Antitussif d'action centrale.	En association à la prométhazine, la noscapine est utilisée dans la prise en charge de toux sèches	TUSSISEDAL
Résérpine	exerce un effet antihypertenseur probablement par déplétion périphérique des stocks de catécholamines. Elle lève ainsi les résistances artérielles périphériques	En association au bendrofluméthiazide, la résérpine est utilisée dans la prise en charge d'hypertensions artérielles	TENSIONORME

Etoposide	<ul style="list-style-type: none"> • Dérivé semi-synthétique de la podophyllotoxine • Il inhibe l'entrée en mitose (prophase) des cellules tumorales (phases S et G3), par action sur la topo-isomérase II chargée de ressouder les brins d'ADN après leur cassure. Il n'inhibe pas l'assemblage des microtubules. Aux fortes concentrations, une lyse des cellules en mitose est observée. 	<ul style="list-style-type: none"> • Cancers bronchopulmonaires • cancers du testicule, • choriocarcinomes placentaires, • leucémies aiguës lymphoblastiques, • leucémies aiguës myéloblastiques. • lymphomes malins non hodgkiniens, • maladies de Hodgkin. 	CELLTOP ETOPOPHOS
Vinblastine	Antinéoplasique cytotatique : poison du fuseau	<ul style="list-style-type: none"> • cancers de l'ovaire, • cancers de la vessie, • cancers du rein, • cancers du sein, • cancers du testicule, • choriocarcinomes, • histiocytoses, • lymphomes malins non 	VELBE
Irinotecan	Dérivé hémisynthétique de la camptothécine. Antinéoplasique : agit comme inhibiteur spécifique de l'ADN topo-isomérase I.	cancers colorectaux	ONIVYDE

ETUDE EXPERIMENTALE

III. Matériel et méthodes

IV. Résultats et discussion



III. Matériel et méthodes

III.1 Matériel

III.1.1 Matériel végétal

Sur la base de son utilisation en médecine traditionnelle, cette présente étude a été réalisée sur la partie aérienne (Feuilles, fruits, fleurs et tiges) de la fumeterre capreolée : *Fumaria capreolata*, connue aussi sous le nom de fumeterre blanche ou encore fumeterre grimpante (**Figure 8**). La fumeterre capreolée est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle répandue en Europe, en Afrique du Nord et en Asie, elle est décrite ci-dessous (**Tableau 6**).

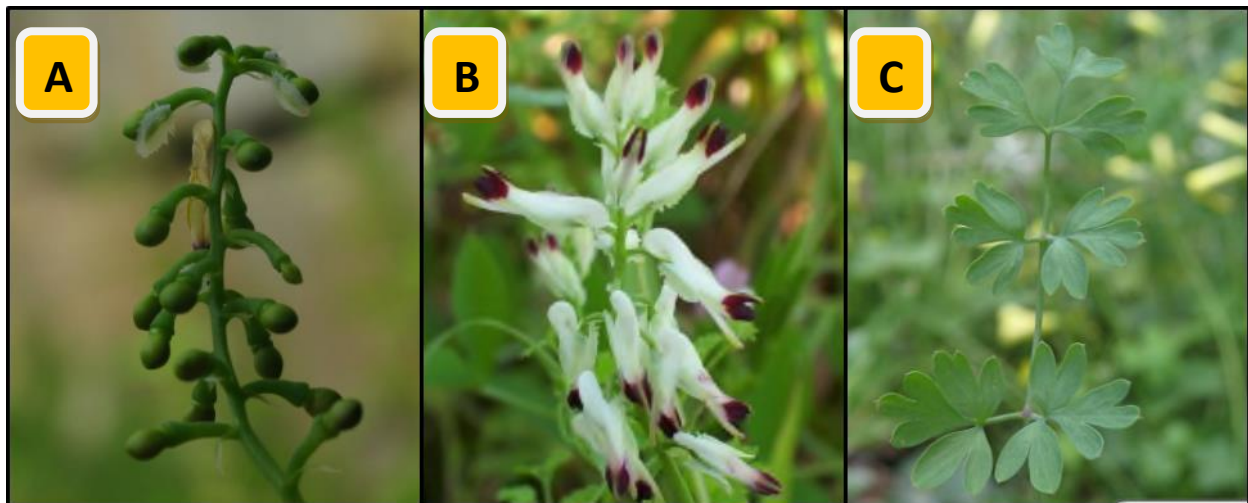


Figure 8: Photographie de *Fumaria capreolata*, A:fruits, B: fleurs, C:feuilles (Akbou, Bejaia, 2022)

Partie	Description
Aspect général	Plante d'un vert clair ou un peu glauque, grimpante.
Feuilles	bipennatiséquées, à segments obovales en coin, incisés-lobes.
Bractées	lancéolées linéaires, égalant presque les pédicelles.
Fleurs	blanchâtres ou rougeâtres, grandes (8-12 mm de long), en grappes lâches
Sépales	ovales-aigus, un peu plus larges que la corolle et dépassant la moitié de sa longueur.
Silicule (fruit)	moyenne, lisse, sphérique, obtuse, non apiculée.

III.1.2 Matériel animal

Afin d'évaluer l'effet préventif de la fraction d'alcaloïdes totaux de *Fumaria capreolata* vis-à-vis de l'inflammation intestinale, nous avons utilisé des souris mâles: *Mus musculus* de souche consanguine de la lignée BALB/c (**Figure 9**), pesant entre 25 et 30 g, en provenance du département d'animalerie de l'institut Pasteur d'Algérie. Les conditions d'expérimentations et la gestion de l'environnement sont décrites ci-dessous (**Tableau 7**).

Tableau 6: Conditions et gestion de l'environnement d'expérimentation	
Paramètres	Réglages
Type de cage	Cage ventilée
Alimentation	Accès libre
Eclairage	Cycle de 12h Lumière/obscurité
Température	20 à 24°C
Humidité relative	50%

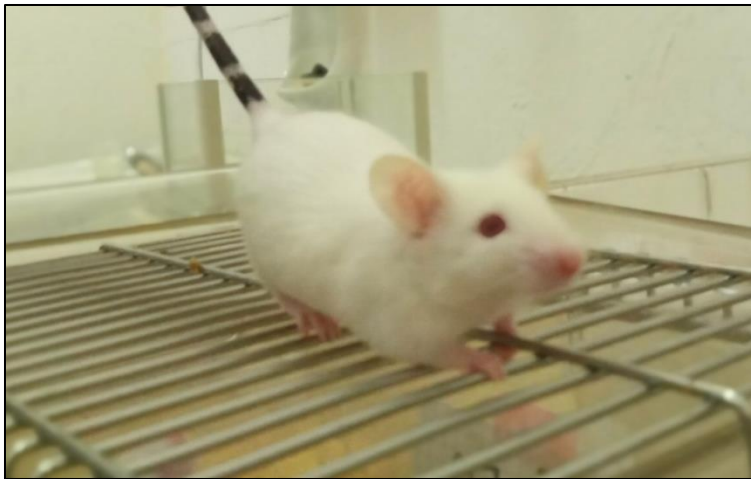


Figure 9: Photographie d'une souris Balb/c (Animalerie de l'université de Bejaia, 2022).

