

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 : Biologie
Option : Biochimie et biologie moléculaire



Réf :.....

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

MASTER

Thème

Evaluation de la toxicité et de l'activité anti-inflammatoire d'une plante médicinale locale

Présenté par :

SADI Saida
YAHIAOUI Souhila

Soutenu le: 21Juin 2017

Devant le jury composé de :

| | | |
|---------------------------------|------------|---------------------|
| M^{me} OUAHMED H | MCB | Présidente |
| Mr BRIBI N | MCB | Encadreur |
| M^{lle} AYOUNI K | MAA | Examinatrice |

Année universitaire : 2016 / 2017

Remerciements

*Nous remercions tout d'abord **ALLAH** tout puissant de nous avoir donné la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce mémoire.*

*Nous tenons particulièrement à remercier notre promoteur, **Mr BRIBI N.** pour avoir accepté la charge d'être rapporteur de ce mémoire, nous le remercions pour sa disponibilité, ses pertinents conseils et pour les efforts qu'il avait consentis durant la réalisation de ce mémoire.*

*Nous remercions les membres du jury **M^{me} OUAHMED H.** et **M^{lle} AYOUNI K.** d'avoir accepté de juger notre modeste travail.*

Merci pour tous ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre dans notre travail, nous vous remercions du fond du cœur.

Nos parents, merci d'être là, tout simplement, merci de nous avoir toujours encouragées, recadrées, rassurées et merci pour tous les bons moments passés avec vous.

Notre famille qui a suivi avec attention notre parcours au fur et à mesure de notre scolarité.

Nous espérons qu'ils seront fiers de nous.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

À ma très chère mère, mon cher père, qui ont su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances au cours de toutes mes années d'études, c'est avec émotion que je leurs exprime tout mon amour, mon affection, mon admiration et mon profond respect. Je leur souhaite une longue belle vie.

À mes frères Fatah ; Mohamed ; Boualem ; Zahir ; Hamanou et Hakim, que je trouve toujours à mes côtés.

À mes belles sœurs.

À ma nièce Houda.

À mes neveux Riad et Faycal.

À toute ma famille.

À ma binôme, copine et sœur Souhila.

À tous mes amies avec qui j'ai vécu les bons et pires moments de ma vie.



Saida

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mes chers parents

Ma sœur Saida; mes frères Mourad, Idris,

Abledghani, Abdelhak, lounis et Lamine

Mes belles sœurs Sarah, Wassila et Houda

Mes chères nièces Haylana et Razane

Toute ma famille

Mes amies avec qui j'ai vécu les bons et pires moments

de ma vie

Ma copine avant qu'elle soit binôme Saida

Ceux qui m'ont aidée de prêt ou de loin du mieux

qu'ils pouvaient

Tous ceux qui ont une place dans mon cœur



Souhila

Liste des abréviations

AA : Acide Acétique

AF : Alcaloïdes de *Fumaria*

CARD-15: Caspase Recruitment Domain-containing protein 15

CAT: Chloramphenicol Acetyl Transferase.

CD: Cellule Dendritique

COX : Cyclo-Oxygénase.

DL50: Dose Létale 50

GI: Gastro Intestinal

HCL: Acide Chlorhydrique

IκB : inibitor kappa B

IL: Interleukine

LT: Lymphocyte T

MC : Maladie de Crohn

MDP: Malondialdéhyde

MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'intestin

NF-κB: Nuclear Factor-Kappa B

NK: Natural Killer

NO: Oxyde Nitrique

NOD2: Nucleotide-binding Oligomerization Domain 2

PPAR-γ: Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma.

PRR: Patterns Recognition Receptor

RCH: Recto-Colite Hémorragique

ROS: Reactive Oxygene Species

SOD: Super Oxyde Dismutases.

