

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
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Pharmaco -Toxicologie



Réf :.....

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

Thème

**Etude *in vivo* de l'activité anti inflammatoire
intestinale des alcaloïdes de *Myrtus*
communis L.**

Présenté par :

BENHIZIA ZINEDDINE & KAABACHE KOSSEILA

Soutenu le : **25 JUIN 2023**

Devant le jury composé de :

M. BOUDJOUAN.F	MCA	Président
M. BRIBI. N	MCA	Encadreur
M ^{me} . ABDERRAHIM. S	MCA	Examinatrice

Année universitaire : 2022/2023

Sommaire

Liste des Abréviations	I
Liste des figures	II
Liste des Tableaux.....	III
Introduction	1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin	2
I.1 Maladie de Crohn.....	3
I.2 Rectocolite hémorragique.....	3
I.3 Physiopathologie des MICI.....	3
I.4 Facteurs de risques	4
I.4.1 Facteurs immunologiques	4
I.4.2 Facteurs génétiques	6
I.4.3 Microbiote intestinale.....	7
I.4.4 Facteurs environnementaux	8
I.5 Barrière épithéliale.....	9
I.6 Généralités sur les Myrtacées.....	9
I.6.1 <i>Myrtus communis</i> L.....	10
I.6.2 Position systématique de <i>Myrtus communis</i> L.....	11
I.6.3 Composition phytochimique de <i>Myrtus communis</i> L.	12
I.6.4 Activités pharmacologiques et biologiques de <i>Myrtus communis</i> L.....	13
I.7 Alcaloïdes	15
I.7.1 Classification des alcaloïdes	16

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II Matériel et Méthodes	18
II.1 Matériel	18
II.1.1 Matériel végétal	18
II.1.2 Matériel biologique.....	18
II.1.3 Matériel et réactifs	19
II.2 Méthodes.....	19
II.2.1 Séchage et broyage	19
II.2.2 Extraction des alcaloïdes totaux de <i>Myrtus communis</i> L.....	19
II.2.3 Etude de l'activité anti-inflammatoire intestinale.....	21
II.2.4 Etude histologique	22

II.2.5 Etude biochimique	25
II.2.5.1 Monoyde d'azote	25
II.2.5.2 Malondialdehyde	25
II.2.5.3 Myélopéroxydase	25
II.2.5.4 Glutathione.....	25
II.2.6 Analyse statistique	26

Chapitre III : Résultats et discussion

III. Résultats et discussion	27
III.1 Résultats	27
III.1.1 Taux d'extraction des alcaloïdes de <i>Myrtus communis</i> L	27
III.1.2 Activité anti-inflammatoire intestinale des alcaloïdes de <i>Myrtus communis</i> L	27
III.1.3 Résultat de la morphologie des côlons	27
III.1.4 Résultat du dosage de l'activité de monoyde d'azote.....	29
III.1.5 Résultat du dosage de l'activité de malondialdehyde.....	29
III.1.6 Résultat du dosage de l'activité de myélopéroxydase.....	29
III.1.7 Résultat du dosage de l'activité de glutathione.....	30
III.1.8 Résultat de l'analyse histologique.....	30
III.2 Discussion.....	32
Conclusion.....	35

Références bibliographiques

Annexe

Liste des abréviations

- AMC** : Alcaloïdes de *Myrtus communis* L.
- ATG16L1** : Autophagy related 16 like 1.
- CARD15**: Caspase Recrutement domain-Containingprotein 15.
- COX-2** : Cyclo-oxygénase2.
- DEXA** : Dexaméthasone.
- DNBS**: acide 2,4-Dinitrobenzène Sulfonique.
- DTNB** : 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid).
- GSH** : Glutathione.
- IL23R** : Interleukin 23 receptor.
- iNOS** : Inducible Nitric Oxide Synthase.
- JAMs** : Junctional Adhesion Molecules.
- LTh** : Lymphocyte T Helper.
- MC** : Maladie de Crohn.
- MDA** : Malondialdehyde.
- MICI** : Maladie Inflammatoire Chronique de l'Intestin.
- MPO** : Myéloperoxydase.
- NF-KB**: Facteur nucléaire kappa B.
- NO** : Monoxyde d'azote.
- NOD2**: Nucleotide-binding oligomerization domain 2.
- NOS** : Synthase d'oxyde nitrique.
- PGE2**: Prostaglandine E-2.
- PMN** : Polymorphonucléaires.
- RCH**: Recto-Colite Hémorragique.
- ROS** : Espèces réactives de l'oxygène.
- SDS** : Sodium dodecyl sulfate.
- SMAD3** : Mothers against decapentaplegic homolog 3.
- TBA** : Thiobarbituric acid.
- TCA** : Trichloroacetic acid.
- TGF-β**: Le facteur de croissance transformant.
- TNFSF15** : Tumor necrosis factor ligand superfamily member 15.
- TNF-α**: Facteur de nécrose tumorale alpha.
- Treg** : Lymphocyte T régulateur.

Liste des figures

Figure 1	Localisation des lésions intestinales dans la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique.	2
Figure 2	Représentation schématique de la physiopathologie des MICI.	4
Figure 3	Ensemble des cytokines impliquées dans la pathogenèse des MICI.	6
Figure 4	Distribution de <i>Myrtus communis</i> L.	10
Figure 5	Caractéristiques botaniques de <i>Myrtus communis</i> L.	11
Figure 6	Feuilles de <i>Myrtus communis</i> L.	18
Figure 7	Photographie des souris BALB/c.	18
Figure 8	Séchage et de broyage des feuilles de <i>Myrtus communis</i> L.	19
Figure 9	Photographie Appareil de Soxhlet.	19
Figure 10	Protocole d'extraction des alcaloïdes de <i>Myrtus communis</i> L.	20
Figure 11	Administration des alcaloïdes de <i>Myrtus communis</i> L par voie orale.	21
Figure 12	Administration de DNBS par voie rectale.	21
Figure 13	Différentes étapes de préparation des coupes histologiques.	24
Figure 14	Test de détection des alcaloïdes.	27
Figure 15	Morphologie générale des côlons traités avec différentes dose d'alcaloïdes de <i>Myrtus communis</i> L après l'induction de la colite par le DNBS.	28
Figure 16	Aspect macroscopique des côlons ouverts traités avec différentes dose d'alcaloïdes de <i>Myrtus communis</i> L après l'induction par le DNBS.	28
Figure 17	Effets des alcaloïdes de <i>Myrtus communis</i> L sur l'activité de monoxyde d'azote (NO) et malondialdéhyde (MDA) et myéloperoxydase (MPO) dans un modèle de colite induite par le DNBS chez les souris.	29
Figure 18	Effets des alcaloïdes de <i>Myrtus communis</i> L sur l'activité de glutathione dans un modèle de colite induite par le DNBS chez les souris.	30
Figure 19	Effet des alcaloïdes de <i>Myrtus communis</i> L (AMC) sur l'aspect cellulaire dans un modèle de colite induite par le DNBS. Section histologique de la muqueuse colique colorée. (a) (lot témoin), (b) (lot DNBS), (c) (lot médicament), (d) (lot AMC25mg/kg), (e) (lot AMC 50mg/kg), (f)(AMC 100mg/kg) grossissement x4 et x10.	31

Liste des tableaux

Tableau I	Taxonomie de <i>Myrtus communis</i> L.	11
Tableau II	Composition phytochimique de <i>Myrtus communis</i> L.	12
Tableau III	Synthèse des différentes propriétés pharmacologiques de <i>Myrtus communis</i> L, selon chaque partie de la plante.	14
Tableau IV	Représente les différents groupes des alcaloïdes.	16



REMERCIEMENT

Tout ce qui a un début a une fin, mais chaque fin est le début d'un nouveau départ.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mr BRIBI N, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous tenons à remercier les membres de jury Mme ABDERRAHIM et M BOUDJOUAN pour avoir accepté de juger notre mémoire.

Nos remerciements vont à tous les doctorants de M BRIBI (Mohammed, Riad, Mériem et Safia) pour leur aide pratique, leur soutien morale et les encouragements qu'ils nous ont prodigués.

Enfin, nous remercions pour nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.



Dédicace

Je tiens, c'est avec grand plaisir que je dédie ce modeste travail

:

À l'être le plus cher de ma vie, ma mère,

À celui qui a fait de moi un homme, mon père,

À mes chers frères et sœurs, Nawel, Sidali, Mohammed et Reda.

À les petits enfants Maria et Yasser BENCHIZIA,

À tous mes amis Koceila, Rabah, Fatah et toutes les personnes qui occupent une place dans mon cœur,

Je dédie ce travail à tous ceux qui ont participé à ma réussite.

BENCHIZIA Zineddine



Dédicace

Je dédie ce travail

A mes chers parents ma mère et mon père,

*Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs
encouragements,*

A mes frères Anis et Massi,

*A tous les professeurs que ce soit du primaire, du
moyen, du secondaire ou de l'enseignement
supérieur,*

A mes amis proches Jugurtha, Nazim,

*Sans oublier Melle Djamila et Madame Hiba, les
ingénieurs de bloc 9 Meriem et Lydia.*

KAABACHE KOSSEILA

Introduction

L'inflammation chronique est le problème de santé publique, Il s'agit d'une réponse protectrice normale aux lésions tissulaires causées par un traumatisme physique, des produits chimiques nocifs ou des agents microbiens (Ndiaye *et al.*, 2006). Néanmoins, les symptômes qui accompagnent cette réaction peuvent être plus ou moins désagréables et se caractérisent par des sensations de rougeur, chaleur, douleur et de gonflement (Muster, 2005). Ce Déséquilibre cause plusieurs maladies tels que les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), les causes exactes des MICI sont encore inconnues, mais il est généralement admis qu'elles résultent d'une interaction complexe entre des facteurs génétiques, environnementaux et immunitaires (Baumgart et Sandborn, 2012).

En raison de la forte croissance des maladies inflammatoires et des effets secondaires indésirables des médicaments synthétiques anti-inflammatoires, de nombreux chercheurs à travers le monde se tournent vers la recherche de nouveaux composés d'origine végétale capables de compenser ces effets négatifs. La phytothérapie est souvent bien tolérée par l'organisme car elle utilise des remèdes naturels. Parmi ce monde vaste de végétation, on distingue le myrte, également connue sous le nom scientifique *Myrtus communis* L, est un arbuste à feuillage persistant qui fait partie de la famille des Myrtaceae. On la trouve couramment à l'état sauvage dans toute la région méditerranéenne et elle est utilisée à diverses fins médicinales, alimentaires et aromatiques. Dans la médecine traditionnelle, les feuilles et les fruits de le myrte sont employés comme agents antiseptiques, antibactériens, antihyperglycémiant, analgésiques et anti-inflammatoires (Mimica-Dukić *et al.*, 2010) (Chidouh *et al.*, 2014). Cette plante est connue par sa richesse et pour sa grande variété et sa teneur élevée en métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, qui sont un groupe important de substances d'origine naturelle ayant un intérêt thérapeutique grâce à leur diversité structurale et leurs propriétés pharmacologiques (Bruneton, 1993). C'est grâce à ces caractéristiques que les alcaloïdes sont efficaces dans le traitement de diverses maladies hépatobiliaires et gastro-intestinales (Wichtel et Anton, 1999).

Afin de répondre à cette problématique, ce travail a été entrepris dans le but d'évaluer l'effet anti-inflammatoire intestinal des alcaloïdes extraits des feuilles de *Myrtus communis* L sur un modèle colitique induit par le DNBS, une première partie présentera l'état actuel de nos connaissances sur les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) et sur *Myrtus communis* L. La deuxième partie se concentrera sur les méthodes expérimentales utilisées, suivie d'une discussion et d'une analyse des différents résultats obtenus.

I. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) est une pathologie inflammatoire chronique du système digestif qui regroupe, entre autres, la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH) (Szigethy *et al.*, 2011). Cette maladie se manifeste par des épisodes de douleurs abdominales, de diarrhées, de sang dans les selles, de perte de poids et l'infiltration de neutrophiles et de macrophages qui produisent des cytokines, des enzymes protéolytiques et des radicaux libres, entraînant ainsi une inflammation et des ulcérations de la muqueuse intestinale (Stokkers et Hommes, 2004 , Szigethy *et al.*, 2011).

En général, les symptômes des MICI varient en fonction de la partie de l'intestin touchée, tandis que ces symptômes ne sont pas particuliers à cette maladie (Mimouna, 2013). La rectocolite hémorragique se caractérise par une réponse inflammatoire avec œdème, ulcération et saignement, ainsi que des changements morphologiques le long de la muqueuse intestinale, impliquant l'infiltration de cellules polynucléaires (PMN), la formation d'abcès dans les cryptes muqueuses et la distorsion des glandes. Ces changements se concentrent dans la muqueuse et sont limités au côlon et au rectum (Danese et Fiocchi, 2011). La MC peut affecter n'importe quelle partie du tractus gastro-intestinal, perturbant principalement la sous-muqueuse, mais peut être transmurale et dépasser la séreuse, créant ainsi des fistules (Baumgart et Sandborn, 2012). Ces affections évoluent généralement par phases de poussées, avec une intensité et une durée variables, lorsque la maladie est active. En revanche, lorsqu'elle est quiescente, des phases de rémission peuvent être observées (Bar-Gil Shitrit *et al.*, 2016).

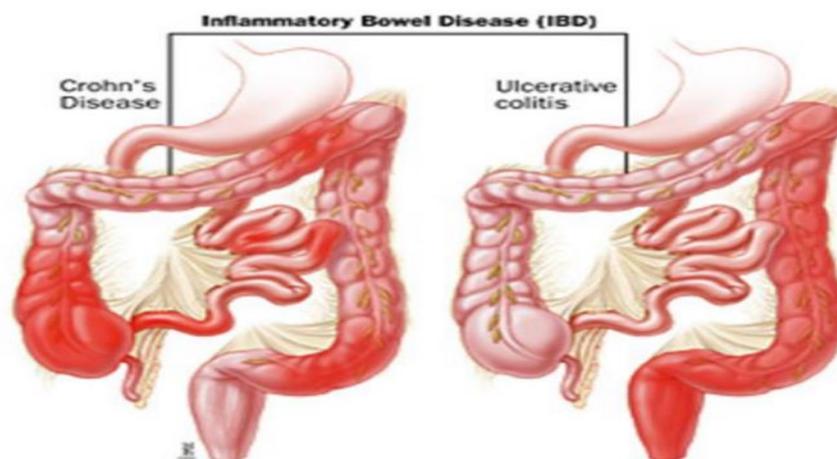


Figure 1 : Localisation des lésions intestinales dans la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique (Mimouna, 2013).