III.2 Méthodes

III.2.1 Récolte et conservation de *Fumaria capreolata*

Le matériel végétal a été récolté loin de toute pollution dans une région rurale de la daïra d'Akbou, wilaya de Bejaïa, en l'occurrence le village Touffirt de la commune de Tamokra à environ 600 m d'altitude, durant la période de pleine végétation et de fructification (Avril, 2022).

Ensuite, la plante a été soumise immédiatement à un séchage en plein air à l'abri du soleil qui a duré 15 jours. Cette étape correspond à la dessiccation, elle a pour but de prévenir les altérations de nature enzymatique (oxydation, hydrolyse et polymérisation) à travers l'élimination de l'eau (**Chabrier, 2010**). Des pesées fréquentes ont été effectuées afin de contrôler la teneur en eau pour s'assurer que la dessiccation fonctionne. La plante a été soumise à un autre séchage par la chaleur sèche dans une étuve à 40°C pendant 2 jours. Enfin, la plante séchée a été réduite en poudre fine à l'aide d'un broyeur.

III.2.2 Extraction des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont été obtenus grâce à une extraction par solvant suivant la procédure établie par (**Soušek *et al.*, 1999**), ceci en combinant deux sous-types d'extraction par solvant. La première extraction correspond à une extraction solide-liquide à l'aide d'un extracteur Soxhlet qui fait appel au principe de l'infusion. Le deuxième type quant à lui correspond à une extraction liquide-liquide à l'aide d'une ampoule à décanter qui en principe consiste à transférer un composé d'une phase organique vers une phase aqueuse ou inversement.

Les étapes détaillées du Protocole d'extraction ainsi que les réactifs et quantités utilisés sont illustrés dans (**Figure 10**).

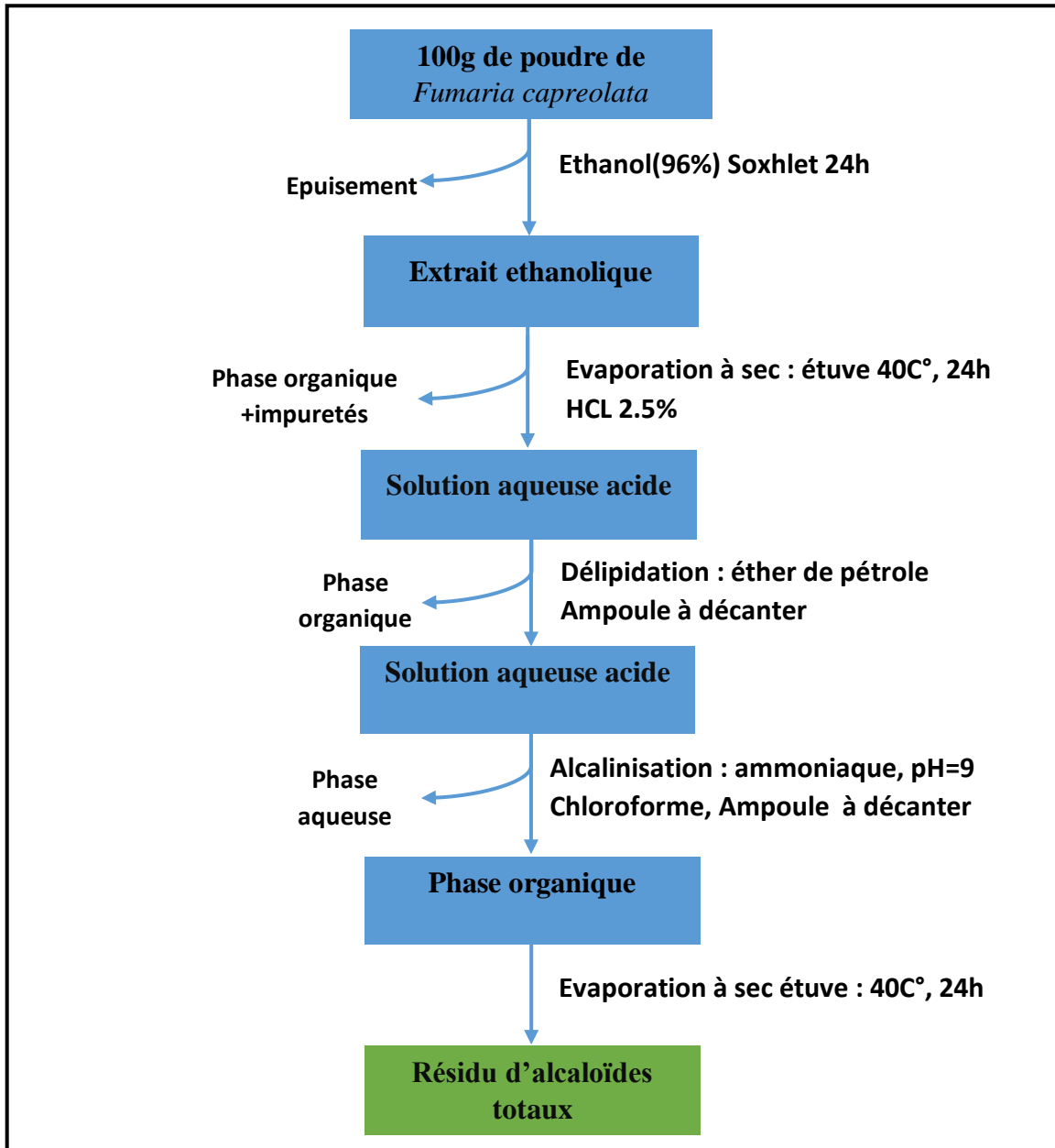


Figure 10: Protocole d'extraction des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* (Soušek et al., 1999).

Le taux d'extraction d'alcaloïdes de *Fumaria capreolata* à été calculé par rapport à la masse de la poudre initiale selon la formule suivante : $TA (\%) = [(P_1 - P_0) / E] \times 100$

Avec : **TA** : taux d'alcaloïdes exprimé en pourcentage.

P₁ : poids de l'extrait après évaporation (g).

P₀ : poids du cristalliseur vide (g).

E : la masse initiale de la poudre végétale (g).

III.2.3 Evaluation de l'effet préventif anti-inflammatoire des alcaloïdes de *Fumaria capreolata*

III.2.3.1 Principe et protocole

L'effet préventif de la fraction d'alcaloïdes totaux de *Fumaria capreolata* (AFC) vis-à-vis de l'inflammation intestinale a été évalué à l'aide d'un modèle murin de colite induite par l'acide di nitrobenzène sulfonique (DNBS) (Puneet *et al.*, 2014).

L'expérimentation s'est étalée sur 10 jours, une phase d'acclimatation pendant une semaine a été d'abord réalisée qui consiste à placer les souris dans des cages d'expérimentation, à raison de 6 souris par cage, avec un libre accès à l'alimentation et à l'eau. Ensuite les différents lots ont été soumis à un protocole expérimental à visée préventive (Figure 11).