TD: Tractus Digestif

TGF: Transforming Growth Factor

TLR: Toll Like Receptor

TNF: Timor Necrosis Factor

TRAF6: Receptor Associated Factor

Trég: T Régulateur

Listes des figures

| | |
|---|----|
| Figure N°1: Les facteurs induisant les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. | 5 |
| Figure N°2: Composantes des réponses inflammatoires. | 6 |
| Figure N°3: Fonction de CARD15 et la barrière épithéliale intestinale. | 7 |
| Figure N°4: Représentation schématique d'une paroi intestinale. | 9 |
| Figure N°5: Représentation du Gène et protéine CARD15 localisé sur le chromosome 6q12 et les trois mutations qui ont été identifiées dans les MICI. | 11 |
| Figure N°6: Schéma représentant la cascade d'activation NF- κ B via l'activation du TLR-4. | 12 |
| Figure N°7: Photographie de <i>Fumaria</i> | 14 |
| Figure N°8: Photographie de souris albinos de souche NMRI. | 15 |
| Figure N°9: Montage d'extraction (Soxlet). | 16 |
| Figure N°10: Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux des parties aériennes de <i>Fumaria</i> | 17 |
| Figure N°11: Présentation des lots et la méthode du gavage. | 18 |
| Figure N°12: Induction des colites chez les souris par l'acide acétique à 5% par voie rectale. | 19 |
| Figure N°13 : Photographie du dépôt de l'échantillon dans des histo cassette et de l'automate à déshydratation. | 20 |
| Figure N°14 : Photographies de la station à enrobage et de la plaque refroidissante. | 21 |
| Figure N°15: Photographies du microtome et de la plaque chauffante. | 22 |
| Figure N°16: Photographies du protocole de coloration et du montage. | 22 |
| Figure N°17: Evolution du poids corporel des lots de souris traité avec la fraction éthanolique. | 24 |
| Figure N°18: Evolution du poids corporel des souris traitées avec la fraction ammoniacale. | 25 |
| Figure N°19: Photographie des colons récupérés des témoins colique et non colique. | 27 |

| | |
|---|----|
| Figure N°20: Evolution du poids corporel des souris traitées par l'acide acétique, les alcaloïdes et le dexaméthasone | 27 |
| Figure N°21: Effet anti-inflammatoire des alcaloïdes totaux de <i>Fumaria</i> (50 et 100mg/kg) sur la variation du rapport P/L dans le modèle de colite induite par l'acide acétique (5%). | 28 |
| Figure N°22: Photographies des colons récupérés des quatre lots au laboratoire pédagogique de l'université A-mira Faculté SNV..... | 29 |
| Figure N°23: Les observations histologiques dérivées de l'évaluation histopathologique des côlons récupérés des différents lots traités. | 30 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I: Quelques types d'alcaloïdes et leur précurseur acide aminé..... | 4 |
| Tableau II: Taux de létalité des différentes doses administrées de l'extrait éthanolique. | 24 |
| Tableau III: Taux de létalité des différentes doses administrées de l'extrait ammoniacque. | 25 |
| Tableau IV: Moyenne du poids et longueur des colons des souris. | 28 |

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction **Erreur ! Signet non défini.**

Synthèses bibliographiques

I- Généralité sur les fumeterres 2

I-1 Composition chimique et utilisation thérapeutique des fumeterres 2

I-2 Alcaloïdes 2

I-3 Classification des alcaloïdes 3

I-4 Alcaloïdes isoquinoléiques 4

II Maladies inflammatoire intestinale 5

II-1 Inflammation 6

II-2 Maladie du Crohn 7

II-3 Rectocolite hémorragique 8

II-4 Prédispositions génétique des Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin 10

II-5 Dérégulation de la réponse immunitaire 11

Matériel et méthodes

I Matériel et méthodes 14

I-I Matériel 14

I-I-1 Matériel végétal 14

I-I-1-1 Classification botanique des fumeterres 14

I-2 Matériel animal 14

II-3 Appareillages et réactifs 15

II-4 Méthode 15

| | |
|---|-------------------------------------|
| II-1 Séchage et broyage | 15 |
| II.2.Extraction des alcaloïdes | 15 |
| II.3. Evaluation de toxicité aigüe de l'extrait ethanologique et la fraction ammoniacque de fumaria | 18 |
| II.4.Etude de l'activité anti-inflammatoire intestinale des alcaloïdes de Fumaria | 18 |
| III Etude histologique | 20 |
| III-1 Etape de déshydratation..... | Erreur ! Signet non défini.0 |
| III-2 Etape d'enrobage | 21 |
| III-3 Etape de coupe par microtome | Erreur ! Signet non défini.1 |
| III-4 Etapes de coloration et montage..... | 22 |