I.1 Maladie de Crohn

La maladie de Crohn est une affection chronique et inflammatoire du système digestif, caractérisée par des symptômes qui réapparaissent et disparaissent de manière régulière (**Torres et al., 2017**). C'est une maladie inflammatoire qui peut toucher n'importe quelle partie du tube digestif, allant de la bouche à l'anus, et qui peut également provoquer des manifestations externes telles que des problèmes articulaires, cutanés ou oculaires. Elle se caractérise par des phases de poussées inflammatoires, alternant avec des périodes de rémission, actuellement, la cause exacte de MC n'a pas encore été identifiée et semble être le résultat de plusieurs facteurs, notamment une prédisposition génétique, une composition particulière de la flore intestinale et un dysfonctionnement du système immunitaire. En conséquence, cette maladie est considérée comme multifactorielle (**Zhang, 2014**). Elle touche habituellement des sujets jeunes, le pic diagnostique se situant autour de 30 ans.

I.2 Rectocolite hémorragique

La RCH c'est une maladie inflammatoire chronique de l'intestin faisant partie d'un groupe de maladies définies par une inflammation chronique, intermittente ou continue, affectant une partie plus ou moins étendue de la paroi intestinale et dont la cause exacte n'est pas clairement identifiée (**Diouf et al., 2010**). L'origine exacte de la rectocolite hémorragique reste inconnue.

Cette maladie se caractérise cliniquement par des épisodes récurrents de diarrhée sanglante et, sur le plan pathologique, par une inflammation diffuse de la paroi du gros intestin (**De Dombal, 1968**). La RCH est provoquée par une réponse immunitaire anormale du système immunitaire intestinal, ce qui entraîne un dysfonctionnement de la barrière muqueuse intestinale et une incapacité à empêcher la pénétration des bactéries entériques chez un hôte génétiquement prédisposé (**Kucharzik et al., 2006**).

I.3 Physiopathologie des MICI

Même à ce jour, l'origine des MICI demeure inconnue, il est largement accepté que ces affections résultent d'une complexité multifactorielle (**Kökten et al., 2016**). Des études approfondies ont mis en évidence le rôle des facteurs génétiques et environnementaux dans la survenue des MICI, bien que la cause principale de cette maladie n'ait pas encore été complètement élucidée. En 2005, Heyman et ses collaborateurs, ont conclu deux principales causes des MICI.

1-Le déséquilibre du système muqueux conduit à une augmentation de la réponse immunitaire dans le microbiote humain.

2-Toute altération de la composition du microbiote intestinal ou perturbation de la fonction de l'épithélium entraîne une réaction pathologique dans le système muqueux sain.

Aussi il est vrai que Podolsky a souligné dans ses travaux que la pathogénicité des MICI dépend de plusieurs facteurs, notamment la susceptibilité du patient, l'immunité des muqueuses et la composition de la microflore intestinale. Ces facteurs peuvent interagir de manière complexe et contribuer au développement des MICI (**Podolsky, 2002**).

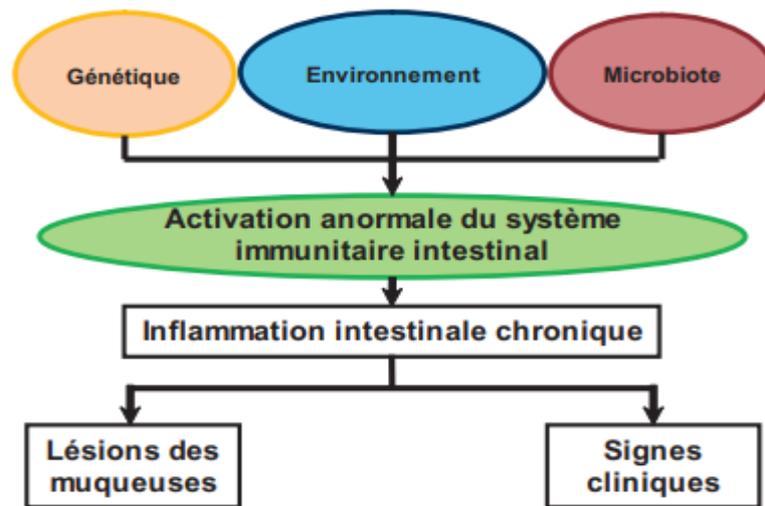


Figure 2 : Représentation schématique de la physiopathologie des MICI (**Kökten et al., 2016**).

I.4 Facteurs de risques

I.4.1 Facteurs immunologiques

Le mucus intestinal est composé de glycoprotéines et de lipides qui créent une barrière physique pour protéger la muqueuse intestinale contre les agents pathogènes. Cette barrière est renforcée par la production de mucus par les cellules caliciformes (**McGuckin, 2011**).

Les jonctions serrées sont des structures qui maintiennent l'intégrité de la muqueuse intestinale et régulent la perméabilité de la barrière intestinale. Les protéines d'adhésion comme les occludines, les claudines et les JAMs sont essentielles pour la formation de ces jonctions. Les changements dans ces protéines peuvent augmenter la perméabilité intestinale et contribuer au développement de maladies inflammatoires de l'intestin (**Gonzalez-Mariscal, 2003**), les peptides antimicrobiens, tels que les defensines et les cathelicidines, sont

synthétisés par les cellules épithéliales de la muqueuse intestinale pour lutter contre les agents pathogènes. Ces peptides peuvent également moduler la réponse immunitaire de la muqueuse intestinale (**Salzman et al., 2010**).

Les tissus lymphoïdes associés à l'intestin (GALT) comprennent non seulement les plaques de Peyer, mais également d'autres structures lymphoïdes telles que les follicules lymphoïdes solitaires et les ganglions lymphatiques mésentériques. Ces structures jouent un rôle clé dans la réponse immunitaire intestinale en agissant comme des capteurs pour les antigènes pathogènes et les antigènes commensaux, déclenchant une réponse immunitaire innée et adaptative appropriée (**Mowat, 2003**), la dysbiose intestinale, qui est caractérisée par une perturbation de l'équilibre de la flore intestinale normale, peut être causée par divers facteurs tels que l'utilisation d'antibiotiques, l'alimentation et le stress. Cette perturbation peut entraîner une diminution de la sécrétion de mucus et de peptides antimicrobiens par les cellules épithéliales, ce qui peut augmenter la perméabilité de la barrière épithéliale. Cette augmentation de la perméabilité peut permettre aux bactéries pathogènes d'envahir la lamina propria, qui peut entraîner une activation excessive du système immunitaire muqueux (**Bischoff et al., 2014**).

Lorsque les cellules épithéliales et les macrophages sont activés par des bactéries pathogènes, ils synthétisent des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β , l'IL-6 et l'IL-8 plutôt que des cytokines anti-inflammatoires telles que le TGF- β et la PGE₂, ce qui peut induire la différenciation des LT CD4⁺ naïfs en lymphocytes T effecteurs LTh1, LTh2 et LTh17 (**Abreu, 2010**). Les cellules dendritiques qui ont été exposées à des antigènes bactériens peuvent migrer vers les ganglions lymphatiques et perdre leur tolérance, ce qui peut conduire à la synthèse d'un taux élevé d'IL-12 pro-inflammatoire plutôt que d'IL-10, ce qui peut induire la différenciation des LT CD4⁺ naïfs en lymphocytes T effecteurs LTh1, LTh2 et LTh17 (**Mowat et Agace, 2014**). Les LTh1, LTh2 et LTh17 jouent des rôles différents dans la réponse immunitaire contre les bactéries pathogènes dans l'intestin, les LTh1 sont responsables de l'expansion de la réponse cellulaire, tandis que les LTh2 favorisent la réponse immunitaire humorale, les LTh17 sont impliqués dans le recrutement des cellules de l'immunité innée et l'amplification de l'inflammation, ce qui peut causer des lésions intestinales (**Sánchez de Medina et al., 2014, Lee et al., 2018**).

D'autre part Les TReg suppriment les fonctions pro-inflammatoires des macrophages muqueux et des cellules T effectrices en produisant du TGF β , qui active des protéines intracellulaires appelées SMAD 3 et 4. Cependant, chez les patients atteints de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), les cellules T effectrices surexpriment une

protéine appelée SMAD7, qui inhibe la signalisation du TGFβ et peut donc rendre les cellules résistantes à la suppression médiée par le TGFβ (Neurath, 2019).

On conclut donc que la MC et la RCH sont deux MICI distinctes, chacune caractérisée par des profils immunologiques différents, la MC est caractérisée par une réponse Th1 avec une augmentation de l'expression de cytokines telles que l'IFN-γ, l'IL-12 et le TNF-α, tandis que la RCH est caractérisée par une réponse Th2 avec une augmentation de l'expression de cytokines telles que l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13 (Strober *et al.*, 2007).

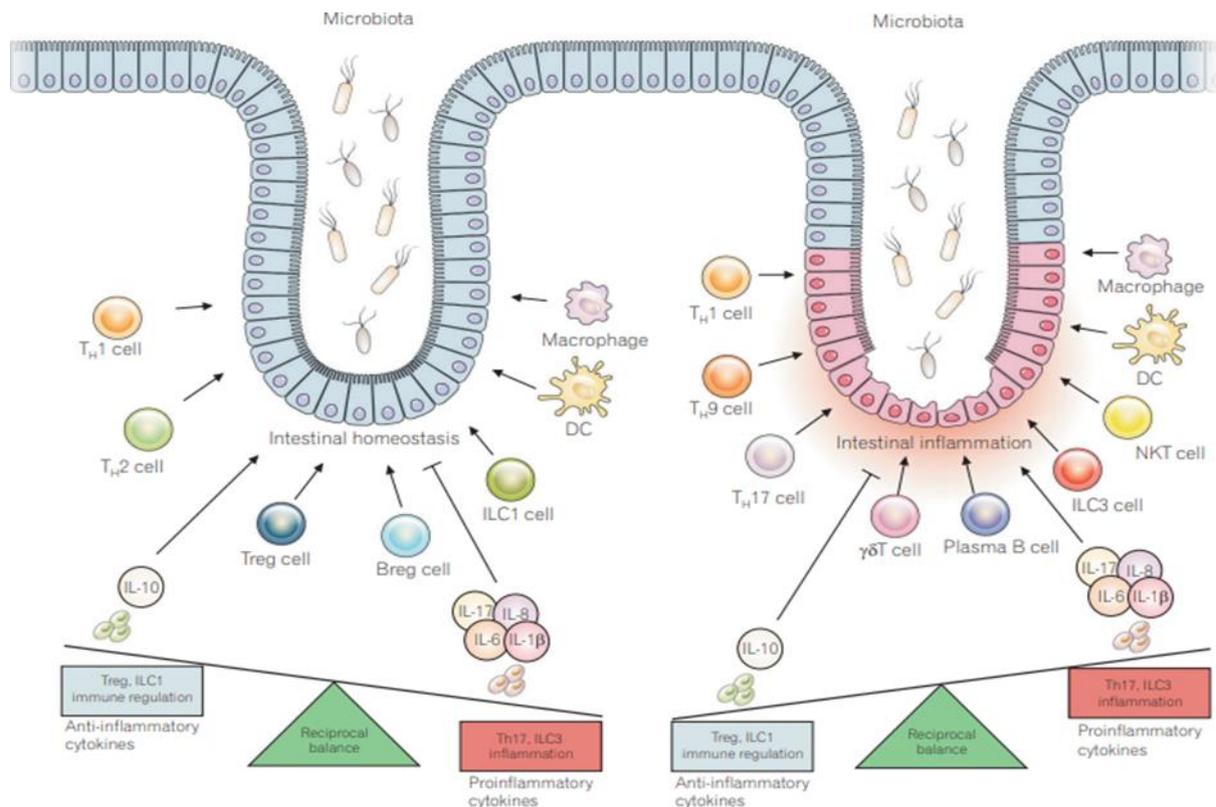


Figure 3 : Ensemble des cytokines impliquées dans la pathogenèse des MICI (Lee *et al.*, 2018).

I.4.2 Facteurs génétiques

Plusieurs gènes ont été impliqués dans la susceptibilité aux MICI, notamment des gènes impliqués dans l'immunité innée et adaptative, l'homéostasie de la muqueuse intestinale et la réponse aux infections bactériennes. Certaines des variations génétiques les plus étudiées associées aux MICI sont les polymorphismes de nucléotide unique (SNP) dans le gène NOD2/CARD15, le gène IL23R, le gène ATG16L1.

Le gène NOD2/CARD15 a été associé à la susceptibilité à la maladie de Crohn, en particulier chez les personnes d'origine européenne. Les mutations dans ce gène sont

impliquées dans la régulation de la réponse immunitaire de l'hôte aux bactéries intestinales, ce qui peut contribuer à l'inflammation chronique observée dans la maladie de Crohn (**Hugot et al., 2001**). Le gène IL23R a également été associé à la susceptibilité à la maladie de Crohn et à la colite ulcéreuse, en particulier chez les personnes d'origine européenne. Ce gène code pour une sous-unité du récepteur de l'IL-23, qui est un facteur de croissance cytokinique impliqué dans la réponse immunitaire et l'inflammation. Les variations génétiques dans ce gène peuvent altérer la signalisation de l'IL-23 et contribuer à l'inflammation chronique observée dans les MICI (**Duerr et al., 2006**).

Le gène ATG16L1 code pour une protéine impliquée dans la régulation de l'autophagie, qui est un processus de dégradation des protéines et des organites cellulaires endommagés. Les variations génétiques dans ce gène ont été associées à la susceptibilité à la maladie de Crohn, en particulier chez les personnes d'origine européenne. Les mutations dans ce gène peuvent perturber l'autophagie et favoriser l'inflammation chronique observée dans la maladie de Crohn (**Rioux et al., 2007**).

En outre, des études de séquençage ont identifié des mutations rares dans plusieurs gènes qui augmentent le risque de MICI, notamment les gènes de la famille TNFSF15 (**McGovern et al., 2010**). Ces gènes ne représentent qu'une partie des variations génétiques impliquées dans la susceptibilité aux MICI.

I.4.3 Microbiote intestinale

Le microbiote intestinal est composé de milliards de micro-organismes, notamment des bactéries, des virus et des champignons, qui vivent dans l'intestin. Il est connu pour jouer un rôle important dans la digestion, l'absorption des nutriments, le métabolisme et l'immunité de l'hôte (**Belizário et Napolitano ,2015**). Les perturbations de ce dernier sont connues pour contribuer au développement des MICI. Les patients atteints de MICI ont un microbiote intestinal altéré, caractérisé par une diminution de la diversité des espèces bactériennes et une augmentation de la proportion de bactéries pathogènes et inflammatoires (**Gevers et al., 2014**). Cette altération est associée à une inflammation chronique de l'intestin, ainsi qu'à une altération de la perméabilité intestinale et de la fonction barrière, qui permettent aux bactéries pathogènes de traverser la paroi intestinale et de déclencher une réponse inflammatoire (**Scaldaferri et al., 2013**). Plusieurs études ont montré que la modification du microbiote intestinal par l'administration de probiotiques ou de prébiotiques peut améliorer les symptômes des MICI, ainsi que la qualité de vie des patients (**Matsuoka et Kanai, 2015**).