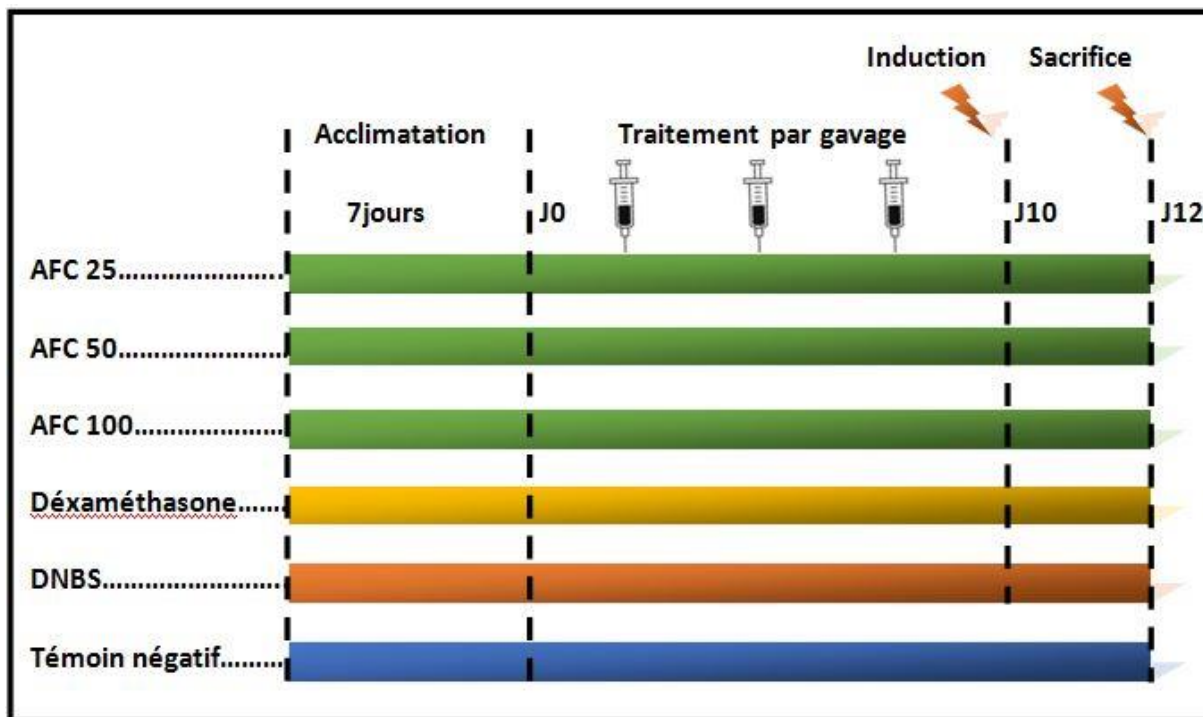


Figure 11: Protocole expérimental préventif (Puneet *et al.*, 2014).

Les traitements AFC (25, 50, 100 mg/Kg) et dexaméthasone (5 mg/Kg) ont été tous administrés par voie orale (gavage) d'une manière journalière (toutes les 24 heures) (Figure 12). Il est à noter aussi que les deux lots : témoin négatif (sain) et DNBS (malade), ont été traité avec

de l'eau distillée afin de mettre tous les lots dans les mêmes conditions d'expérimentation à savoir induire le même stress provoqué par l'administration orale.



Figure 12: Administration des différents traitements par voie orale (**Animalerie de l'université de Bejaia, 2022**)

III.2.3.2 Induction de l'inflammation

L'inflammation intestinale a été induite par le DNBS par voie rectale (**Figure 13**), pour se faire, les souris ont été privées de leur nourriture 24 heures avant l'induction puis ont été anesthésiées à l'aide du diethyl éther. Une fois l'administration terminée les souris sont maintenues en position verticale la tête vers le bas pendant 2 minutes pour limiter l'expulsion de la solution.



Figure 13: Induction de l'inflammation : administration du DNBS par voie rectale (**Animalerie de l'université de Bejaia, 2022**).

III.2.3.3 Sacrifice des souris

Une fois le protocole de traitement arrivé à son terme, les souris ont été sacrifiées par dislocation cervicale après avoir été anesthésié. Une fois les souris sacrifiées le colon et la rate de chaque souris a été récupérée après dissection (**Figure 15**). Les rates ont été pesées et mesurées tel quelles ont été retirés n'ayant subit aucun changement. Les colons quant à eux ont été rincés soigneusement avec une solution saline, pesés, mesurés et ouverts (coupe longitudinale), puis des sections de 1 cm destinés pour l'étude histologique ont été prises au niveau de la partie distale et ont été fixées dans du formol (10%). La partie restante du colon quant à elle a été destinée pour l'étude biochimique.

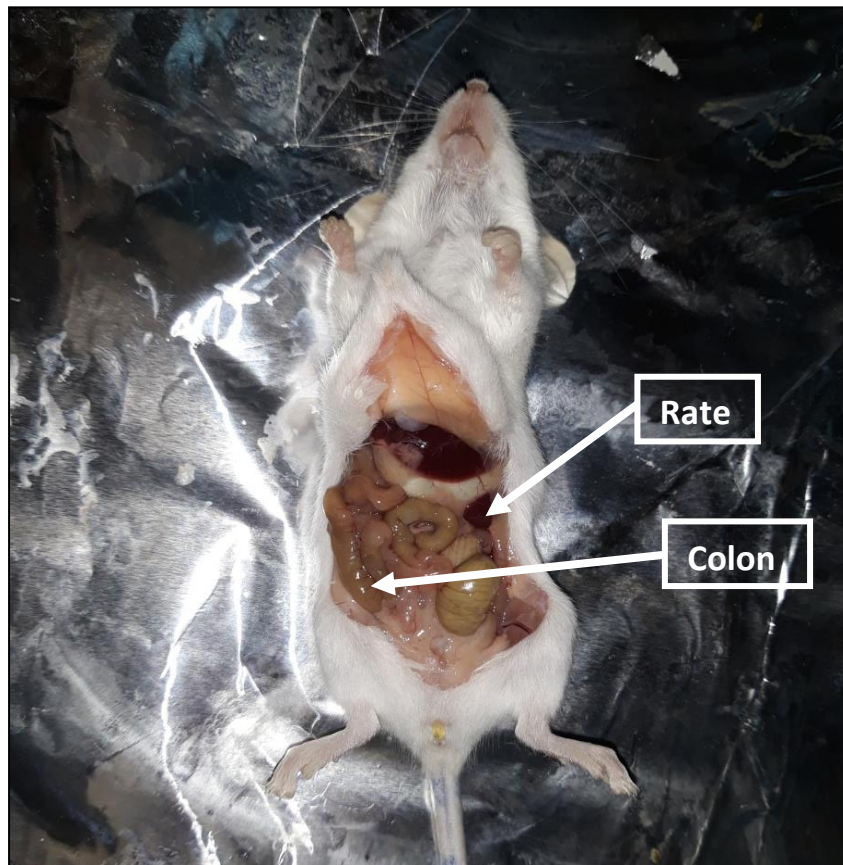


Figure 14: Souris disséquée et récupération de la rate et du colon (Animalerie de l'université de Bejaia, 2022).