Résultats et discussion

| | |
|--|-------------------------------------|
| I-1 Collecte et séchage | Erreur ! Signet non défini.3 |
| I-2 Taux d'extraction des alcaloïdes totaux | Erreur ! Signet non défini.3 |
| I-3 Etude de la toxicité aigüe de l'extrait ethanologique et l'ammoniacque ... | Erreur ! Signet non défini.3 |
| I-4 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des alcaloïdes de Fumaria | Erreur ! Signet non défini.6 |
| I-5 Etude histologique..... | 30 |
| Conclusion | 35 |

référence bibliographique

annexes

Introduction

L'Homme depuis son existence sur terre a toujours essayé de trouver de quoi se nourrir et se soigner et faire face aux difficultés de la vie, pour cela il a utilisé tout ce qui était à sa disponibilité dans le but d'améliorer son mode de vie et pour lui les plantes étaient la première source des remèdes traditionnels. Aujourd'hui, les plantes médicinales sont la cible de plusieurs travaux pour évaluer leur effet néfaste et/ou protecteur ou thérapeutique avec précision de la posologie.

Les propriétés médicinales de *Fumaria* sont connues depuis l'antiquité, et elle a apparue dans plusieurs écrits qui notaient son effet et son activité sur différents métabolismes de l'organisme grâce à sa richesse aux métabolites secondaires tel que les alcaloïdes isoquinoleïques qui sont parmi les groupes les plus importants en raison de leurs propriétés biologiques telle que l'activité anti inflammatoire dans plusieurs cas de maladies inflammatoires comme il est déjà noté dans le cas des maladies inflammatoires intestinales (MICI) qui sont des pathologies chroniques. Plusieurs médicaments sont utilisés dans le traitement des MICI mais c'est juste dans le but de soulager le patient qui a souvent un effet secondaire néfaste. Pour cela nous avons choisis les alcaloïdes comme alternative thérapeutique.

La présente étude consiste à évaluer la toxicité aiguë de deux types de fractions dérivés d'une plante médicinale locale du genre *Fumaria*, dans le but de donner les bases scientifiques de l'utilisation de ces deux fractions en médecine traditionnelle, et évaluer l'activité anti-inflammatoire intestinale de cette plante sur une colite expérimentalement induite par l'acide acétique sur un modèle animal.

*Synthèse
bibliographique*

I- Généralité sur les fumeterres

L'Homme a toujours essayé d'évoluer, il a utilisé depuis son existence des plantes afin de se nourrir et se soigner au cours du temps il a su reconnaître les plantes comestibles et les plantes toxiques. De cet effet, l'Homme a opté pour les utiliser pour prévenir ou soigner diverses maladies. La fumeterre est une plante dicotylédone de la famille des Fumariacées qui englobe 40 espèces (*Fumaria bastardi*, *Fumaria capreolata*, *Fumaria officinalis* ...etc) fleurit depuis le mois d'avril jusqu'au milieu de l'été et pousse dans les champs, les terrains vagues, les décombres et sur les bords des chemins. Le nom de *Fumeterre* signifie fumée de terre qui vient du suc de la plante qui fait pleurer les yeux, comme la fumée. Ce nom est attesté du XIII^{ème} siècle sous la forme *fumus terrae* (Leclercq, 2002 ; Benabdesselam *et al.* 2007).

Les fumeterres sont des plantes herbacées annuelles à tiges rameuses, grises à vertes bleutées, elles sont un peu amères et légèrement salées. Les feuilles sont de couleur gris-vert alternées en rosettes ou caulinaires, parfois sub-opposées, généralement profondément divisées, les fleurs sont petites roses blanches zygomorphes. Ces plantes sont réparties dans l'ensemble des régions tempérées de l'hémisphère nord, vingt-deux espèces du genre *Fumaria* sont spécifiques à la région Ibero-Mauritanienne qui inclus l'Algérie, le Maroc et l'Espagne (Goetz *et al.* 2009).

Les propriétés médicinales de ces plantes sont connues depuis l'antiquité, en effet, la fumeterre apparaît dans les écrits de Dioscoride et Galien (I^{er} et II^{ème} siècle) qui notaient déjà son activité sur la sécrétion biliaire, les fonctions hépatiques, et le tube digestif (Coste, 1937).