I.4.4 Facteurs environnementaux

Plusieurs facteurs environnementaux tels que le régime alimentaire, les infections, le tabagisme, la pollution de l'air, le stress et l'utilisation d'antibiotiques ont été sélectionnées comme facteurs risque des MICI (**Xavier et Podolsky, 2007**).

- **Régime alimentaire**

Des études ont montré que le régime alimentaire peut avoir un impact sur la santé intestinale et jouer un rôle dans le développement des MICI. Par exemple, une alimentation riche en graisses saturées, en sucres et en produits transformés peut augmenter le risque de développer une MICI, tandis qu'une alimentation riche en fruits, légumes, céréales complètes et acides gras oméga-3 peut réduire le risque (**Ananthakrishnan et al., 2014**).

- **Infections**

Les infections intestinales peuvent déclencher ou aggraver les symptômes des MICI. Les bactéries, les virus et les parasites peuvent provoquer une inflammation de l'intestin et perturber l'équilibre de la flore intestinale (**Sartor, 2008**).

- **Tabagisme**

IL est un facteur de risque bien établi pour la maladie de Crohn, mais il peut également avoir un effet négatif sur la colite ulcéreuse. Le tabagisme actuel protège contre la colite ulcéreuse. Après le début de la maladie, il améliore son évolution en réduisant le besoin de colectomie. Cependant, le tabagisme augmente le risque de développer la maladie de Crohn et aggrave son évolution, augmentant le besoin de stéroïdes, d'immunosuppresseurs et de réopérations. L'arrêt du tabac aggrave la colite ulcéreuse et améliore la maladie de Crohn (**Cosnes, 2004**), cela donc explique la différencié du tabac sur ces deux maladies.

- **Pollution de l'air**

Les particules fines, les gaz d'échappement et autres polluants peuvent déclencher une inflammation de l'intestin et altérer la fonction immunitaire (**Khalili et al., 2012**).

- **Stress**

Le stress psychologique peut aggraver les symptômes des MICI et perturber l'équilibre de la flore intestinale. Des études ont montré que la relaxation, la méditation et d'autres techniques de gestion du stress peuvent aider à améliorer les symptômes et à prévenir les rechutes (**Mawdsley et Rampton, 2005**).

1.5 Barrière épithéliale

La muqueuse épithéliale constitue la première ligne de défense du système immunitaire de l'intestin. Des recherches précédentes ont établi des liens entre des problèmes dans la production de mucus et certaines maladies inflammatoires de l'intestin, telles que la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique (**Xavier et Podolsky, 2007**). La barrière intestinale dépend fortement des jonctions serrées entre les entérocytes pour empêcher les substances indésirables de pénétrer dans l'intestin. De plus, la couche externe de mucus, principalement composée de mucine, joue un rôle crucial dans cette protection. Des variations dans le gène *muc2* ont également été identifiées comme des facteurs de prédisposition chez les individus atteints de maladies inflammatoires de l'intestin (**Anderson et al., 2011**). Plusieurs facteurs peuvent augmenter la perméabilité de cette barrière intestinale, notamment l'apoptose des cellules épithéliales intestinales, la perturbation des jonctions serrées et la formation d'ulcères. Cette altération de la barrière épithéliale intestinale peut créer une "porte d'entrée" pour de nombreux micro-organismes, ions et autres molécules, ce qui contribue au déclenchement et au maintien de l'inflammation ainsi qu'à la diarrhée caractéristique des maladies inflammatoires de l'intestin (**Neurath, 2014**).

1.6 Généralités sur les Myrtacées

Le nom de la famille Myrtacées provient du genre *Myrtus*, qui englobe 140 genres et comprend environ 5700 espèces (**Angiosperm phylogeny Group, 2016**). De nombreuses espèces de la famille sont utilisées en herboristerie ou en aromathérapie. Parmi celles-ci nous pouvons citer : *Eucalyptus globulus* (le gommier bleu), *Melaleuca cajuputi* (le cajepu), *Melaleuca quinquenervia* (le niaouli), *Syzygium aromaticum* (le giroflier). Elles revêtent une importance économique pour les industries agroalimentaires et pharmaceutiques cosmétiques, sans oublier les nombreux composés potentiellement bioactifs qui restent à analyser et à évaluer. Les espèces de cette famille sont pour la plupart des pantropicales, très présents en Australie dans sa partie tempérée, *Myrtus communis* L est la seule espèce de la famille qui est naturellement présente en Méditerranée comme la figure (4) le représente.

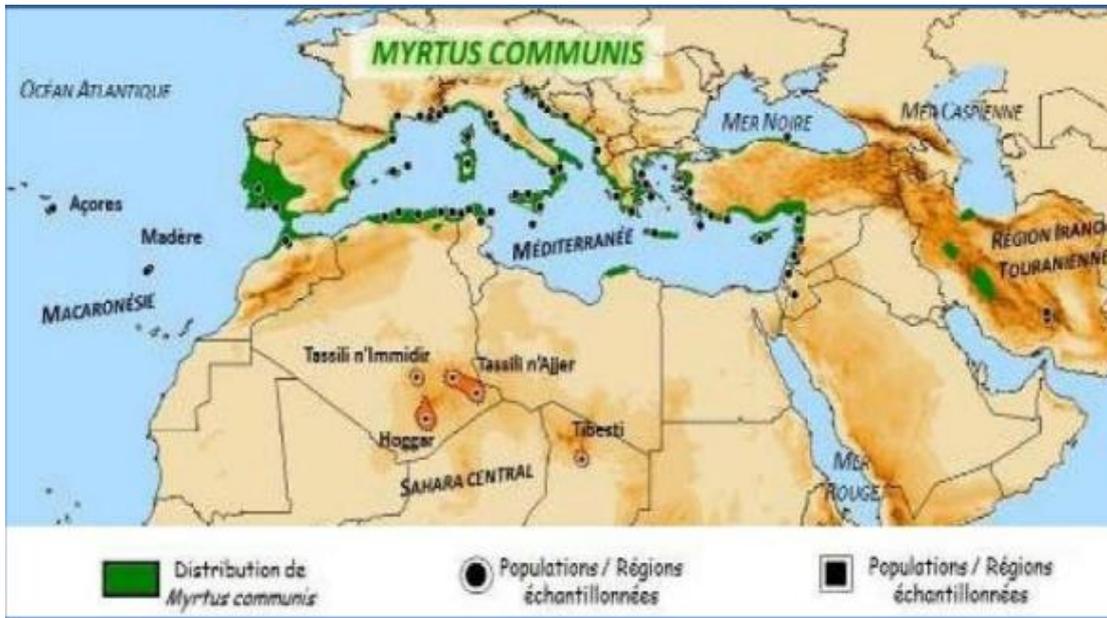


Figure 4 : Distribution de *Myrtus communis* L (Migliore, 2011).

I.6.1 *Myrtus communis* L

L'espèce nommée Myrte commun, également appelée myrte juif ou herbe lagui et connue sous le nom de "Rihan", il appartient à la famille des myrtacées, qui comprend environ 145 genres et plus de 5500 espèces (Snow *et al.*, 2011). Il s'agit d'un arbuste sclérophylle à feuilles persistantes ou d'un petit arbre de 1,8 à 2,4 m de hauteur, au petit feuillage et à l'écorce profondément fissurée (Mendes *et al.*, 2001). Le myrte se distingue par ses branches rougeâtres (Figure 5) qui sont fortement ramifiées, ainsi que par ses petites feuilles opposées, très rapprochées, ovales-lancéolées, aiguës, coriaces, persistantes, d'un vert brillant, glabres, luisantes et à court pétiole. Elles sont également entières, La floraison peut commencer à partir de mai-juin et s'étend jusqu'en août sous forme de fleurs blanches, parfumées, avec des pétales blancs brillants ou teintés de rose (Wang *et al.*, 2010). Le fruit est de forme ovale et noir bleuté, parfois vert. Les graines sont nombreuses, aux formes et dimensions irrégulières. Ils sont réniforme, brillant, couleur ivoire, et une saveur résineuse.



Figure 5: Caractéristiques botaniques de *Myrtus communis* L (Kanoun, 2011).

I.6.2 Position systématique de *Myrtus communis* L

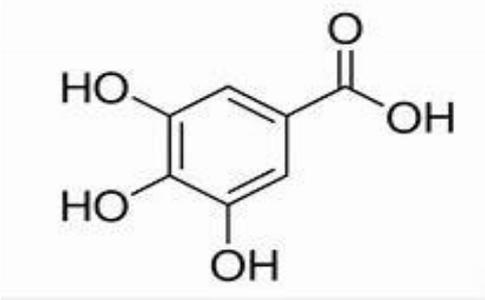
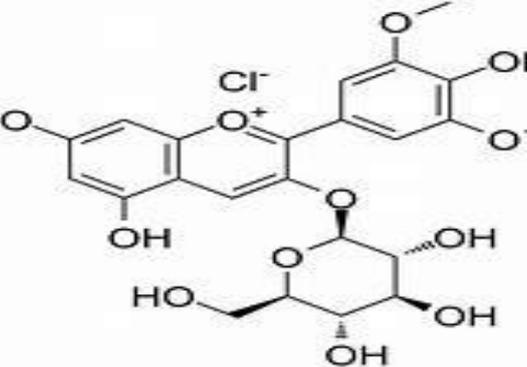
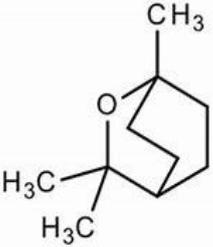
Tableau I : Taxonomie de *Myrtus communis* (Goetz et Ghedira, 2012).

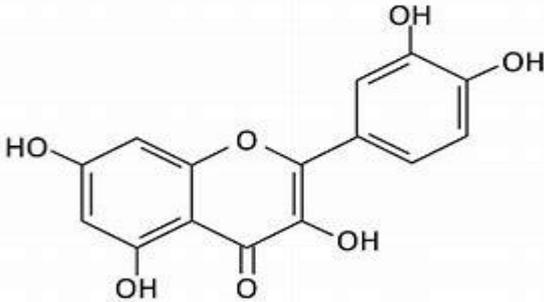
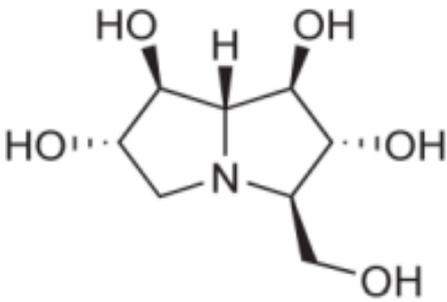
Règne	Plantae
Sous- règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta
Sous –embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	<i>Mytaceae</i>
Genre	<i>Myrtus</i>
Espèce	<i>M communis</i> L.
Variétés	<i>M communis</i> var. <i>italica</i> L. <i>M communis</i> var. <i>baetica</i> L. <i>M communis</i> var. <i>lusitanica</i> L.

I.6.3 Composition phytochimique de *Myrtus communis* L

Le Myrte renferme divers éléments tels que des minéraux et de la matière azotée, ainsi que des métabolites secondaires tels que les huiles essentielles et les composés phénoliques, en plus des métabolites primaires (**Tableau II**). Les feuilles et les fruits contiennent une quantité importante de tannins, de flavonoïdes et d'anthocyanidines (**Sabiha et al., 2011**) et des alcaloïdes (**Akhtar et al., 2012**).

Tableau II : Composition phytochimique de *Myrtus communis* L

Composés	Exemples	Références
* Acides phénoliques	Acide gallique 	(Romani et al., 1999)
Tannins	Malvidine 	(Diaz et Abeger, 1986)
Terpènes	1,8-cineole 	(Wannes et al., 2010)

<p>Flavonoïdes</p>	<p style="text-align: center;">Quercétine</p> 	<p>(Romani <i>et al.</i>, 1999) (Joseph <i>et al.</i>, 1987)</p>
<p>Alcaloïdes</p>	<p style="text-align: center;">Casuarine</p> 	<p>(Akhtar <i>et al.</i>, 2012)</p>

I.6.4 Activités pharmacologiques et biologiques de *Myrtus communis L*

Myrte a été utilisé depuis les temps anciens comme une épice, ainsi que pour des fins médicinales et de préparation alimentaire (Aleksic et Knezevic, 2014), et cela grâce à ses propriétés pharmacologiques et biologiques. Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie. Les propriétés remarquables des métabolites secondaires végétaux ont été exploitées à grande échelle en tant qu'ingrédients dans les médicaments, ainsi qu'à des fins thérapeutiques et culinaires, en raison de leurs activités biologiques exceptionnelles (Kumar *et al.*, 2022).

Dans le tableau suivant (**Tableau III**) sont citées quelques activités du *Myrtus communis* L selon chaque partie de cette plante, dont les propriétés susdites ont été vérifiées et confirmées par différents travaux.

Tableau III : Synthèse des différentes propriétés pharmacologiques de *Myrtus communis* L, selon chaque partie de la plante (**Aleksic et Knezevic, 2014**).