Pendant toute la période d'expérimentation notamment après l'induction, le poids des souris ainsi que l'apparition et/ou le changement de tout signe clinique à été noté d'une façon journalière.

III.2.3.4 Etude biochimique

Dans cette étape, nous avons procédé au dosage des protéines totales ainsi que certains marqueurs de l'inflammation et du stress oxydatif à savoir l'oxyde nitrique (NO), le malondialdéhyde (MDA) et la glutathionne (GSH).

Avant de procéder au dosage, les échantillons coliques ont été homogénéisés à l'aide d'un homogénéisateur dans un bain de glace pendant environ 1 minute. Ensuite, les échantillons ont été centrifugés à 6000g pendant 15 minutes, ceci afin de se débarrasser des composés

nucléaires qui correspondent au culot et de récupérer le surnageant qui correspond à la partie cytosolique où se trouvent les composés à doser cités précédemment.

a. Dosages des protéines totales

➤ Principe

La teneur totale en protéines a été déterminée en utilisant la méthode de Bradford, c'est une méthode de dosage colorimétrique basée sur la capacité de fixation aux protéines du colorant bleu de Coomassie qui réagit (dans des conditions acides) avec des acides aminés basiques et aromatiques. Le bleu de Coomassie se lie aux protéines par des interactions non-covalentes (ponts hydrogène, interactions hydrophobes et interactions ioniques). Sa longueur d'absorption augmente de 465 nm (rouge) à 595 nm (bleu) qui sert d'unité de mesure pour la concentration en protéines. La détection des protéines n'est possible que dans un domaine de mesure allant de 1 µg/ml à 1.4 mg/ml (**Bradford, 1976**).

➤ Mode opératoire

- Pipeter dans des tubes à essais en verre, 4 ml de réactif de bleu de Coomassie et 100 µl du surnageant.
- Homogénéiser à l'aide d'un vortex.
- Lire l'absorbance à 595nm contre l'eau.

La calibration a été effectuée avec de l'albumine provenant du sérum bovin (BSA) comme substance de référence.

b. Dosage du NO

➤ Principe

Le principe du dosage est basé sur la réaction de Griess (diazotation d'une amine primaire aromatique en présence d'un nitrite en milieu acide puis copulation avec une autre amine aromatique) :

- a.** Action du nitrite sur la sulfanilamide en milieu acide et formation d'un sel de diazonium.

- b.** Réaction du sel diazonium sur le N-(1-Naphyl) éthylénediamine (NED) en milieu chlorhydrique.

Le composé final est rose et peut donner lieu à un dosage colorimétrique (**Peyrot, 2004**).

➤ **Mode opératoire**

- Pipeter dans des tubes eppendorphs 100 µl d'acide trichloracétique (TCA) 10% et 100 µl du surnageant et laisser pendant 1 heure à 4°C.
- Centrifugation à 1466g pendant 10 minutes.
- Prélever 100 µl de surnageant auquel on ajoute 50 µl de sulfanilamide, 50 µl de NED et 800 µl de PBS.
- Homogénéiser à l'aide d'un vortex et laisser à l'obscurité pendant 20 minutes.
- Lire l'absorbance à 543nm.

c. Dosage du MDA

➤ **Principe**

Le MDA est mesuré selon la méthode de (**Draper *et al.*, 1990**), il représente le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique et il est considéré comme un des produits terminaux de l'oxydation des acides gras polyinsaturés. Les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromogénique consistant en 2 molécules de TBA et une molécule de MDA. L'absorption de ce chromophore se fait à 532 nm. La concentration du MDA est déterminée en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ; $\epsilon = 1,56.10^5 M^{-1}.cm^{-1}$.

➤ **Mode opératoire**

- Pipeter dans des tubes eppendorphs 200 µl de TCA 35%, 200 µl de surnageant et laisser pendant 1 heure à 4°C.
- Centrifugation à 1466g pendant 10 minutes.
- Prélever 300 µl du surnageant auquel on ajoute 300 µl de TBA (SDS 0.8%, H₂O, Acide acétique 20%, TBA 0.8%) et chauffer le mélange au bain Marie à 95°C pendant une heure. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 10 minutes.

d. Dosage du GSH

➤ Principe

Le Taux de GSH est mesuré par la méthode (**Ellman, 1959**) à l'aide de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitobenzoiqe (DTNB). La reaction consiste à cliver la molécule de DTNB par le GSH, ce qui libérera de l'acide thionitrobenzoiqe (TNB) qui présente une absorbance à 412 nm avec un coefficient d'extinction égal à $13,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

➤ Mode opératoire

- Pipeter dans des tubes eppendorphs 500 μl d'acide sulfosalicylique 4% et 500 μl du surnageant.
- Centrifugation à 12000 g pendant 15 minutes à 4°C.
- Prélever 100 μl du surnageant auquel on ajoute 1.7 ml de PBS et 200 μl de DTNB.
- Laisser pendant 5 minutes à température ambiante et lire l'absorbance à 412nm.
- Lire l'absorbance à 532nm.

III.2.3.5 Etude statistique

Les données sont présentées par graph pad comme moyenne \pm SEM. Les analyses ont été fait grâce au test ANOVA, test *Dunnet's*, utilisé afin de comparer les valeurs des groupes traités aux valeurs du groupe malade ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$, $n=6$).

IV. Résultats et discussion

IV.1 Résultats

IV.1.1 Taux d'extraction des alcaloïdes totaux

Le taux d'extraction des alcaloïdes totaux à partir de la partie aérienne de *Fumaria capreolata* est de 2%. Ce rendement est raisonnable et tout à fait en accord comparé à d'autres études entamées sur la même espèce à savoir (Bribi *et al.*, 2016) et (Mezhoud *et al.*, 2018) qui ont révélées 1.17% et 2.5% respectivement. Comparativement à d'autres espèces, en l'occurrence *Fumaria agraria* et *Fumaria sepium* dont les taux d'extraction sont de 0.88% et 0.83% respectivement (Suau *et al.*, 2002), *Fumaria capreolata* semble modérément être plus riche en alcaloïdes. Les fumariacées figurent parmi les plantes alcaloïdifères et ce, d'un point de vue quantitatif et qualitatif (Zhang *et al.*, 2020).

Toute fois la variation de la teneur en alcaloïdes ou en métabolites secondaires de manière générale est régit par deux types de facteurs, il s'agit des facteurs naturels et techniques. Les facteurs naturels représentent les facteurs environnementaux, le patrimoine génétique et le stade de croissance, les facteurs techniques quant à eux interviennent dès la récolte et représentent leprocédé de conservation, le solvant d'extraction et le type d'extraction (Bruneton, 1999).