I-1 Composition chimique et utilisation thérapeutique des fumeterres

Les fumeterres contiennent les sels minéraux (sel potassique), elles renferment des hétérosides, des composés phénoliques tel que l'acide caféique, et contiennent aussi des flavonoïdes qui ont une action spasmolytique et régulatrice du flux biliaire, et surtout ils sont riches en alcaloïdes qui sont à l'origine des propriétés antihistaminique, anti sérotonine et anti-inflammatoire (Iwasa *et al.* 1999).

I-2 Alcaloïdes

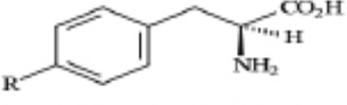
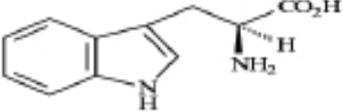
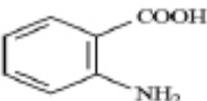
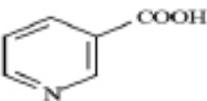
Les alcaloïdes sont une des classes des métabolites secondaires les plus importants des plantes médicinales, représentent un ensemble de molécules d'origine naturelle, renfermant

du carbone, de l'hydrogène et, plus spécialement, de l'azote. Une fois isolés, les alcaloïdes se présente le plus souvent sous l'aspect de cristaux, insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques, ils sont très employés en médecine traditionnelle pour combattre un certain nombre d'infections contre lesquelles ils réagissent en général à des doses très faibles (Krief, 2003 ; Munis, 2006).

I-3 Classification des alcaloïdes

En raison de la variété de leurs structures moléculaires, les alcaloïdes ne se constituent pas d'une catégorie définie de composés chimiques. Les alcaloïdes sont classés par certains scientifiques selon leurs propriétés pharmacologiques ou encore selon leurs distributions botaniques. D'autres classifications fondées sur la structure du cycle fondamental de la molécule sont également possibles. En prenant en considération la structure et l'origine biosynthétique du composé, ça nous permettra de classer ces deux composés d'une autre manière (tableau I) (Shakil, 1998).

Tableau I : Quelques types d'alcaloïdes et leur précurseur acide aminé (Muniz, 2006).

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

I-4 Alcaloïdes isoquinoléiques

Les alcaloïdes comportent un groupe très important appelé alcaloïdes isoquinoléique. Ces derniers sont issus de métabolisme des acides aminés aromatiques notamment la phénylalanine et la tyrosine. Ils sont caractérisés par un noyau isoquinoléique qui est considéré comme élément structural de base. Cette classe regroupe de multiples molécules à activité pharmacologique très importante rencontrée dans plusieurs familles des plantes. Ils sont utilisés dans des intérêts médicaux tel « la berbérine » qui est utilisée dans le traitement gastro-intestinal en cas de diarrhée (Bruneton, 1987).

II- Maladies inflammatoires intestinales

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) décrites dans la première partie du XX^{ème} siècle, sont devenues ces 40 dernières années un problème de santé publique dans le monde occidental où le risque cumulé durant la vie d'avoir une MICI est de 0,5 à 1%. Les MICI représentent un groupe de maladies idiopathiques caractérisées par des lésions inflammatoires chroniques, dont les causes ne sont pas connues mais elles sont probablement multifactorielles faisant intervenir des facteurs environnementaux (mode de vie, germe intestinaux, virus), génétiques et immunologiques (figure 1). La MICI est un terme qui fait notamment référence à deux maladies de l'intestin : la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH). Ces maladies partagent quelques caractéristiques, mais diffèrent de manière considérable dans deux aspects : le segment du tube digestif touché et l'étendue de l'inflammation (Hugot, 2006 ; Nancy *et al*, 2008; Cortot *et al.*, 2009).