Composés	Partie de la plante	Activité pharmacologique
Acides phénoliques	feuilles, tige, fleurs, fruit.	antioxydant, antimutagène, anti tumeur, antibactérien,
Tannins	feuilles, fleurs.	antibactérien, anti-cancéreux, antiviral, inhibition des lipides peroxydation,
	feuilles, fleurs et fruit.	antioxydant,
Terpènes	feuilles, fleurs	antimicrobien,
	tige	antivirale,

Flavonoïdes	feuilles, tige, fruit	antibactérien, antivirale, antioxydant, anti-inflammatoire, antiallergique, anti-cancéreux, néoplasique, antimutagène,
	tige, fruit	anti-thrombotique, vasodilatateur

I.7 Alcaloïdes

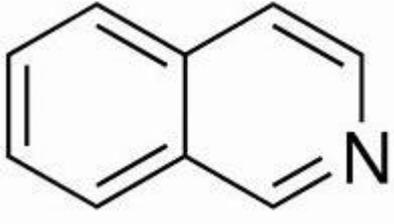
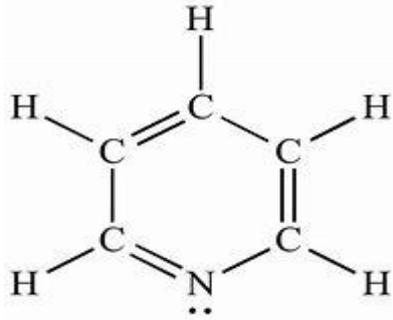
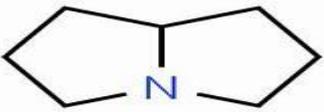
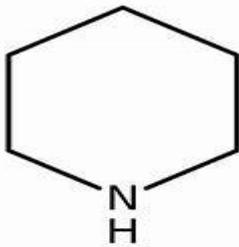
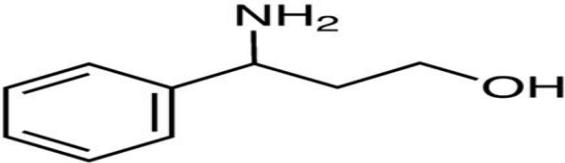
Les alcaloïdes sont un groupe de composés naturels basiques contenant de l'azote, de faible poids moléculaire, synthétisés à partir d'acides aminés et biologiquement actifs (**Ziegler et Facchini, 2008**). Ils se trouvent principalement dans différents types d'organismes vivants, notamment les plantes, les animaux, les champignons et les bactéries (**Moreira et al., 2018**). Ils sont produits par les plantes en réponse à des changements environnementaux ou des stress biotiques et abiotiques. Ils possèdent un atome d'azote qui a la capacité d'accepter des protons et un ou plusieurs atomes d'hydrogène amine qui a la capacité de donner des protons. Ces atomes établissent des liaisons hydrogène avec des protéines, des enzymes et des récepteurs. De manière générale, les alcaloïdes présentent des groupes fonctionnels tels que l'hydroxyle phénolique, qui pourrait expliquer leur exceptionnelle bio-activité (**Cushnie et al., 2014**).

Ces métabolites secondaires présentent une grande variété de structures et possèdent des propriétés biologiques importantes (**Taha et al., 2009**). Les propriétés des alcaloïdes en font des candidats potentiels pour le développement de nouveaux médicaments, et cela suscite un intérêt grandissant chez les scientifiques. Les alcaloïdes peuvent être classés en fonction de leur squelette carboné, tels que les alcaloïdes indole, isoquinoline et pyridine. De plus, leur classification peut également se baser sur leurs précurseurs biochimiques, comme l'ornithine, la lysine, la tyrosine et le tryptophane (**Cushnie et al., 2014**).

I.7.1 Classification des alcaloïdes

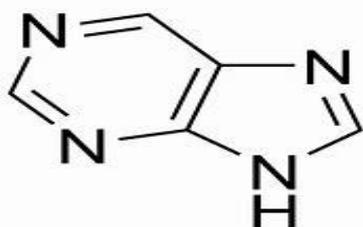
Les alcaloïdes sont basés sur trois types : les vrais alcaloïdes, les proto-alcaloïdes et les pseudo-alcaloïdes. Les vrais alcaloïdes sont caractérisés par un cycle hétérocyclique contenant de l'azote, tandis que les proto-alcaloïdes ont un atome N provenant d'acides aminés qui n'est pas inclus dans le cycle hétérocyclique. Les pseudo-alcaloïdes ne sont pas dérivés d'acides aminés et incluent des alcaloïdes de type terpène, purine et stéroïde. Les différentes catégories d'alcaloïdes sont présentées dans le tableau IV.

Tableau IV : Représente les différents groupes des alcaloïdes (Aniszewski, 2007).

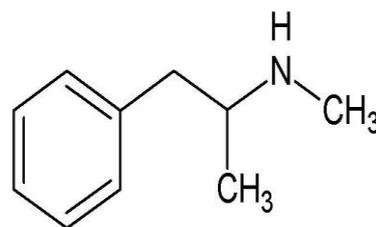
Alcaloïdes vrai	
<p>Isoquinoline</p> 	<p>Pyridine</p> 
<p>Pyrrolizidine</p> 	<p>Piperidine</p> 
Proto alcaloïdes	
<p>Phenylethylamine</p> 	

Pseudo alcaloïdes

Purine



Ephedrine



➤ Pourquoi plus exactement les alcaloïdes ?

Jusqu'à présent, plus de 20000 alcaloïdes ont été découverts et plusieurs d'entre eux ont joué un rôle important dans la pratique clinique (**Staniek *et al.*, 2013**). Ils ont une variété d'activités biologiques, telles que la capacité d'être émétiques, anticholinergiques, anti-tumoraux, diurétiques, sympathomimétiques, antiviraux, antihypertenseurs, analgésiques, antidépresseurs, relaxants musculaires, antimicrobiens, antiulcéreux et le plus important le rôle d'un anti-inflammatoire qui est but de ce mémoire (**Henriques *et al.*, 2004, De Sousa Falcão *et al.*, 2008**).

Diverses études ont mis en évidence que les alcaloïdes possèdent une activité anti-inflammatoire, en régulant ou inhibant des médiateurs inflammatoires clés tels que NF- κ B, COX-2 et iNOS (inducible Nitric Oxide Synthase) (**Yang *et al.*, 2006, Pacheco de Oliveira *et al.*, 2015**).

II. Matériel et Méthodes

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel végétal

Des feuilles de *Myrtus* ont été collectées dans la région de Meghra (Wilaya de Bejaïa) durant le mois de février 2023, loin de la pollution (état sauvage). Le professeur Mohamed SAHNOUNE a identifié et authentifié la plante au niveau du laboratoire d'écologie et d'environnement de l'université de Bejaia Targa ouzemour.

Règne : Plantae

Classe : Dicotylédonae

Famille : Myrtaceae

Espèce : *Myrtus communis* L



Figure 6 : Feuilles de *Myrtus communis* L (photo original)

II.1.2 Matériel biologique

Cette étude a été réalisée sur des souris femelles BALB/c, fournies par l'institut pasteur d'Alger. Présente un poids moyen de 19g. Les souris ont été élevés et logés au niveau de l'animalerie de l'université de Bejaïa Targa Ouzemour à une température ambiante ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), avec un cycle lumière /obscurité de 12 h et avec accès libres à l'eau et à l'aliment. Après une semaine d'adaptation, les souris ont été pesées, partagées dans 6 lots et marquées avant leur utilisation.



Figure 7 : Photographie des souris BALB/c (Photo original, animalerie université de Bejaïa).

II.1.3 Matériel et réactifs

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

II.2 Méthodes

II.2.1 Séchage et broyage

Les feuilles de *Myrtus communis* L ont été nettoyées avec de l'eau pour enlever toute la saleté, puis séchées à l'étuve à 40 C° pendant une semaine. Après le séchage, les feuilles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique.

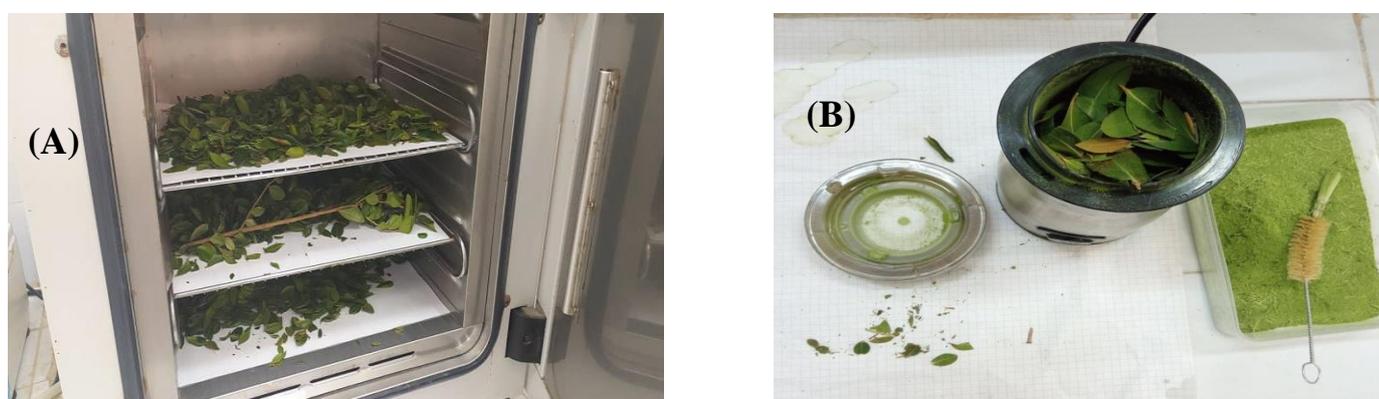


Figure 8: Séchage (A) et de broyage (B) des feuilles de *Myrtus communis* L (Photo original).

II.2.2 Extraction des alcaloïdes totaux de *Myrtus communis* L

Une fois le broyage terminé, la poudre obtenue a été récupérée et introduite dans une cartouche en cellulose. Pour effectuer l'extraction, on a utilisé l'appareil de Soxhlet et aussi l'éthanol en tant que solvant d'extraction.



Figure 9 : Photographie Appareil de Soxhlet (photo original).

L'extraction des alcaloïdes a été effectuée selon le protocole de (Soušek *et al.*, 1999).

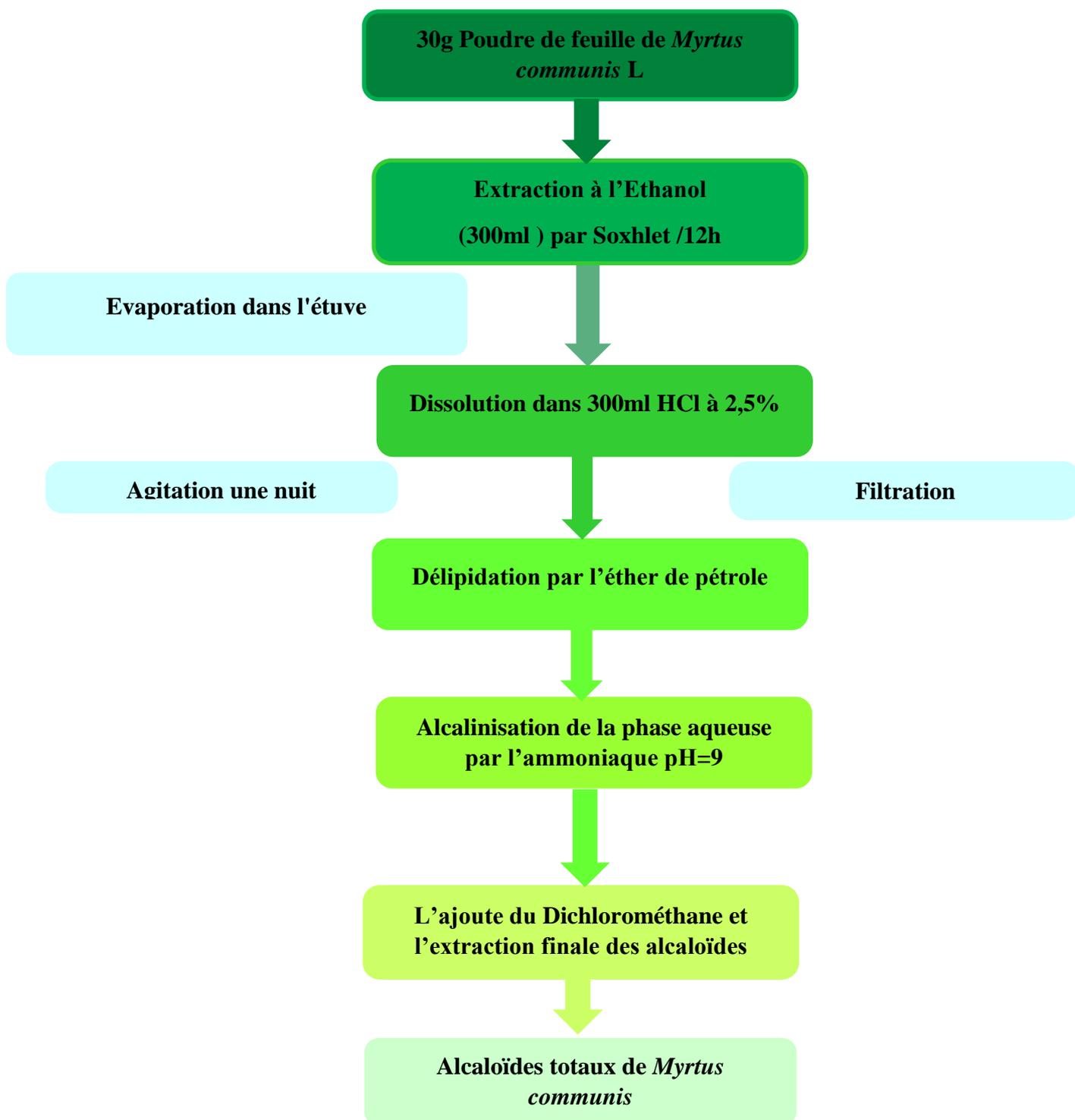


Figure 10 : Protocole d'extraction des alcaloïdes de *Myrtus communis* L (Soušek *et al.*, 1999).

On a calculé le rendement des alcaloïdes selon la formule suivante :

- P_{EX} =Poids de l'Extrait sec.
- P_{MS} =Poids de la Matière sèche.

$$R = P_{EX}/P_{MS} \times 100$$

II.2.3 Etude de l'activité anti-inflammatoire intestinale

L'objectif de la présente étude est d'évaluer l'effet anti-inflammatoire intestinal des alcaloïdes de *Myrtus communis* L sur des souris atteintes de colite induite par l'acide 2,4-Dinitrobenzène Sulfonique (DNBS) selon protocole (Martín *et al.*, 2014).

Au cours de cette étude, les souris ont été classées en 6 groupes homogènes de 7 souris en fonction de leur poids. On a administré trois doses différentes (25, 50 et 100 mg/kg) à trois lots de souris par voie orale. Par contre le reste des lots n'ont rien reçu (Figure 11).

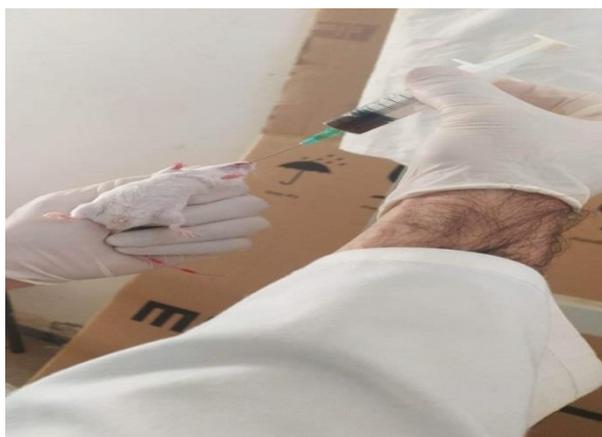


Figure 11 : Administration des alcaloïdes de *Myrtus communis* L par voie orale (photo original).