IV.1.2 Evaluation de l'effet préventif anti-inflammatoire de AFC

Cette présente étude consiste à évaluer l'effet préventif anti-inflammatoire des alcaloïdes totaux d'une plante médicinale du genre *Fumaria*, en l'occurrence *Fumaria capreolata*, vis-à-vis d'une colite induite par le DNBS chez des souris Balb/c.

Afin d'évaluer cet effet anti-inflammatoire intestinal, nous exposerons ci-dessous les résultats obtenus concernant les paramètres étudiés à savoir les paramètres morphologiques : poids corporel, morphologie générale des colons ainsi que le rapport P/L (poids/longueur) des colons qui est considéré comme indicateur de l'étendue de l'inflammation colique (Sotnikova,

2013) e. Nous exposerons aussi les résultats des dosages biochimiques concernant deux marqueurs de l'inflammation et du stress oxydatif à savoir le NO et le GSH.

Dans cette étude, le premier paramètre surveillé était l'évolution du poids corporel des souris les résultats sont présentés ci-dessous (**Figure 15**). Durant la phase de pré-induction (jour 1 à jour 12) le poids corporel semble évoluer d'une manière normale chez tous les lots expérimentés. Après l'induction (jour 12), le poids corporel diminue d'une manière assez importante chez les lots malade et le lot traité avec 25 mg/kg. Par contre le groupe traité par 50 mg/kg d'AFC n'a subi aucun changement et a demeuré croissant tout comme le lot non malade.

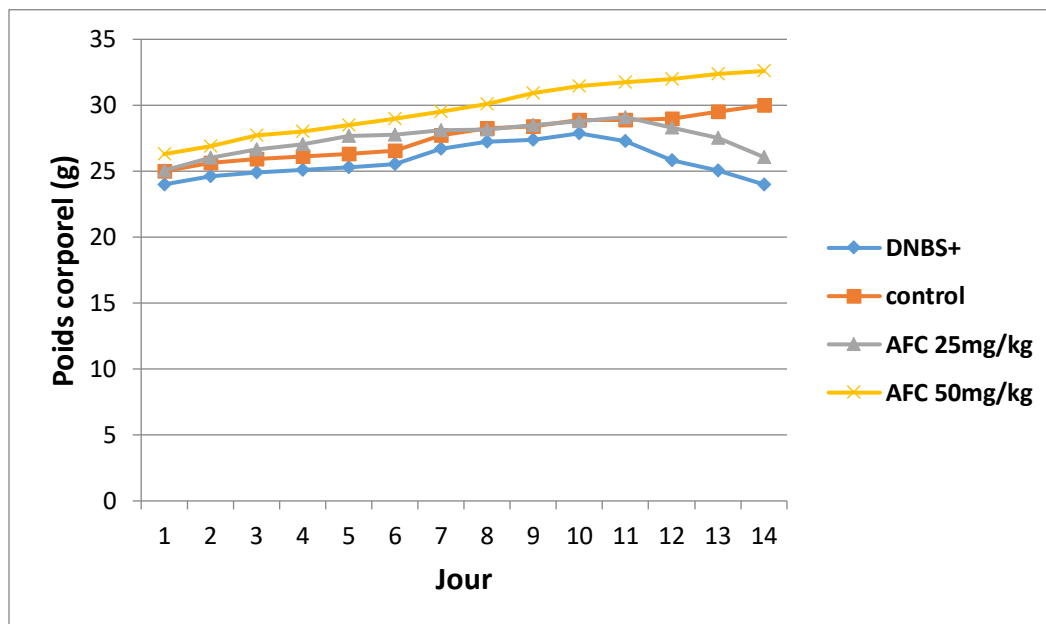


Figure 15 : Evolution du poids corporel des souris traitées avec AFC.

Après sacrifice des souris et récupération des côlons, le rapport P/L a été calculé pour chaque groupe (**Figure 16**). Le lot malade présente un rapport doublement élevé par rapport au lot non-malade, par contre chez les lots qui ont reçus 25 et 50 mg/kg de traitement, ce rapport a été diminué significativement d'une manière dose-dépendante. En parallèle, l'observation de la morphologie générale des côlons est en concordance avec le rapport P/L ou on observe chez le lot malade un état enflammé des colons, accompagné par un rétrécissement de ces derniers, alors que les lots ayant reçus les deux doses de traitement présentent une morphologie normale semblable à celle du lot non-malade (**Figure 17**).

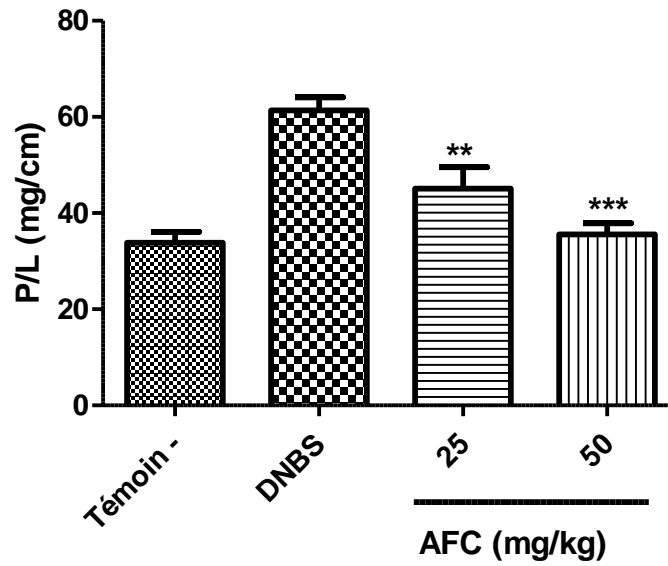


Figure 16: Rapport P/L des côlons des souris des différents lots expérimentaux.

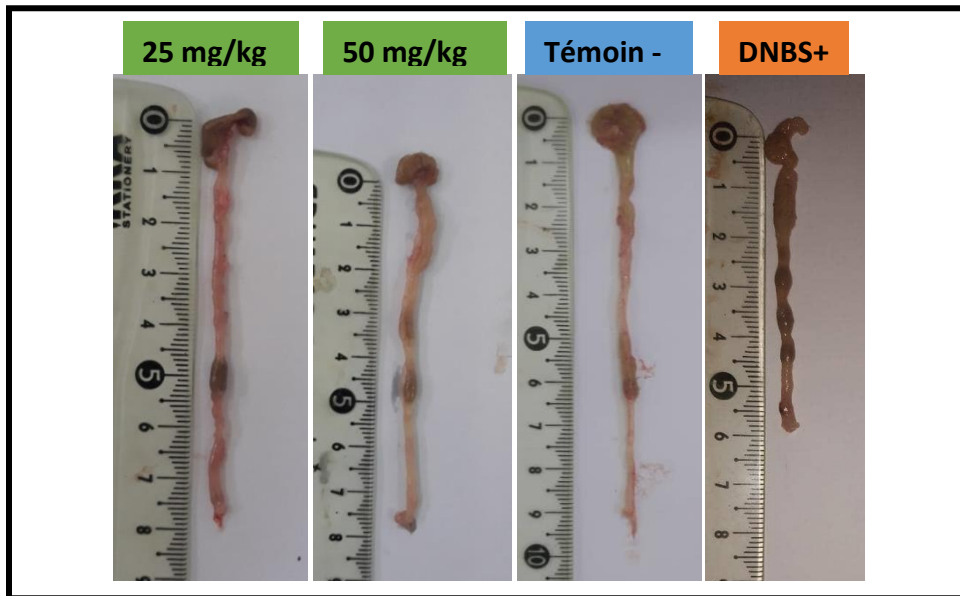


Figure 17: Morphologie générale des colons de souris des différents lots expérimentaux.