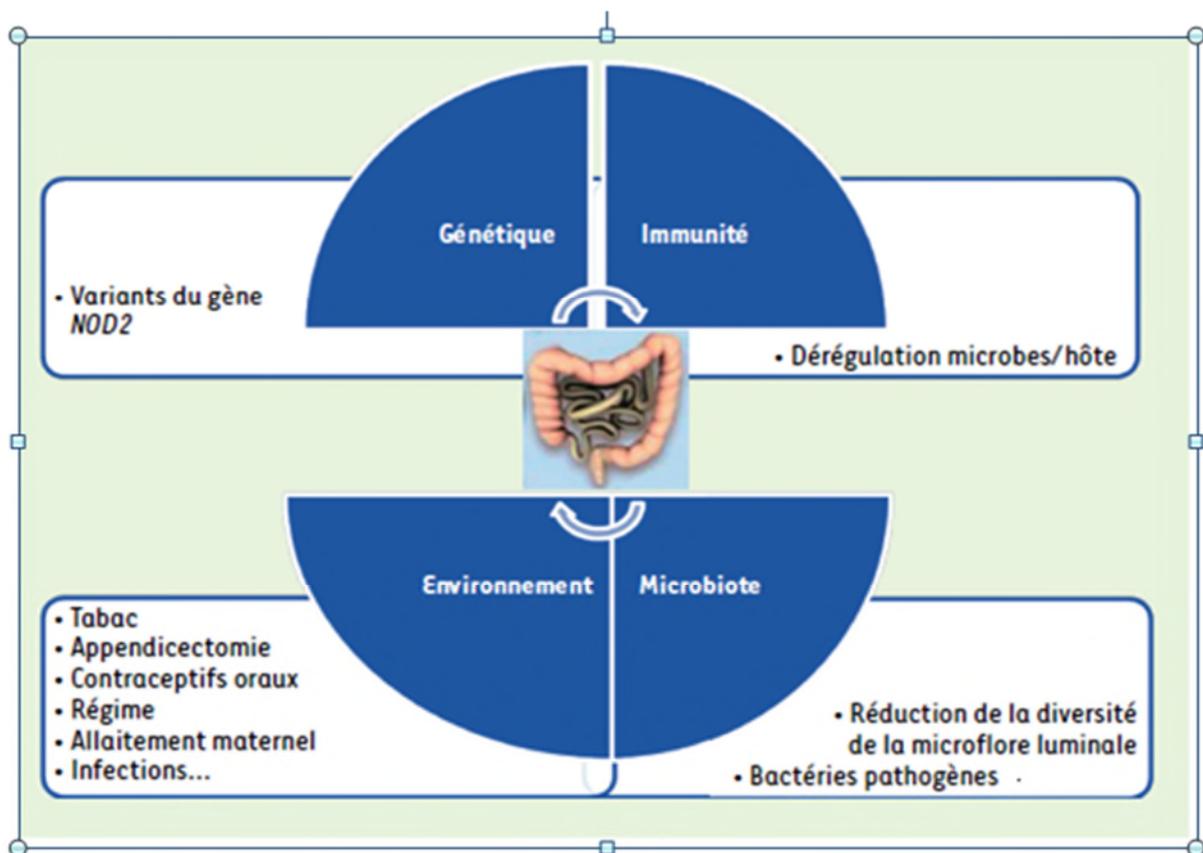


Figure N°1 : Les facteurs induisant les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (Rahmouni *et al.*, 2016).

III- Inflammation

La réaction inflammatoire est un mécanisme de défense de l'organisme en réponse à la pénétration de microorganismes et à la présence de cellules anormales (cellules tumorales) ou étrangères (greffe). Il s'agit d'un processus généralement bénéfique et essentiel pour l'organisme. Il permet la mise en place d'une réponse immunitaire, pour éliminer les corps étrangers et réparer les tissus lésés, cette réaction est caractérisée par des symptômes pénibles décrits comme rougeur, chaleur, douleur et gonflement. La réaction inflammatoire est déclenchée par la libération des médiateurs chimiques des tissus et des cellules blessées (figure2) (Henrotin *et al.*, 2001, Kuby, 2003).