Les souris ont été privées de nourriture pendant une nuit. Ensuite, une solution de DNBS a été préparée. Un volume de 50 μ l a été administré par voie rectale après les avoir anesthésiées. Les souris ont été maintenues en position verticale, la tête vers le bas, pendant 30 secondes afin d'éviter l'expulsion de la solution de DNBS (Figure 12).



Figure 12 : Administration de DNBS par voie rectale (photo original).

Les souris traitées ont été surveillées immédiatement après l'administration et durant trois jours afin de détecter tout changement comportemental tels que la mortalité, perte de poids, selles saignantes et diarrhées. Après une six jours de traitement, les souris ont été sacrifiées par dislocation cervicale après les avoir anesthésiées. Les colons ont été récupérés et nettoyés par rinçage à l'eau physiologique. Les poids et les longueurs ont été mesurés. La partie distale du colon a été fixée dans une solution tamponnée à 10% de formaldéhyde en vue d'une étude histologique.

II.2.4 Etude histologique

La réalisation d'une coupe histologique facilite l'analyse des tissus en impliquant la création de tranches extrêmement fines d'organes ou de tissus. Pour cette étude, des coupes histologiques du côlon de souris ont été préparées et maintenues dans une solution de formol (10%). Les étapes de préparation des lames histologiques se sont déroulées comme suit (**Figure 13**):

a) Macroscopie

Dans le processus de macroscopie, les échantillons préalablement fixés dans le formol à 10% sont placés dans des histocassettes.

b) Déshydratation, éclaircissement et inclusion

La déshydratation a été effectuée à l'aide d'un automate équipé de douze bains comprenant les étapes suivantes :

1-Huit bains contenant de l'alcool à des concentrations croissantes (de 70% à 100%) pendant 45min chacun.

2-Deux bains contenant du xylène et de l'hématoxyline pendant une durée de 30min chacun.

3-Deux bains contenant de la paraffine fondue pendant une durée de 1 heure et 30min chacun.

c) Enrobage

Cette étape implique l'enrobage des prélèvements déshydratés avec de la paraffine, en utilisant une station d'enrobage réglée à une température de 70°C et des moules en inox. L'objectif final est d'obtenir un bloc rempli de paraffine.

d) Réfrigération

Les blocs de paraffine sont séparés des moules en utilisant une plaque réfrigérante à -20°C, les blocs de paraffine seront démoulés et taillés afin d'avoir des bords parallèles.

e) Microtomie

Elle comporte deux étapes :

- 1) Le dégrossissement : Pour se débarrasser de l'excès de paraffine.
- 2) Réalisation des coupes : Le microtome est ajusté pour découper les échantillons en fines tranches de 3µm, qui sont ensuite déposées sur des lames en verre numérotées. Ensuite, les rubans contenant les échantillons sont immergés dans un bain d'eau chaude, ce qui constitue l'étape d'étalement.

f) Déparaffinage

Les lames préparées ont été placées dans l'étuve à une température de 80°C pendant 24h ont le but d'éliminer la paraffine.

g) Coloration

La coloration des lames avait pour objectif de renforcer les contrastes afin d'identifier les différents éléments constitutifs du tissu. Le processus impliquait l'immersion des lames dans un bain d'hématoxyline pendant 3 min pour colorer les noyaux, suivi d'un bain d'eosine à 2% pendant 1 min pour colorer le cytoplasme.

h) Montage des lames

Une fois la coloration terminée, les lames ont été placées dans deux bains d'éthanol de concentrations croissantes, puis dans deux bains de xylène afin d'éliminer toutes les impuretés. Ensuite, les échantillons ont été fixés avec de l'eukitte et protégés avec des lamelles. Après le séchage des lames, elles ont été observées au microscope avec des grossissements de x4 et x10.



1/ La macroscopie



2/ La déshydratation



3/ L'enrobage



4/ La microtomie



5/ La coloration



6/ Le montage



7/ L'observation

Figure 13 : Différentes étapes de préparation des coupes histologiques (Photo original, prise à laboratoire d'histologie faculté médecine).

II.2.5 Etude biochimique

Après la décongélation des côlons, on est passé à l'homogénéisation des côlons à l'aide d'un homogénéisateur électrique pour obtenir au final deux phases : le culot et le surnageant, et on a récupéré le surnageant.

II.2.5.1 Monoxyde d'azote

Durant cette expérience, un surnageant de 100 µl de côlon a été préparé avec l'ajout de TCA à 10%. Après une incubation à 4 °C pendant une heure, le tube a été centrifugé à 1466g pendant 10 min. Le surnageant a été récupéré et mélangé avec neptityl, sulfamylylonide et PBS. Une incubation supplémentaire de 20 min a été réalisée, suivie d'une analyse au spectrophotomètre à une longueur d'onde 543 nm (**Sun *et al.*, 2003**).

II.2.5.2 Malondialdehyde

Un mélange de 200µl de surnageant de côlon et 200µl de TCA a été préparé puis incubé à 4 °C pendant une heure et centrifugé. Après cela, 300 µl du mélange ont été prélevés et 300 µl d'un mélange contenant du SDS (0,8%), de l'eau distillée, acide acétique (20%) et du TBA (0,8%) ont été ajoutés. La densité optique (Do) du mélange final a été mesurée à une longueur d'onde de 532 nm (**Liu *et al.*, 2013**).

II.2.5.3 Myélopéroxydase

Dans cette étude, un mélange a été préparé dans un eppendorf en combinant 100 µl avec 2,9 ml de tampon (pH 6) contenant 0,167 mg/ml d'o-dianisidine et 0,0005% de H₂O₂. Une fois le mélange préparé, la Do a été effectuée à une longueur d'onde de 460 nm pendant 3 min (**Renlund *et al.*, 1980**).

II.2.5.4 Glutathion

Dans cette étude, un mélange a été préparé en combinant 500 µl de surnageant avec 500 µl d'une solution d'acide sulfosalicylique à 4%. Ce mélange a été incubé pendant une heure à une température de 4 °C, puis centrifugé à une vitesse de 1200g pendant 15 min à 4 °C. Ensuite, 100 µl du même eppendorf contenant le mélange centrifugé ont été prélevés, on lui a ajoutés 1,7 ml de tampon (pH 7,4) et 0,2 ml de DNTB (0,4% à pH 7,4).Après l'ajout des composants, une lecture de la Do a été effectuée à une longueur d'onde de 412 ou 405 nm pendant 5 min (**Jollow *et al.*, 1974**).

II.2.6 Analyse statistique

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

III. Résultats et discussion

III.1 Résultats

Ce travail vise à étudier l'effet anti-inflammatoire des alcaloïdes des feuilles de *Myrtus communis* L sur un modèle de colite induite par le DNBS chez des souris BALB/c.

III.1.1 Taux d'extraction des alcaloïdes de *Myrtus communis*

La teneur en alcaloïde des feuilles de cette plante est 0,79%, déterminée en fonction de la matière sèche (poudre initiale). Ces alcaloïdes ont été détecté grâce à des tests photochimiques qui impliquent généralement l'utilisation de réactifs chimiques spécifiques qui réagissent avec les composés cibles pour produire des changements de couleur ou d'autres signaux détectables. Tel que le test au Dragendorff peut être utilisé pour détecter les alcaloïdes, où la formation d'un précipité orange-brun qui indique la présence de ces composés.

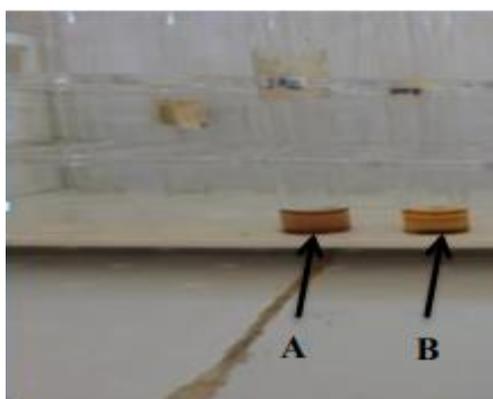


Figure 14 : Test de détection des alcaloïdes (photo original).

A : Alcaloïdes + Eau ; **B** : alcaloïdes + Dragendorff (Iodobismuthate de potassium)

III.1.2 L'activité anti-inflammatoire intestinale des alcaloïdes de *Myrtus communis* L

La présente étude est conçue pour évaluer l'effet anti-inflammatoire intestinal des alcaloïdes d'une plante du genre *Myrtus communis* L contre la colite induite par DNBS chez les souris de souche BALB/c. Les résultats obtenus ont révélé que l'administration du DNBS a provoqué des signes cliniques typiques, notamment: une diarrhée sanglante, une diminution de la consommation de l'eau et de la nourriture et une perte du poids corporel. Nous avons constaté également des dégâts macroscopiques et histologiques.

III.1.3 Résultat de la morphologie des côlons

Au niveau macroscopique, on remarque une diminution de la longueur des côlons chez les souris du groupe DNBS en comparaison avec la longueur des côlons des souris du lot témoin.

Tandis que le traitement des souris avec les différentes doses (25/50/100mg/kg) en alcaloïdes de *Myrtus communis* L a provoqué une amélioration de la longueur des côlons.

Les côlons des souris formant le lot malade sont caractérisés par une forte inflammation ou on observe une rougeur totale du côlon, contrairement aux souris de lot témoin. On remarque une diminution progressive de la rougeur et des lésions après le traitement des souris colique avec des doses (25/50/100mg/kg) en alcaloïdes de *Myrtus communis* (Figure 15 et 16).

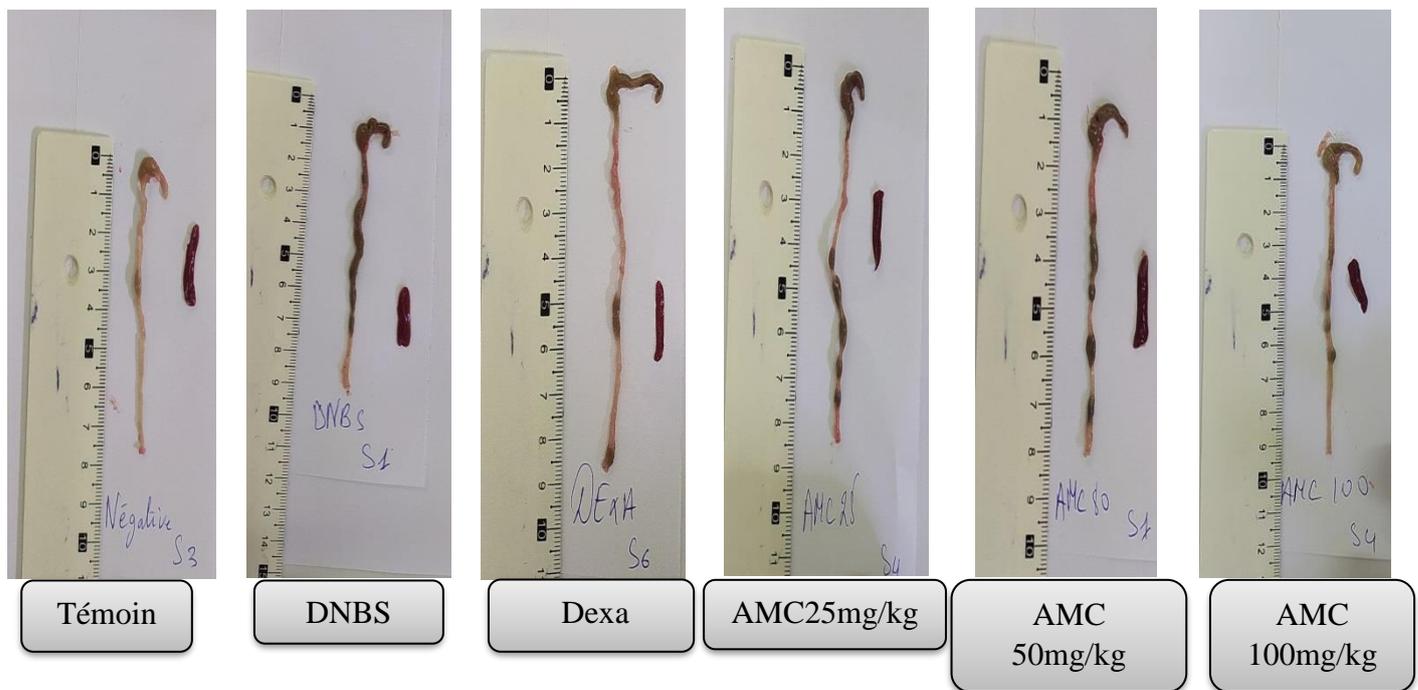


Figure 15 : Morphologie générale des côlons traités avec différentes dose d'alcaloïdes de *Myrtus communis* L après l'induction de la colite par le DNBS (photo original).

AMC : alcaloïdes de *Myrtus communis* L , Dexa :Dexaméthasone

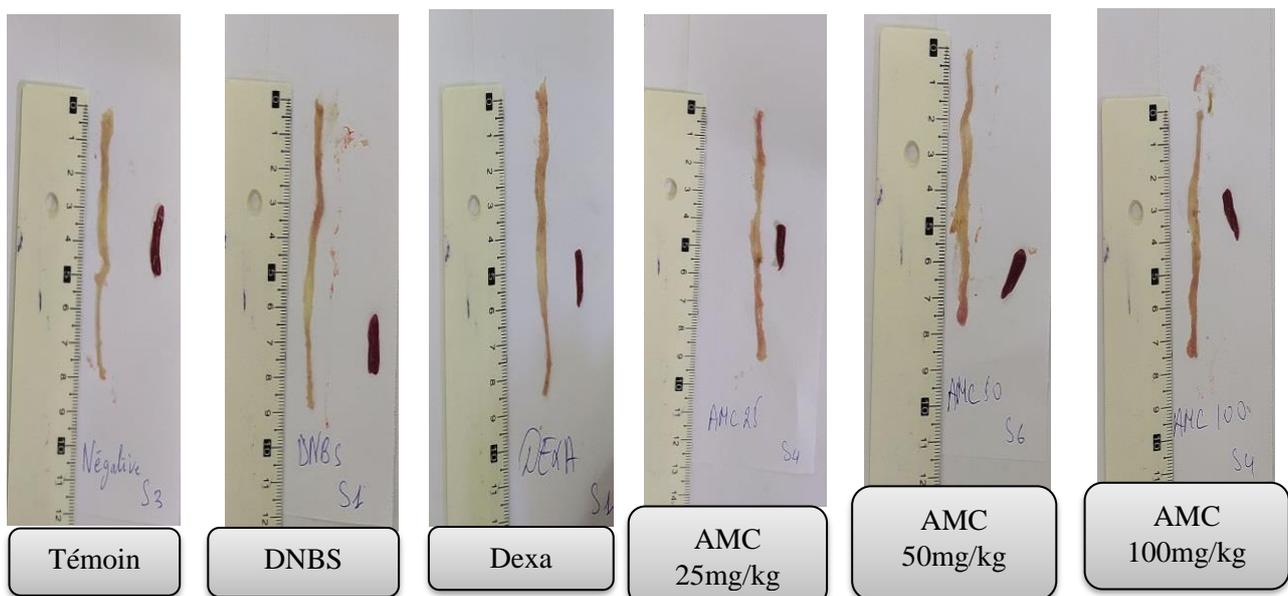


Figure 16 : Aspect macroscopique des côlons ouverts traités avec différentes dose d'alcaloïdes de *Myrtus communis* L après l'induction de la colite par le DNBS (photo original).