Les variations de la teneur en NO chez les souris témoins malades et non-malades ainsi que les souris traitées par les alcaloïdes totaux de *Fumaria capreolata* (AFC) sont représentées dans la (Figure 18). Le lot malade (DNBS) a présenté un taux deux fois plus élevé par rapport au lot non-malade. Aucun changement n'a été observé dans le contenu de NO entre le groupe malade et le groupe traité par 25 mg/kg de AFC. Par contre, chez les groupes qui ont reçu le 50 mg/kg de AFC, les concentrations en NO ont été significativement réduites.

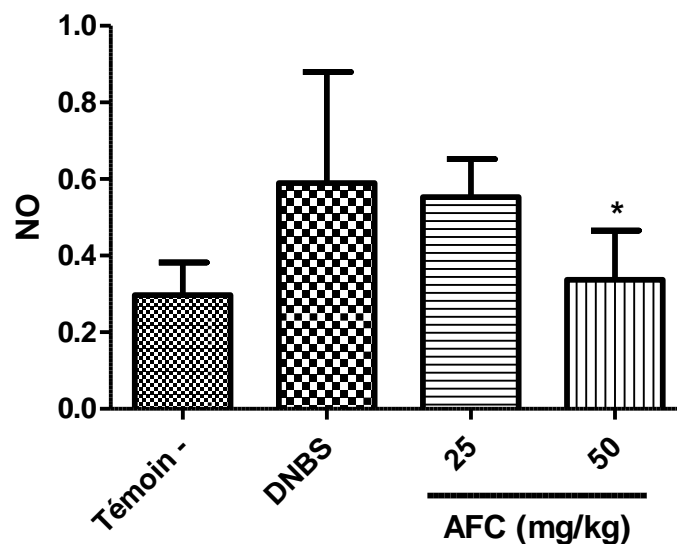


Figure 18: Evaluation de la concentration en NO chez les différents lots expérimentaux.

Les concentrations du glutathion réduit (GSH) dans le tissu du côlon ont été aussi déterminées (Figure 19). Les taux de GSH étaient très significativement réduits après l'induction de la colite. L'administration du traitement AFC a augmenté significativement les concentrations de GSH par rapport aux souris témoins malades, et ce pour les deux doses expérimentées 25 et 50 mg/kg.

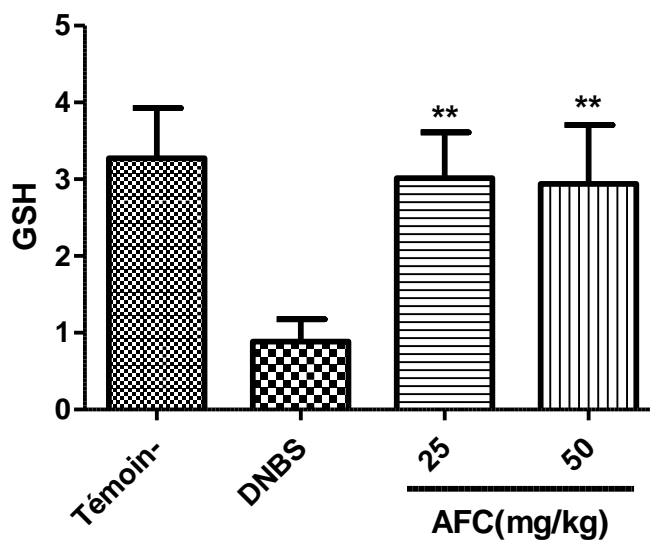


Figure 19: Evaluation de la concentration en GSH chez les différents lots expérimentaux.

IV.2 Discussion

Différents modèles animaux ont été développés pour étudier la photogénèse, l'étiologie et les thérapies alternatives des MICI humaines (Mariano *et al.*, 2018).

Afin d'évaluer l'effet protecteur des alcaloïdes totaux de *Fumaria capreolata* sur l'inflammation intestinale, nous nous sommes servis d'un modèle de colite induite par le DNBS. Ce dernier est utilisé afin de provoquer une inflammation intestinale qui présente des caractéristiques semblables à une maladie de Crohn (MC) chez l'homme (Puneet *et al.*, 2014).

Dans cette étude, dans un premier temps, nous avons évalué les symptômes cliniques des différents groupes de souris à savoir : poids corporel, fatigue, perte d'appétit, pilo-érection, diarrhée et diarrhée sanglante.

Les souris du lot non malade n'ont présenté aucun signe clinique anormal tout maintenant une croissance pondérale normale. Les souris du lot malade quant à lui, a montré un état pathologique se manifestant par des symptômes tels : diminution du poids corporel, pilo-érection, diarrhée et saignements. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Mariano et ses collaborateurs (Mariano *et al.*, 2018). En effet, la diarrhée sanglante est la conséquence

d'altérations fonctionnelles et structurales et de lésions transmuraux de la paroi intestinale (Nancey *et al.*, 2008).

Les lots traités par les alcaloïdes totaux de *Fumaria capreolata* n'ont présenté aucune perte de poids corporel durant toute la période de traitement, cela veut dire que notre traitement est inerte et n'a aucun effet néfaste sur la croissance des souris. En revanche la dose de 50 mg/kg a été la plus efficace en matière de prévenir l'apparition de symptômes anormales comparativement à l'autre dose qui est de 25 mg/kg.

De plus, l'analyse du rapport P/L, un indicateur de l'étendue de l'inflammation colique (Sotnikova, 2013) a révélé chez le lot malade une valeur élevée c'est-à-dire une diminution de la longueur des côlons. Cette diminution est due aux altérations morphologiques et tissulaires au niveau des côlons. Cette même constatation a été remarquée par (Chassing *et al.*, 2013). D'un autre côté, le traitement par AFC a contribué pour préserver l'intégrité des côlons. En effet, le groupe ayant reçu la dose de 50 mg/kg de traitement a présenté la longueur des côlons proche de celle du lot sain.

L'effet anti-inflammatoire intestinal de AFC a été aussi évalué d'un point de vue biochimique car la modulation de l'expression de plusieurs types de gènes qui interviennent dans le déclenchement et l'amplification d'une réponse inflammatoire intestinale (Tepperman *et al.*, 1993). L'analyse des taux du NO produits reflète l'intensité de la réponse inflammatoire. Chez le lot DNBS une augmentation significative du taux de NO a été constaté par rapport au lot non-malade, ceci s'explique par l'activation prolongée de l'iNOS stimulée par les LPS (Sharma *et al.*, 2007). En revanche, les lots traitement présentent une diminution significative du taux de NO comparée au lot malade, ceci a été rapporté par Bribi et ses collaborateurs sur un modèle animal curatif ou AFC inhibe la transcription de médiateurs pro-inflammatoires comme IL-1 β , IL-12, IL-17 et notamment l'iNOS (Bribi *et al.*, 2016).