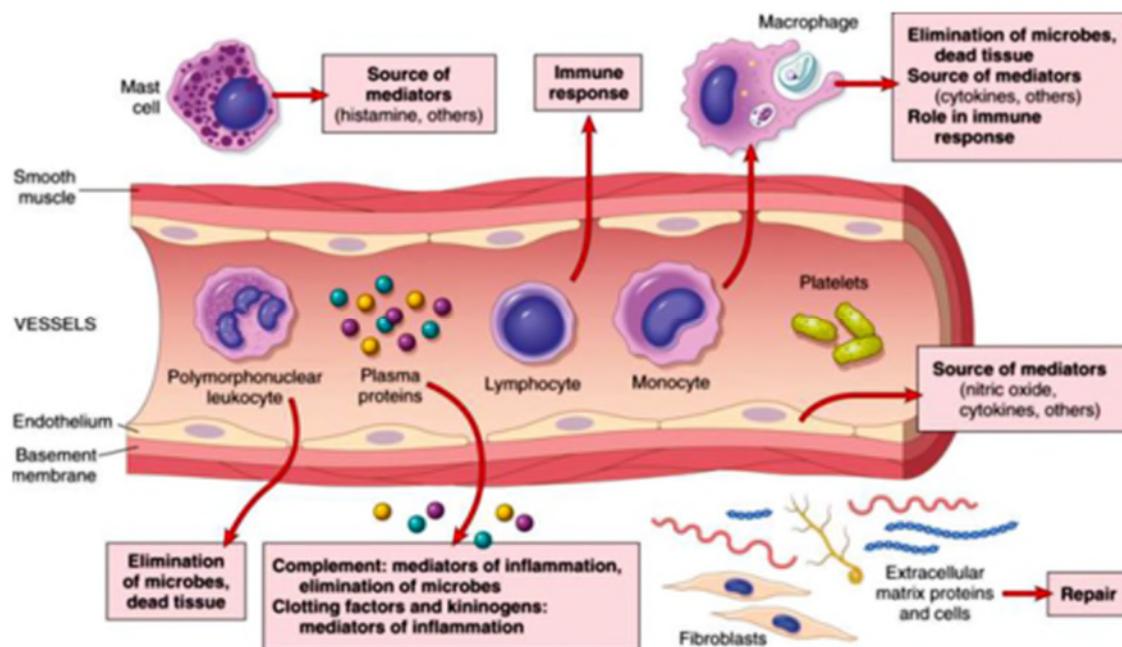


Figure N°2 : Composantes des réponses inflammatoires (Abadjian, 2012).

III-1 Maladie du Crohn

La maladie de Crohn est une maladie qui provoque une inflammation et une irritation d'une partie de l'appareil digestif, aussi appelé appareil gastro-intestinal (GI), qui peut atteindre n'importe quelle partie du tube digestif, de la cavité buccale jusqu'à l'anus, mais la partie la plus couramment affectée est celle se situant à la partie extrême de l'intestin grêle, à sa jonction avec le côlon, que l'on appelle l'iléon. L'inflammation chronique de la paroi intestinale conduit à la perte de la fonction physiologique de l'intestin (figure 3) (Morel, 2014 ; Siebold, 2015).