AMC : alcaloïdes de *Myrtus communis* L , Dexa :Dexaméthasone

III.1.4 Résultat du dosage de l'activité de monoxyde d'azote

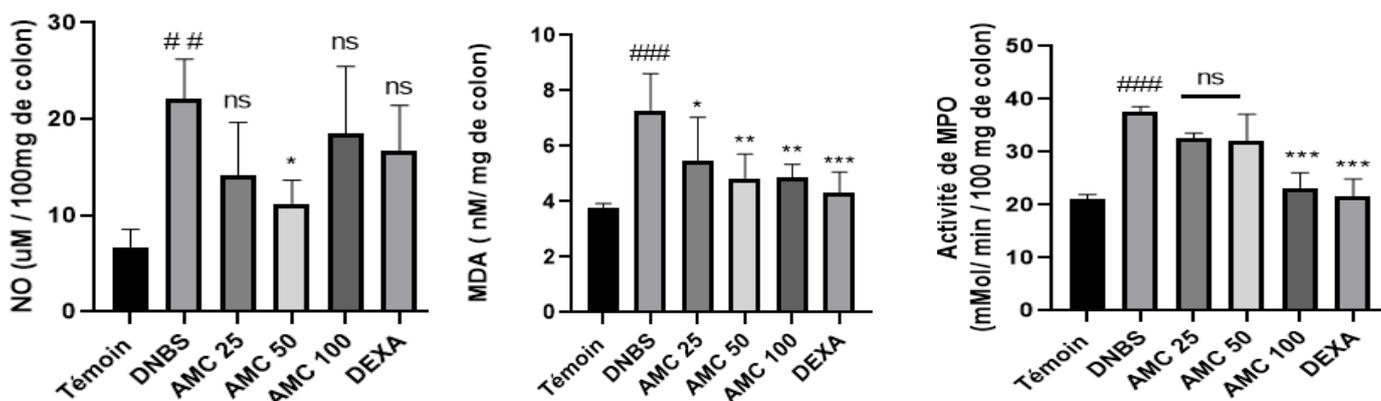
L'analyse des données a révélé une augmentation remarquable du taux monoxyde d'azote chez les souris du groupe DNBS de 15,5% à celui du témoin. Le traitement avec les trois dose des alcaloïdes de *Myrtus communis* L (25/50/100mg/kg) a montré une réduction de 7,9% et 11.9% et 3,6% respectivement, ou la dose 50kg/mg a donné un meilleur effet. Ainsi que le traitement avec le dexa a montré aussi une diminution de 5,5% (**Figure 17**).

III.1.5 Résultat du dosage de l'activité de malondialdéhyde

On constate une augmentation significative de 3,52% du taux de malondialdéhyde chez les souris traité seulement par le DNBS, en comparaison avec les souris groupe témoin. Une diminution progressive de 1,82%, 2,45% et 2,44% du taux de MDA a été observée suite à l'administration des trois doses (25/50/100mg/kg) des alcaloïdes de *Myrtus communis* L respectivement. La dose de 50 mg/kg a présenté le meilleur résultat. Le traitement avec dexa a également démontré une diminution supplémentaire de 2,98% du taux de MDA (**Figure 17**).

III.1.6 Résultat du dosage de l'activité de myélopéroxydase

Une augmentation significative de 16,6% du taux de myélopéroxydase a été observée chez les souris du groupe DNBS seulement par rapport au souris groupe témoin. Par contre, on a constaté une réduction de 4,98%, 5,54% et 14,38% pour les trois doses (25/50/100mg/kg) des alcaloïdes de *Myrtus communis* L respectivement. La dose de 100mg/kg a produit cette fois-ci un effet similaire à celui de dexa, avec une diminution de 16% du taux de MPO (**Figure 17**).

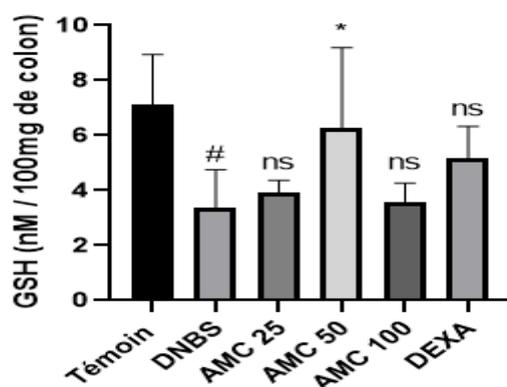


ns : non significative ; * : peu significative ; ** : très significative ; *** : haute significative

Figure 17: Effets des alcaloïdes de *Myrtus communis* L sur l'activité de monoxyde d'azote (NO) et malondialdéhyde (MDA) et myélopéroxydase (MPO) dans un modèle de colite induite par le DNBS chez les souris.

III.1.7 Résultat du dosage de l'activité de glutathion

On a observé une réduction significative de 3,78% du taux de glutathion chez les souris du groupe malade en contraste avec les souris du groupe témoin. En revanche, une augmentation de 0,57%, 2,87% et 0,23% a été constatée chez les souris groupes traités par les alcaloïdes de *Myrtus communis* L (25/50/100mg/kg) respectivement. Une fois de plus, la dose de 50mg/kg a démontré un effet excellent. Le dexa aussi a réussi à augmenter le taux de GSH de 1,8% (Figure18).



ns : non significative ; * : peu significative ;

Figure 18 : Effets des alcaloïdes de *Myrtus communis* L sur l'activité de glutathion dans un modèle de colite induite par le DNBS chez les souris.

III.1.8 Résultat de l'analyse histologique

Au niveau microscopique, l'effet anti-inflammatoire intestinal des alcaloïdes de *Myrtus communis* L a été confirmé après l'évaluation histologique des échantillons de la partie distale du côlon, car le traitement favorise la régénération des tissus de l'épithélium intestinale. Ceci a été mis en évidence par une réduction significative des scores microscopiques par rapport au groupe DNBS non traité avec les 3 doses d'alcaloïdes.

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

L'administration des alcaloïdes de *Myrtus communis* L a fait que le tissu s'est régénéré en restaurant l'architecture normale des cellules et en préservant l'intégrité de l'épithélium intestinale (Figure 19).

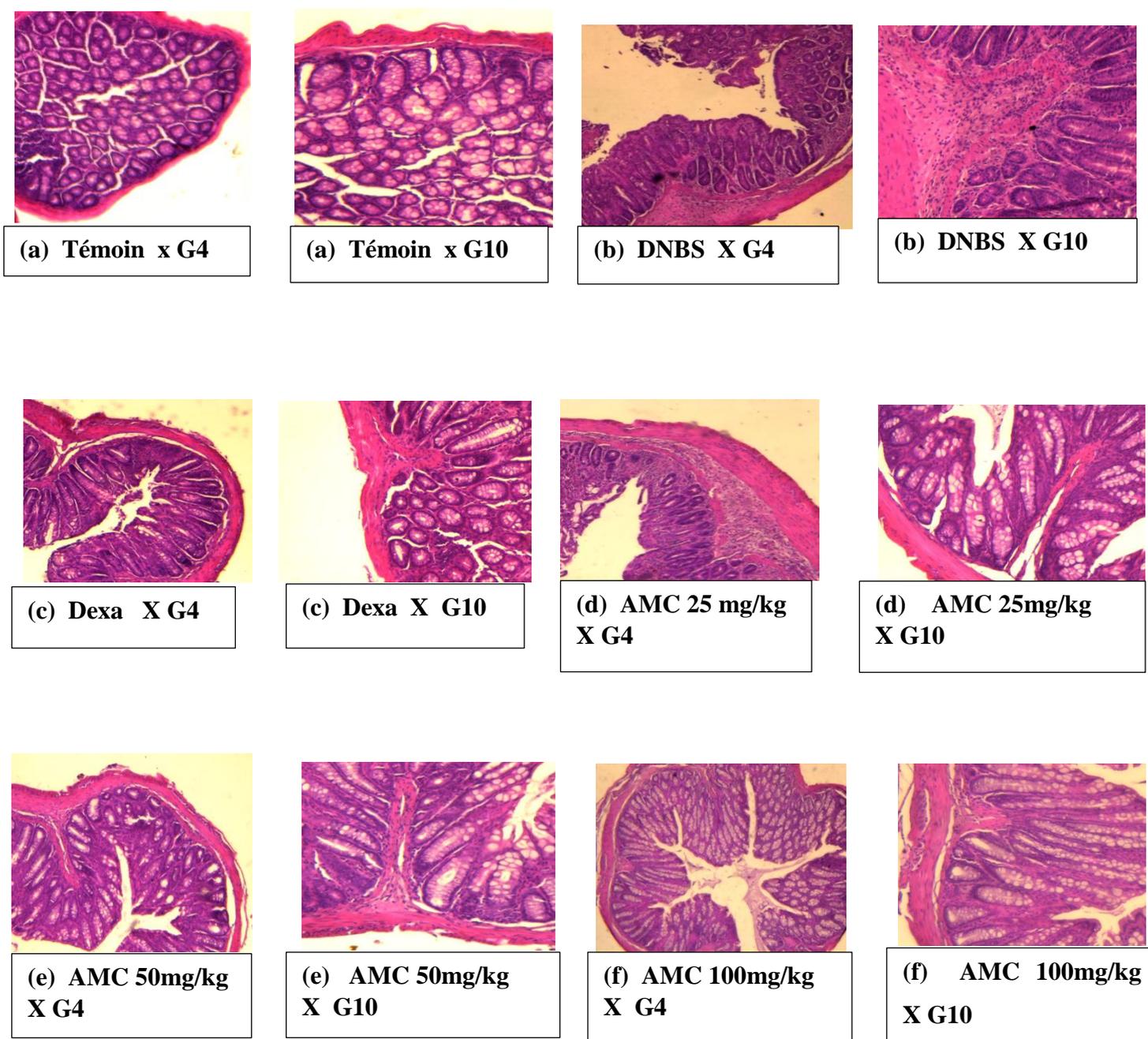


Figure 19 : Effet des alcaloïdes de *Myrtus communis* (AMC) sur l'aspect cellulaire dans un modèle de colite induite par le DNBS. Section histologique de la muqueuse colique colorée. (a) (lot témoin), (b) (lot DNBS), (c) (lot médicament), (d) (lot AMC25mg/kg), (e) (lot AMC 50mg/kg), (f)(AMC 100mg/kg) grossissement x4 et x10.

III.2 Discussion

Des résultats intéressants ont été trouvés dans cette étude. Les alcaloïdes de *Myrtus communis* L ont exercé un effet thérapeutique sur la colite expérimentale induite par le DNBS jugé par l'amélioration de l'état clinique, l'atténuation des lésions histologiques et la diminution des taux et l'activité des différents marqueurs pro-inflammatoire et pro-oxydant chez les souris traitées.

L'utilisation de substances chimiques pour induire la colite chez les souris est largement adoptée comme méthode courante pour créer un modèle expérimental de maladie intestinale inflammatoire. L'administration de DNBS provoque l'apparition de plusieurs symptômes cliniques tels que les diarrhées, les hémorragies, la perte d'appétit et du poids (**Hunter et al., 2005**). Lors de son administration par voie intrarectale chez les souris, il induit une inflammation et des dommages tissulaires importants au niveau du côlon par rapport aux colons des souris du groupe témoin (**Martelli, 2007**). Le DNBS cause aussi une nécrose des cellules épithéliales et des lésions ulcéreuses dans la muqueuse du côlon. Cette nécrose tissulaire est accompagnée d'une infiltration inflammatoire par des cellules immunitaires, notamment des neutrophiles et des lymphocytes (**Okayasu et al., 1990**).

D'après l'analyse histologique, Le traitement par les alcaloïdes de *Myrtus communis* L a fait que le tissu s'est régénéré en restaurant l'architecture normale des cellules et en préservant l'intégrité de l'épithélium intestinale, ainsi une diminution de l'infiltration lymphocytaire a été observée par rapport au lot traité par le DNBS.

La barrière intestinale est une structure complexe chimique, physique et immunologique qui assure l'intégrité et la fonctionnalité biologique de l'intestin. Elle joue un rôle crucial dans la prévention de l'invasion de micro-organismes pathogènes et de l'inflammation intestinale. Lorsqu'une inflammation intestinale se produit, la barrière intestinale peut être altérée, entraînant une augmentation de la perméabilité intestinale (**Fasano, 2012**). Cette augmentation de la perméabilité, également appelée "fuite intestinale", permet le passage de molécules indésirables et de micro-organismes à travers l'épithélium intestinal, ce qui peut déclencher une réponse inflammatoire (**Salim et al., 2011**). Les jonctions serrées entre les cellules épithéliales peuvent être affectées, ce qui entraîne une ouverture des espaces intercellulaires et une diminution de l'intégrité de la barrière (**Zeissig et al., 2014**).

Lorsque l'inflammation intestinale se produit, il y a une activation du système immunitaire qui contribue à la réponse inflammatoire. Les cellules immunitaires présentes dans la muqueuse intestinale, telles que les lymphocytes, les cellules dendritiques et les macrophages,

libèrent des cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF-alpha, l'interleukine (IL-1) et l'interleukine (IL-6), qui jouent un rôle clé dans l'amplification de la réaction l'inflammation intestinale (**Salim et al., 2011**). Cette réponse immunitaire peut causer des dommages supplémentaires au niveau de la barrière intestinale et contribuer à la progression de l'inflammation intestinale.

Pendant une réaction inflammatoire, les polynucléaires neutrophiles augmentent leur consommation d'oxygène, ce qui entraîne la production de radicaux libres oxygénés. Ces radicaux peuvent être toxiques et causer des dommages aux membranes cellulaires, favorisant ainsi la cytolysse. Parmi ces radicaux libres, on trouve le NO qui est généré par l'oxydation de l'arginine grâce à une famille d'enzymes appelées NOS. Lorsque les NOS inductibles interviennent pendant une inflammation, cela entraîne des effets inflammatoires tels que la vasodilatation et l'apparition d'un œdème ..., le NO devient donc une cible importante pour le développement de thérapies destinées à traiter les maladies inflammatoires (**Borel et al., 1998, Vliet et al., 1992**). Plusieurs résultats ont rapportés que L'inhibition de l'iNOS pourrait offrir des avantages dans le traitement des MICI (**Bogdan, 2001, Aktan et al., 2003, Kröncke et al., 1998**).