Les processus oxydatifs jouent un rôle fondamental dans l'inflammation grâce à des facteurs de transcriptions sensibles à l'oxydoréduction tels que NF-kB et AP-1 qui commande la transcription de plusieurs gènes des médiateurs pro-inflammatoires et des gènes des facteurs antioxydants protecteurs (Pietro, 2011). L'analyse des taux en GSH dans cette étude révèle chez les groupes AFC une augmentation significative et considérable par rapport au groupe malade,

ceci par conséquent induira l'inhibition des facteurs de transcription cité précédemment. La connaissance des mécanismes de régulation du GSH dans l'inflammation intestinale pourrait conduire au développement de nouvelles thérapies basées sur la manipulation pharmacologique de la production de cet antioxydant (**Rahman, 1999**).

Ces résultats démontrent clairement l'effet préventif anti-inflammatoire intestinal et immunomodulateur des alcaloïdes totaux de *Fumaria capreolata* vis-à-vis d'une colite induite par DNBS chez des souris Balb/c.

Conclusion

La recherche permanente de nouvelles molécules à effets thérapeutiques, s'explique légitimement par le fait que les médicaments utilisés actuellement sont accompagnés par des effets indésirables. On compte actuellement de nombreux médicaments issus du règne végétal confectionné à partir de composés appelés « métabolites secondaires ».

Les alcaloïdes représentent une large famille de ces métabolites secondaires. Les alcaloïdes isoquinoliéques regroupent une classe importante de substance bioactive présente dans diverses familles tel que les Fumariacées dont *Fumaria capreolata* st l'une des plantes les plus riches en alcaloïdes isoquinoliéques.

L'objectif de cette étude consiste à évaluer l'effet préventif anti-inflammatoire des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* sur une colite induite chimiquement par le DNBS chez des souris Balb/c.

Le traitement par voie orale pendant 10 jours n'a présenté aucun effet néfaste sur les souris, de plus le traitement a montré une amélioration significative des paramètres morphologiques et biochimiques. En effet, la dose de 50 mg/kg a contribué à prévenir l'apparition des symptômes de l'inflammation intestinale tels que la perte du poids, diarrhée et saignement ainsi qu'à préserver l'intégrité des côlons. Nous avons aussi constaté un effet modulateur sur l'expression de certains médiateurs pro-inflammatoires à savoir le NO qui a montré des taux très réduits. Le traitement présente aussi un effet antioxydant qui s'est manifesté par des taux très élevé en GSH après le traitement des souris par les deux doses d'AFC.

Les résultats obtenus demeurent préliminaires, il serait intéressant de pousser le raisonnement plus loin et de réaliser d'autres tests approfondis notamment au niveau moléculaire afin de mieux comprendre par quels mécanismes les alcaloïdes exercent-ils leurs effet anti-inflammatoires et immunomodulateurs.

Références bibliographiques

Alpan, O, Rudomen, G et Matzinger, P. 2001. The role of dendritic cells, B cells, and M cells in gut-oriented immune responses. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2001, pp. 43-52.

Altwegg, R et Michon, A-L. 2020. La dysbiose intestinale dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES* 2020. Vol. 527, pp. 47-54.

Aniszewski, T. 2015. Definition, typology, and occurrence of alkaloids. s.l. : Elsevier B.V, 2015.

Bradford, M.M. 1976. *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 72, pp. 248-254.

Bribi, N, et al. 2016. Intestinal anti-inflammatory effects of total alkaloid extract from *Fumaria capreolata* in the DNBS model of mice colitis and intestinal epithelial CMT93 cells. s.l. : Phytomedicine, 2016.

Bruneton, Jean. 1999. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.* Paris : TEC & DOC, 1999.

Chabrier, J-Y. 2010. *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie.* [éd.] UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY 1. s.l. : Sciences pharmaceutiques, 2010. p. 58.

Chassing et qgfg. 2013. 2013.

Dangoumau, J, et al. 2006. *PHARMACOLOGIE GENERALE.* Bordeaux : Université Victor Segalen Bordeaux 2, 2006. pp. 315-318.

Desreumaux, P. 2004. Immunosuppresseurs et MICI. s.l. : *Gastroenterol Clin Biol*, 2004. Vol. 28, pp. 685-695.

Dewick, PM. 2002. *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach.* 2002.

Draper, HH et Hadley, M. 1990. Détermination du manolaldéhyde comme indice de peroxydation lipidique. s.l. : *Méthodes enzymol*, 1990. Vol. 186, pp. 421-31.

Ellman, G-L. 1959. *Arch.biochem.biophys.* 1959. Vol. 82, p. 70.

Flynn, S et Eisentein, S. 2019. *Inflammatory Bowel Disease Presentation and Diagnosis.* 2019. Vol. 99, pp. 1051-1062.

Hamada , H, et al. 2002. Identification of multiple isolated lymphoid follicles on the antimesenteric wall of the mouse small intestine. *J Immunol Baltim Md1950*. 2002, pp. 57-64.

Harizi, H, et al. 2002. Cyclooxygenase-2-induced prostaglandin e(2) enhances the production of endogenous IL-10, which down-regulates dendritic cell functions. s.l. : J Immunol Baltim Md 1950, 2002. Vol. 168, pp. 2255-63.

Hugot, JP, et al. 2001. 2001, Nature. *Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease.*

Jostins, L, et al. 2012. 2012, Nature. *Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease.*

Jakubke, H-D, Jeschkeit, H et Eagleson, M. 1994. Concise Encyklopedia Chemistry. 1994.

Kamada, N, et al. 2013. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nat Rev Immunol.* 2013, pp. 35-321.

Khor, B, Gardet, A et Xavier, RJ. 2011. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature.* 2011, pp. 17-307.

Knights, D, Lassen, KG et RJ, Xavier. 2012. Advances in inflammatory bowel disease gastrointestinal microbiota. s.l. : *Inflamm Bowel Dis*, 2012. Vol. 18(6), pp. 100-1092.

Kökten, Tunay, et al. 2016. Physiopathologie des maladies inflammatoires. *Hegel.* 2016, pp. 119-129.

Lesage, S, et al. 2002 *CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease..* 2002, Am J Hum Genet.

Langholz, E, et al. 1994 *Course of ulcerative colitis: analysis of changes in disease activity over years..* 1994, *Gastroenterology*, pp. 3-11.

Maloy, KJ et Powrie, F. 2011. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. *Nature.* 2011, pp. 298-306.

Manichanh, C, et al. 2006. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut.* 2006, pp. 11-205.

Hugot, JP, et al. 1996. 1996, Nature. *Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16.*

Mariano, M et DEAR, G. 2018. 2018.

McGuckin, MA, et al. 2009. Intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel. *Inflamm Bowel Dis.* 2009, pp. 13-100.

Mezhoud, K, BENMOKHTAR, M et SMATI, D. 2018. Contribution to the study of *Fumaria capreolata* L. (Papaveraceae), in the Wilaya of Constantine: phytochemical characterization and research of the anti-inflammatory activity. s.l. : *Batna J Med Sci*, 2018. Vol. 5(1), pp. 26-28.

- Mowat, AM. 2003.** Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol.* 2003, pp. 41-331.
- Muniz, M-N. 2006.** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine. 2006.
- Hellers, G, et al. 1980.** 1980, *Gut.Occurrence and outcome after primary treatment of anal fistulae in Crohn's disease.*
- Peyrot, F. 2004.** Thèse: Réactions des espèces réactives de l'azote dérivées du monoxyde d'azote avec la mélatonine et quelques indoles apparentés. Implications biologiques. [éd.] C.N.R.S, Institut de Chimie des Substances Naturelles. s.l. : UNIVERSITE PARIS XI, 2004. p. 43.
- Pietro, G. 2011.** Role of glutathione in immunity and inflammation in the lung. *International Journal of General Medicine.* 2011. Vol. 4, pp. 105-113.
- Puneet, K-R, et al. 2014.** A Review on Chemical-Induced Inflammatory Bowel Disease Models in Rodents. s.l. : Korean J Physiol Pharmacol, 2014. Vol. 18, pp. 279-288.
- Racine, Antoine. 2015.** *Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, facteurs d'environnement et expositions médicamenteuses : étude épidémiologique.* Paris : s.n., 2015.
- Rahman, M. 1999.** Inflammation et régulation du taux de glutathion dans les cellules épithéliales pulmonaires. *Signal redox antioxydant.* 1999. Vol. 1(4), pp. 425-47.
- Roda, G, et al. 2010.** Intestinal epithelial cells in inflammatory. *World J Gastroenterol.* 2010, pp. 64-71.
- Sairenji, T, L. Collins, K et V. Evans, D. 2017.** An Update on Inflammatory Bowel Disease. Seattle : University of Washington, 2017. pp. 6-11.
- Schreck, R, Rieber, P et Baeuerle, PA. 1991.** Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF-kappa B transcription factor and HIV-1. *Embo J.* 1991. Vol. 10(8), pp. 2247-2258.
- Seksik, P. 2007.** PROBIOTIQUES ET MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES INTESTINALES. s.l. : Cah. Nutr. Diét, 2007. Vol. 42.
- Sharma, J-N, Al-Omran, A et Parvathy, S-S. 2007.** Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Inflammopharmacology.* 2007. Vol. 15, pp. 252-259.
- Smith, KM, Davidson, JM et Garside, P. 2002.** T-cell activation occurs simultaneously in local and peripheral lymphoid tissue following oral administration of a range of doses of immunogenic or tolerogenic antigen although tolerized T cells display a defect in cell division. *Immunology.* 2002, pp. 144-58.
- SOUILAH, N. 2018.** Etude de la composition chimique et des propriétés thérapeutiques traditionnelles et modernes des huiles essentielles et des composés phénoliques de quelques espèces du Nord-est algérien. s.l. : Université de Constantine 1, 2018. p. 14.

- Soušek, D, et al. 1999.** Alkaloids and Organic acids Content of eight Fumaria. s.l. : Phytochem. Anal, 1999. Vol. 10, pp. 6-11.
- Suau, R, et al. 2002.** Alkaloids from Fumaria sepium and Fumaria agraria. s.l. : Biochemical Systematics and Ecology, 2002. Vol. 30, pp. 263-265.
- Swidsinski, A, et al. 2002.** Mucosal flora in inflammatory bowel disease. Gastroenterology 2002. Vol. 122, pp. 44-54.
- Tela-botanica.org.** eFlore, L'encyclopédie botanique collaborative.
- Silverberg, MS, et al. 2005.** [éd.] Can J Gastroenterol J Can Gastroenterol. *Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of.* 2005, pp. 5-36.
- Vercauteren, Jean. 2011.** *Plan, formules, et illustration Pharmacognosie.* Montpellier : s.n., 2011.
- Wichtl, M et Anton, R. 2003.** *Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique.* Paris : Edition LAVOISIR, 2003. pp. 38-41.
- Wink, M. 1999.** Biochemistry of Plant Secondary Metabolism. 1999.
- Witowski, J, et al. 2000.** IL-17 stimulates intraperitoneal neutrophil infiltration through the release of GRO alpha chemokine from mesothelial cells. *Immunol Baltim Md.* 2000, p. 165.
- Zhang, R, et al. 2020.** Diverse alkaloids and biological activities of Fumaria (Papaveraceae): An ethnomedicinal group. s.l. : Fitoterapia, 2020. Vol. 146.

Annexe

L'intégralité des réactifs et de l'appareillage utilisé lors de cette étude expérimentale est mentionné ci-dessous.

Réactifs	Appareillage
Ethanol absolu	Etuve
Ammoniaque	Une balance analytique de précision
Ether de pétrole	Agitateur magnétique
Acide chlorhydrique (HCl) à 37%	pH mètre
Diethyl ether	seringue de 5ml
Dichlorométhane	Micropipette de 1000ul
Eau physiologique	Spatule métallique
Eau distillée	Cages
DNBS	Sonde de gavage
PBS	Broyeur
Formol	Soxhlet
Dexamethasone	Verrerie de laboratoire
Réactifs de dosage	Outils de dissection
	Homogénéisateur
	Spectrophotomètre
	Centrifugeuse

Abstract:

The objective of this work was to study the intestinal anti-inflammatory preventive effect of the total alkaloid fraction extracted from the arial parts of *Fumaria capreolata* which is a plant very rich in isoquinoleic alkaloid and which is widely used in traditional medicine. Two doses (25 and 50 mg/kg) have been evaluated in a model of experimental colitis in mice induced chemically with DNBS. Oral administration of AFC during 10 days showed protector colonic effect, prevent the apparition of symptoms and immunomodulatory effect by suppressing of pro-inflammatory mediators such as NO. It also showed an antioxydant activity

- **Keywords:** *Fumaria capreolata*, Anti-inflammatory, alkaloids, DNBS.

Résumé :

L'objectif de ce travail a été d'étudier l'effet préventif anti-inflammatoire des alcaloïdes totaux de *Fumaria capreolata*, une plante largement utilisé en médecine traditionnelle, vis-à-vis de l'inflammation intestinale. Deux doses (25 et 50 mg/kg) ont été expérimentées à l'aide d'un model de colite induite chimiquement par DNBS. Le traitement oral d'AFC durant 10 jours a montré un effet protecteur sur le colon, prévention des symptômes d'une inflammation intestinal et un effet immunomodulateur en inhibant l'expression des médiateurs pro-inflammatoires comme le NO. Le traitement a aussi montré une activité antioxydante.

- **Mots-clés :** *Fumaria capreolata*, Anti-inflammatoire, Alcaloïdes, DNBS.