Lorsque les lipides dans les membranes cellulaires subissent une peroxydation en raison du stress oxydatif, une substance appelée MDA, est générée (**Balasubramanian et al., 1989, Uchida, 2006**). Cette réaction produit une quantité significative de MDA, ce dernier est parmi les aldéhydes les plus fréquemment associés au stress oxydatif (**Zarkovic et al., 2013**). De plus, sa structure chimique est instable, ce qui signifie qu'il a la capacité de réagir spontanément avec les protéines (**Kikugawa et al., 1987**). Lorsque les protéines sont modifiées par le MDA, cela est considéré comme un indicateur ou un médiateur de l'inflammation (**Lung et al., 1990**).

Au cours d'une inflammation intestinal, la libération de la protéine myéloperoxydase par les granules primaires des neutrophiles joue un rôle essentiel. La MPO est une protéine lysosomale qui participe activement à l'élimination des microorganismes et des cellules tumorales nécessitant de l'oxygène. Sa concentration est directement liée au nombre de neutrophiles (**SAIKI, 1998, Peterson et al., 2002**). Des études précédentes ont observé une accumulation significative de neutrophiles et une augmentation notable de la MPO dans le cas de la colite induite par le DNBS (**Qiu et al., 1999**).

Le rôle du stress oxydant dans l'initiation et le développement des MICI est significatif. Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans le processus inflammatoire en participant à

l'activation du facteur nucléaire kB, qui à son tour stimule la transcription de molécules inflammatoires (**Kruidenier et Verspaget, 2002**). Le mécanisme d'action antioxydant consiste à empêcher la création d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) en inhibant les enzymes responsables de la production de radicaux libres, en bloquant la peroxydation lipidique grâce à l'utilisation d'antioxydants qui les captent, et en activant les enzymes antioxydants (**Montoro et al., 2005**). Le glutathion (GSH) joue un rôle crucial en tant que principal agent antioxydant non enzymatique dans la muqueuse gastro-intestinal. Il agit directement comme piège à radicaux libres ou en étant utilisé comme substrat par les enzymes de détoxification associées (**Loguercio et al., 1999**).

Au finale, l'ensemble de ces résultats indiquent que les alcaloïdes de *Myrtus communis* L exercent un effet anti-inflammatoire, en régulant l'expression des marqueurs pro-inflammatoire et antioxydant et en préservant l'intégrité de l'épithélium intestinal.

Conclusion

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet anti-inflammatoire intestinal d'une plante médicinale local *Myrtus communis* L afin de découvrir de nouvelles approches thérapeutiques pour traiter les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI).

Les résultats de cette étude suggèrent que les alcaloïdes de *Myrtus communis* L pourraient être potentiellement utilisés dans la gestion et le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Les alcaloïdes de cette plante ont amélioré la morphologie des côlons a savoir l'augmentation des longueurs et diminution des poids. Cette activité anti-inflammatoire a a été confirmé par l'étude histologique et le dosage des différents marqueurs pro-inflammatoires tel que NO, MDA, MPO et GSH comme pro-oxydants. La dose de 50 mg/kg a produit un meilleur effet. L'ensemble des résultats obtenus ont démontré que les alcaloïdes de *Myrtus communis* L présentent un potentiel dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Cependant, il convient de noter que cette étude reste préliminaire et nécessite des recherches complémentaires approfondies au niveau moléculaire pour mieux comprendre les mécanismes d'action. La caractérisation des alcaloïdes par HPLC-MS et GCMS pour déterminer et identifier la ou les molécules actives.

Références bibliographiques

(A)

Abreu, M. T. (2010). Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nature Reviews Immunology*, 10(2), 131-144.

Akhtar, M., Saud, I., Sumbul, S., Ahmad, Ma., & Asif, M. (2012). Physicochemical and phytochemical standardization of berries of *Myrtus communis* Linn. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 4(4), 322. doi:10.4103/0975-7406.103266

Aktan, F., Henness, S., Roufogalis, B. D., & Ammit, A. J. (2003). Gypenosides derived from *Gynostemma pentaphyllum* suppress NO synthesis in murine macrophages by inhibiting iNOS enzymatic activity and attenuating NF- κ B-mediated iNOS protein expression. *Nitric oxide*, 8(4), 235-242.

Aleksic, V., & Knezevic, P. (2014). Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological Research*, 169(4), 240–254. doi:10.1016/j.micres.2013.10.003

Ananthakrishnan, A. N., Khalili, H., Konijeti, G. G., Higuchi, L. M., de Silva, P., Fuchs, C. S., ... & Chan, A. T. (2014). Long-term intake of dietary fat and risk of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut*, 63(5), 776-784.

Anderson, C. A., Boucher, G., Lees, C. W., Franke, A., D'Amato, M., Taylor, K. D., ... & Rioux, J. D. (2011). Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nature genetics*, 43(3), 246-252.

Angiosperm Phylogeny Group.(2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical journal of the Linnean Society*, 181(1), 1-20.

Aniszewski, T. (2007). *Alkaloids-Secrets of Life:: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role.* Elsevier.

(B)

Balasubramanian, K. A., Nalini, S., Cheeseman, K. H., & Slater, T. F. (1989). Nonesterified fatty acids inhibit iron-dependent lipid peroxidation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 1003(3), 232-237.

- Bar-Gil Shitrit, A., Grisar-Granovsky, S., Ben Ya'acov, A., & Goldin, E. (2016).** Management of inflammatory bowel disease during pregnancy. *Digestive diseases and sciences*, 61, 2194-2204.
- Baumgart, D. C., & Sandborn, W. J. (2012).** Crohn's disease. *The Lancet*, 380(9853), 1590-1605.
- Belizário, J. E., & Napolitano, M. (2015).** Human microbiomes and their roles in dysbiosis, common diseases, and novel therapeutic approaches. *Frontiers in microbiology*, 6, 1050.
- Bischoff, S. C., Barbara, G., Buurman, W., Ockhuizen, T., Schulzke, J. D., Serino, M., ... & Wells, J. M. (2014).** Intestinal permeability—a new target for disease prevention and therapy. *BMC gastroenterology*, 14, 1-25.
- Bogdan, C. (2001).** Nitric oxide and the immune response. *Nature immunology*, 2(10), 907-916.
- Borel, J. P., Monboisse, J. C., & Bellon, G. (1988).** Inflammation, collagène et radicaux libres oxygénés.
- Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales (No. 581.634 B7).

(C)

- Chidouh, A., Aouadi, S., & Heyraud, A. (2014).** Extraction, fractionation and characterization of water-soluble polysaccharide fractions from myrtle (*Myrtus communis* L.) fruit. *Food Hydrocolloids*, 35, 733-739.
- Cosnes, J. (2004).** Tobacco and IBD: relevance in the understanding of disease mechanisms and clinical practice. *Best practice & research Clinical gastroenterology*, 18(3), 481-496.
- Cushnie, T. P. T., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014).** Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(5), 377–386.

(D)

- Danese, S., & Fiocchi, C. (2011).** Ulcerative Colitis. *New England Journal of Medicine*, 365(18), 1713–1725. doi:10.1056/nejmra1102942

De Dombal, F. T. (1968). Ulcerative colitis: definition, historical background, aetiology, diagnosis, naturel history and local complications. Postgraduate medical journal, 44(515), 684.

De Sousa Falcão, H., Leite, J. A., Barbosa-Filho, J. M., de Athayde-Filho, P. F., de Oliveira Chaves, M. C., Moura, M. D., ... & Batista, L. M. (2008). Gastric and duodenal antiulcer activity of alkaloids: a review. *Molecules*, 13(12), 3198-3223.

Diaz, A. M., & Abeger, A. (1986). Study of the polyphenolic compounds present in alcoholic extracts of *Myrtus communis* L. seeds. *An Real Acad Farm*, 52, 541-546.

Diouf, M. L., Dia, D., Thioubou, A., Bassène, M. L., & Mbengue, M. (2010). Prévalence de la rectocolite hémorragique dans le centre d'endoscopie digestive de l'hôpital Aristide-Le-Dantec de Dakar. *Journal Africain d'Hépatologie-Gastroentérologie*, 4(2), 97-102.

Duerr, R. H., Taylor, K. D., Brant, S. R., Rioux, J. D., Silverberg, M. S., & Daly, M. J. & Dassopoulos, T.(2006). A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *science*, 314(5804), 1461-1463.

(F)

Fasano, A. (2012). Intestinal permeability and its regulation by zonulin: diagnostic and therapeutic implications. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 10(10), 1096-1100.

(G)

Gevers, D., Kugathasan, S., Denson, L. A., Vázquez-Baeza, Y., Van Treuren, W., Ren, B., ... & Xavier, R. J. (2014). The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell host & microbe*, 15(3), 382-392.

Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). Introduction à la phytothérapie anti-infectieuse. In *Phytothérapie anti-infectieuse*. Springer, Paris. p 3-14.

Gonzalez-Mariscal, L., Betanzos, A., Nava, P., & Jaramillo, B. E. (2003). Tight junction proteins. *Progress in biophysics and molecular biology*, 81(1), 1-44.

(H)

Henriques, A. T., Lopes, S. O., Paranhos, J. T., Gregianini, T. S., Fett-Neto, A. G., Schripsema, J., & Von Poser, G. L. (2004). N, β -D-Glucopyranosyl

vincosamide, a light regulated indole alkaloid from the shoots of *Psychotria leiocarpa*. *Phytochemistry*, 65(4), 449-454.

Heyman, M. B., Kirschner, B. S., Gold, B. D., Ferry, G., Baldassano, R., Cohen, S. A., ... & El-Serag, H. B. (2005). Children with early-onset inflammatory bowel disease (IBD): analysis of a pediatric IBD consortium registry. *The Journal of pediatrics*, 146(1), 35-40.

Hugot, J. P., Chamaillard, M., Zouali, H., Lesage, S., Cezard, J. P., Belaiche, J., ... & Modigliani, R. Laurent--Puig P, Gower--Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G. (2001). Association of NOD2 leucine--rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*, 411(6837), 599-603.

Hunter, M. M., Wang, A., Hirota, C. L., & McKay, D. M. (2005). Neutralizing anti-IL-10 antibody blocks the protective effect of tapeworm infection in a murine model of chemically induced colitis. *The Journal of Immunology*, 174(11), 7368-7375.

(J)

Jollow, D. J., Mitchell, J. R., Zampaglione, N. A., & Gillette, J. R. (1974).

Bromobenzene-induced liver necrosis. Protective role of glutathione and evidence for 3, 4- bromobenzene oxide as the hepatotoxic metabolite. *Pharmacology*, 11(3), 151-169.

Joseph, M. I., Pichon, P. N., & Raynaud, J. (1987). Flavonoid heterosides of the leaves of *Myrtus communis* L.(Myrtaceae). *Pharmazie*, 42, 142.

(K)

KANOUN, K. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L.(Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine).

Khalili, H., Huang, E. S., Ananthakrishnan, A. N., Higuchi, L., Richter, J. M., Fuchs, C. S., & Chan, A. T. (2012). Geographical variation and incidence of inflammatory bowel disease among US women. *Gut*, 61(12), 1686-1692.

Kikugawa, K., & Beppu, M. (1987). Involvement of lipid oxidation products in the formation of fluorescent and cross-linked proteins. *Chemistry and physics of lipids*, 44(2-4), 277-296.

Kökten, T., Hansmannel, F., Melhem, H., & Peyrin-Biroulet, L. (2016). Physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). *Hegel*, 6(2), 119-129.

Kröncke, K. D., Fehsel, K., & Kolb-Bachofen, V. (1998). Inducible nitric oxide synthase in human diseases. *Clinical & experimental immunology*, 113(2), 147-156.

Kruidenier, L. A., & Verspaget, H. W. (2002). oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease—radicals or ridiculous?. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 16(12), 1997-2015.

Kucharzik, T., Maaser, C., Lügering, A., Kagnoff, M., Mayer, L., Targan, S., & Domschke, W. (2006). Recent understanding of IBD pathogenesis: implications for future therapies. *Inflammatory bowel diseases*, 12(11), 1068-1083.

Kumar, S., Saini, R., Suthar, P., Kumar, V., & Sharma, R. (2022). Plant secondary metabolites: Their food and therapeutic importance. In *Plant Secondary Metabolites: Physico-Chemical Properties and Therapeutic Applications* (pp. 371-413). Singapore: Springer Nature Singapore.

(L)

Lee, S. H., Kwon, J. eun, & Cho, M.-L. (2018). Immunological pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Intestinal Research*, 16(1), 26. doi:10.5217/ir.2018.16.1.26

Liu, H. J., Xu, C. H., Zhou, Q., Wang, F., Li, W. M., Ha, Y. M., & Sun, S. Q. (2013). Analysis and identification of irradiated Spirulina powder by a three-step infrared macro-fingerprint spectroscopy. *Radiation Physics and Chemistry*, 85, 210-217.

Loguercio, C., & Di Pierro, M. (1999). The role of glutathione in the gastrointestinal tract: a review. *Italian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 31(5), 401-407.

Lung, C. C., Fleisher, J. H., Meinke, G., & Pinnas, J. L. (1990). Immunochemical properties of malondialdehyde-protein adducts. *Journal of immunological methods*, 128(1), 127-132.

(M)

Martelli, L., Ragazzi, E., Di Mario, F., Martelli, M., Castagliuolo, I., Dal Maschio, M., ... & Brun, P. (2007). A potential role for the vanilloid receptor TRPV1 in the

therapeutic effect of curcumin in dinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis in mice. *Neurogastroenterology & Motility*, 19(8), 668-674.

Martín, R., Chain, F., Miquel, S., Lu, J., Gratadoux, J. J., Sokol, H., ... & Langella, P. (2014). The commensal bacterium *Faecalibacterium prausnitzii* is protective in DNBS-induced chronic moderate and severe colitis models. *Inflammatory bowel diseases*, 20(3), 417-430.

Matsuoka, K., & Kanai, T. (2015). The gut microbiota and inflammatory bowel disease. In *Seminars in immunopathology*. Springer Berlin Heidelberg, 37, pp. 47-55 .

Mawdsley, J. E., & Rampton, D. S. (2005). Psychological stress in IBD: new insights into pathogenic and therapeutic implications. *Gut*, 54(10), 1481-1491.

McGovern, D. P., Gardet, A., Törkvist, L., Goyette, P., Essers, J., Taylor, K. D., ... & Seielstad, M. (2010). Genome-wide association identifies multiple ulcerative colitis susceptibility loci. *Nature genetics*, 42(4), 332-337.

McGuckin, M. A., Lindén, S. K., Sutton, P., & Florin, T. H. (2011). Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, 9(4), 265-278.

Mendes, M. M., Gazarini, L. C., & Rodrigues, M. L. (2001). Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments—effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. *Environmental and experimental botany*, 45(2), 165-178.

Migliore, J. (2011). Empreintes des changements environnementaux sur la phylogéographie du genre *Myrtus* en Méditerranée et au Sahara (Doctoral dissertation, Aix-Marseille 3).

Mimica-Dukić, N., Bugarin, D., Grbović, S., Mitić-Ćulafić, D., Vuković-Gačić, B., Orčić, D., ... & Couladis, M. (2010). Essential oil of *Myrtus communis* L. as a potential antioxidant and antimutagenic agents. *Molecules*, 15(4), 2759-2770.

Mimouna, S. (2013). *E. coli* adhérentes et invasives et pathogénèse de la maladie de Crohn: rôle du facteur hypoxique HIF-1 (Doctoral dissertation, Université Nice Sophia Antipolis).

Montoro, P., Braca, A., Pizza, C., & De Tommasi, N. (2005). Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food chemistry*, 92(2), 349-355.

Moreira, R., Pereira, D. M., Valentão, P., & Andrade, P. B. (2018). Pyrrolizidine alkaloids: chemistry, pharmacology, toxicology and food safety. *International journal of molecular sciences*, 19(6), 1668.

Mowat, A. M. (2003). Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nature Reviews Immunology*, 3(4), 331-341.

Mowat, A. M., & Agace, W. W. (2014). Regional specialization within the intestinal immune system. *Nature Reviews Immunology*, 14(10), 667-685.

Muster, D. (2005). Médicaments de l'inflammation. *EMC - Stomatologie*, 1(1), 21–29. doi:10.1016/j.emcsto.2005.01.005

(N)

Ndiaye, M., Sy, G., Dièye, A., Touré, M., & Faye, B. (2006). Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'annona reticulata (annonaceae) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carragénine. *Pharm. Méd. Trad. Afr*, 15, 179-186.

Neurath, M. F. (2014). Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nature Reviews Immunology*, 14(5), 329-342.

Neurath, M. F. (2019). Targeting immune cell circuits and trafficking in inflammatory bowel disease. *Nature immunology*, 20(8), 970-979.

(O)

Okayasu, I., Hatakeyama, S., Yamada, M., Ohkusa, T., Inagaki, Y., & Nakaya, R. (1990). A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. *Gastroenterology*, 98(3), 694-702.

(P)

Pacheco de Oliveira, M. T., de Oliveira Ramalho, T. R., Paiva Ferreira, L. K. L., Araujo Lima, A. L., Barbosa Cordeiro, M., Ferreira Costa, H., ... & Piuvezam, M. R. (2015). Synthesis, toxicity study and anti-inflammatory effect of MHTP, a new tetrahydroisoquinoline alkaloid. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 37(4), 400-412.

Peterson, C. G., Eklund, E., Taha, Y., Raab, Y., & Carlson, M. (2002). A new method for the quantification of neutrophil and eosinophil cationic proteins in feces: establishment of normal levels and clinical application in patients with inflammatory bowel disease. *The American journal of gastroenterology*, 97(7), 1755-1762.

Podolsky, D. K. (2002). Inflammatory Bowel Disease. *New England Journal of Medicine*, 347(6), 417–429. doi:10.1056/nejmra020831

(Q)

Qiu, B. S., Vallance, B. A., Blennerhassett, P. A., & Collins, S. M. (1999). The role of CD4+ lymphocytes in the susceptibility of mice to stress-induced reactivation of experimental colitis. *Nature medicine*, 5(10), 1178-1182.

(R)

Renlund, D. G., Macfarlane, J. L., Christensen, R. D., Lynch, R. E., & Rothstein, G. (1980, January). QUANTITATIVE AND SENSITIVE METHOD FOR THE MEASUREMENT OF MYELOPEROXIDASE (MPO). In *Clinical Research* (Vol. 28, No. 1, pp. A75-A75). 6900 GROVE RD, THOROFARE, NJ 08086: SLACK INC.

Rioux, J. D., Xavier, R. J., Taylor, K. D., Silverberg, M. S., Goyette, P., Huett, A., ... & Brant, S. R. (2007). Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for Crohn disease and implicates autophagy in disease pathogenesis. *Nature genetics*, 39(5), 596-604.

Romani, A., Pinelli, P., Mulinacci, N., Vincieri, F. F., & Tattini, M. (1999). Identification and quantitation of polyphenols in leaves of *Myrtus communis* L. *Chromatographia*, 49, 17-20.

(S)

Sabiha, S., Ahmad, M. A., Asif, M., & Mohd, A. (2011). *Myrtus communis* Linn.-a review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2(4), 395-402.

SAIKI, T. (1998). Myeloperoxidase concentrations in the stool as a new parameter of inflammatory bowel disease. *The Kurume medical journal*, 45(1), 69-73.

Salim, S. A. Y., & Söderholm, J. D. (2011). Importance of disrupted intestinal barrier in inflammatory bowel diseases. *Inflammatory bowel diseases*, 17(1), 362-381.

Salzman, N. H., Hung, K., Haribhai, D., Chu, H., Karlsson-Sjöberg, J., Amir, E., ... & Bos, N. A. (2010). Enteric defensins are essential regulators of intestinal microbial ecology. *Nature immunology*, 11(1), 76-82.

Sánchez de Medina, F., Romero-Calvo, I., Mascaraque, C., & Martínez-Augustín, O. (2014). Intestinal inflammation and mucosal barrier function. *Inflammatory bowel diseases*, 20(12), 2394-2404.

Sartor, R. B. (2008). Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*, 134(2), 577-594.

Scaldeferri, F., Gerardi, V., Lopetuso, L. R., Del Zompo, F., Mangiola, F., Boškoski, I., ... & Gasbarrini, A. (2013). Gut microbial flora, prebiotics, and probiotics in IBD: their current usage and utility. *BioMed research international*, 2013.

Snow, N., McFadden, J., Evans Evans, T. M., Salywon Salywon, A. M., Wojciechowski, M. F., & Wilson, P. G. (2011). Morphological and molecular evidence of polyphyly in *Rhodomyrtus* (Myrtaceae: Myrteae). *Systematic Botany*, 36(2), 390-404.

Soušek, J., Guedon, D., Adam, T., Bochořáková, H., Táborská, E., Valka, I., & Šimánek, V. (1999). Alkaloids and organic acids content of eight *Fumaria* species. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 10(1), 6-11.

Staniek, A., Bouwmeester, H., Fraser, P. D., Kayser, O., Martens, S., Tissier, A., ... & Warzecha, H. (2013). Natural products—modifying metabolite pathways in plants. *Biotechnology Journal*, 8(10), 1159-1171.

Stokkers, P. C. F., & Hommes, D. W. (2004). New cytokine therapeutics for inflammatory bowel disease. *Cytokine*, 28(4-5), 167-173.

Strober, W., Fuss, I., & Mannon, P. (2007). The fundamental basis of inflammatory bowel disease. *The Journal of clinical investigation*, 117(3), 514-521.

Sun, J., Zhang, X., Broderick, M., & Fein, H. (2003). Measurement of nitric oxide production in biological systems by using Griess reaction assay. *Sensors*, 3(8), 276-284.

Szigethy, E., McLafferty, L., & Goyal, A. (2011). Inflammatory Bowel Disease. *Pediatric Clinics of North America*, 58(4), 903–920. doi:10.1016/j.pcl.2011.06.007

(T)

Taha, H. S., El Bahr, M. K., & SEIF, E. N. M. (2009). In vitro studies on Egyptian *Catharanthus roseus* (L.). ii. Effect of biotic and abiotic stress on Indole Alkaloids production.

Torres, J., Mehandru, S., Colombel, J. F., & Peyrin-Biroulet, L. (2017). Crohn's disease. *The Lancet*, 389(10080), 1741-1755.

(U)

Uchida, K. (2006). Lipofuscin-like fluorophores originated from malondialdehyde. *Free radical research*, 40(12), 1335-1338.

(V)

Van Der Vliet, A., & Bast, A. (1992). Role of reactive oxygen species in intestinal diseases. *Free Radical Biology and Medicine*, 12(6), 499-513.

(W)

Wang, C. C., Chang, S. C., Inbaraj, B. S., & Chen, B. H. (2010). Isolation of carotenoids, flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum* L. and evaluation of antioxidant activity. *Food chemistry*, 120(1), 184-192.

Wannes, W. A., Mhamdi, B., Sriti, J., Jemia, M. B., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., ... & Marzouk, B. (2010). Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. *Food and chemical toxicology*, 48(5), 1362-1370.

Wichtel, M., & Anton, R. (1999). *Plantes thérapeutiques: tradition, pratiques officinales, science et thérapeutiques.* Tec et Doc.

(X)

Xavier, R. J., & Podolsky, D. K. (2007). Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*, 448(7152), 427-434.

(Y)

Yang, C. W., Chen, W. L., Wu, P. L., Tseng, H. Y., & Lee, S. J. (2006). Anti-inflammatory mechanisms of phenanthroindolizidine alkaloids. *Molecular pharmacology*, 69(3), 749-758.

(Z)

Zarkovic, N., Cipak, A., Jaganjac, M., Borovic, S., & Zarkovic, K. (2013). Pathophysiological relevance of aldehydic protein modifications. *Journal of proteomics*, 92, 239-247.

Zeissig, S., & Blumberg, R. S. (2014). Life at the beginning: perturbation of the microbiota by antibiotics in early life and its role in health and disease. *Nature immunology*, 15(4), 307-310

Zhang, Y.-Z. (2014). Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. *World Journal of Gastroenterology*, 20(1), 91. doi:10.3748/wjg.v20.i1.91

Ziegler, J., & Facchini, P. J. (2008). Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 735-769.

Annexe

❖ **Liste des produits**

- ✓ Acide hydrochlorique HCl à 37%
- ✓ Acide thiobarbiturique (TBA 0,8 %)
- ✓ Acide trichloroacétique (TCA 35%)
- ✓ Ammoniaque
- ✓ Chloroforme (CHCl₃)
- ✓ Dichloromethane
- ✓ Diéthyle éther
- ✓ DNBS (250mg/kg).
- ✓ Dragendorff
- ✓ Eau distillée.
- ✓ Eosine.
- ✓ Ethanol (C₂H₆O) à 96%.
- ✓ Ether de pétrole
- ✓ Eukitt
- ✓ Formol.
- ✓ Hématoxyline
- ✓ Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) 0,2%
- ✓ Paraffine
- ✓ Tampon phosphate salin (PBS)
- ✓ Xylène

❖ **Equipements de préparation**

- ✓ Ampoule à décanté
- ✓ Appareille d'enrobage
- ✓ Automate de déshydratation
- ✓ Balance.
- ✓ Barreaux magnétiques.
- ✓ Béchers et éprouvettes.
- ✓ Boites de pétries
- ✓ Cages
- ✓ Ciseaux et pinces.

- ✓ Cristalliseur
- ✓ Entonnoirs
- ✓ Histocassettes
- ✓ Hotte.
- ✓ L'étuve
- ✓ Lames et lamelles
- ✓ Micropipette et épendorfs
- ✓ Microscope
- ✓ Microtome
- ✓ Plaque agitatrice
- ✓ Plaque chauffante
- ✓ Réfrigérant
- ✓ Règles
- ✓ Seringue
- ✓ Sonde
- ✓ Soxhlet
- ✓ Spatules

Résumé

Myrtus communis L, utilisée en médecine traditionnelle comme remèdes contre de nombreuses maladies courantes. Dans cette étude nous avons procédé à l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire intestinale *in vivo* de trois doses (mg/kg) d'alcaloïdes de *Myrtus communis* L (AMC) sur un modèle de colite induite par le DNBS chez des souris BALB/c. Après avoir dosé différents paramètres biochimiques tels que le NO, MDA, le MPO et le GSH, ainsi que les scores histopathologiques. L'évaluation de ces paramètres a révélé que l'AMC avait amélioré la longueur des côlons. L'étude histologique a montré une régénération de la structure de l'épithélium intestinal. L'ensemble des résultats obtenus ont été confirmé par l'étude biochimique qui avait démontré une diminution significative du NO, MDA, MPO et une augmentation du GSH pour les trois doses (25/50/100 mg/kg), avec un effet plus prononcé observé à la dose (50 mg/kg).

Mots clés : MICI, *Myrtus communis* L, anti-inflammatoire, DNBS, côlons.

Abstract

Myrtus communis L, used in traditional medicine as remedies for numerous common diseases. In this study, we evaluated the *in vivo* intestinal anti-inflammatory activity of three doses (mg/kg) of *Myrtus communis* L alkaloids (AMC) on a DNBS-induced colitis model in BALB/c mice. Various biochemical parameters such as NO, MDA, MPO, GSH, and histopathology scores were measured. The evaluation of these parameters revealed that AMC improved colon length. Histological examination showed regeneration of the intestinal epithelium structure. All the obtained results were confirmed by the biochemical study, which demonstrated a significant decrease in NO, MDA, MPO, and an increase in GSH for all three doses (25/50/100 mg/kg), with a more pronounced effect observed at the dose of 50 mg/kg.

Keywords: IBD, *Myrtus communis* L, anti-inflammatory, DNBS, colons.

المخلص

Myrtus communis L، المستخدم في الطب التقليدي كعلاج للعديد من الأمراض الشائعة. في هذه الدراسة، قمنا بتقييم النشاط المعوي المضاد للالتهابات في الجسم الحي لثلاث جرعات (ملغم/كجم) من قلويدات *Myrtus communis* L (AMC) على نموذج التهاب القولون الناجم عن DNBS في الفئران BALB/c. بعد تناول جرعات مختلفة من المعلمات الكيميائية الحيوية مثل NO و MDA و MPO و GSH، بالإضافة إلى درجات علم أمراض الأنسجة. كشف تقييم هذه البارامترات أن CMA قد حسنت طول المخروط. أظهرت الدراسة النسيجية تجديد بنية الظهارة المعوية. تم تأكيد جميع النتائج التي تم الحصول عليها من خلال الدراسة الكيميائية الحيوية التي أظهرت انخفاضاً كبيراً في NO و MDA و MPO وزيادة في GSH لجميع الجرعات الثلاث (25/50/100 ملغم/كجم)، مع ملاحظة تأثير أكثر وضوحاً عند الجرعة 50 (ملغم/كجم).

كلمات المفتاحية: مرض الالتهاب المعوي المزمن، *Myrtus communis* L، DNBS، مضاد الالتهاب، القولون