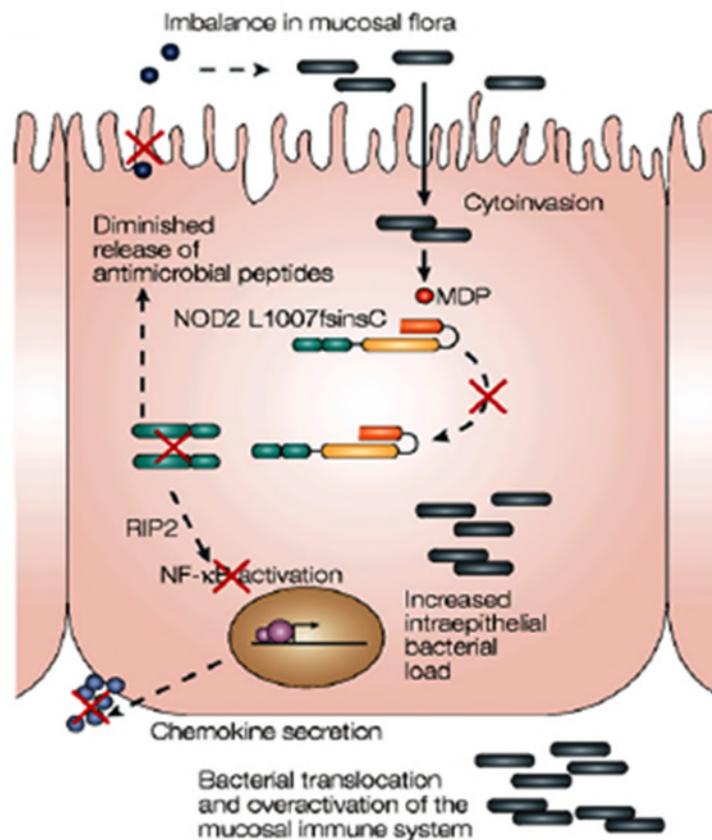


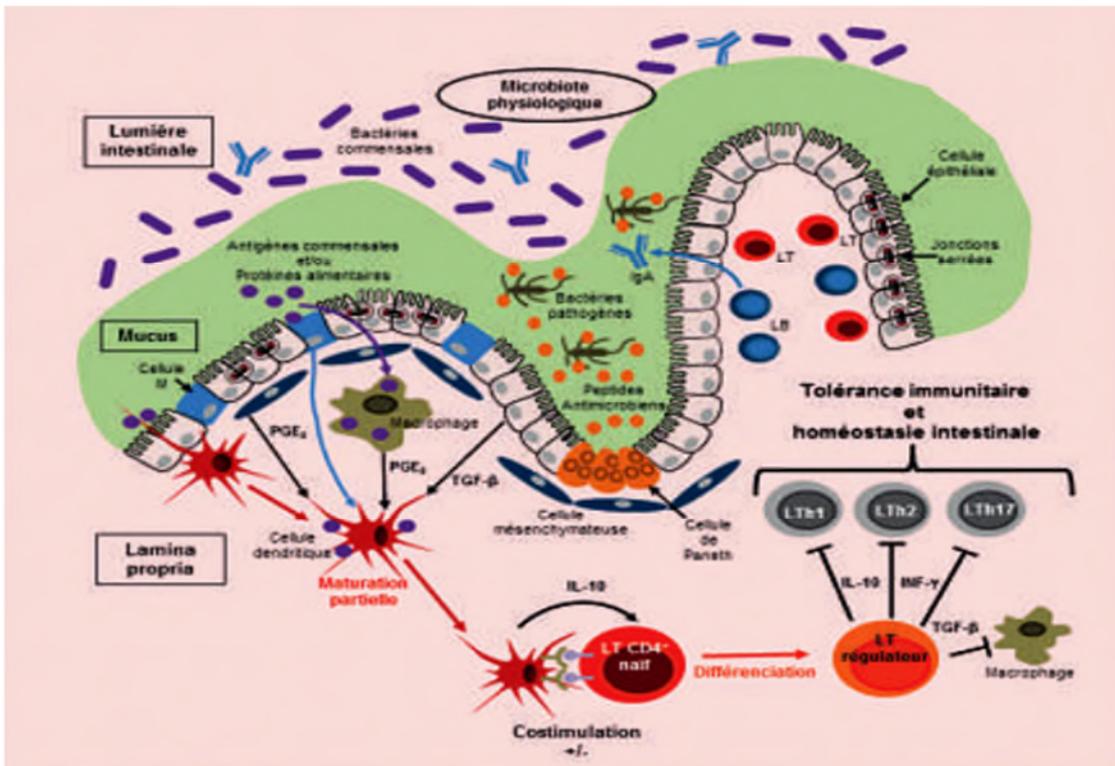
Figure N°3 : Fonction de CARD15 et la barrière épithéliale intestinale (D'après Nature Reviews Genetics 2005. Genetics of Crohn disease, an archetypal inflammatory barrier disease).

III-2 Rectocolite hémorragique

La rectocolite hémorragique (RCH) est une maladie inflammatoire du rectum et du gros intestin (colon), Elle se caractérise par des lésions continues le plus souvent superficielles qui débutent dans le rectum et peuvent s'étendre sur l'ensemble du colon sans jamais atteindre d'autres segments du tube digestif. Elle se manifeste par une diarrhée sanglante associée à des émissions rectales glaire-hémorragiques et des douleurs abdominales, fièvre et perte de poids (Membled, 2006 ; Erpicum *et al*, 2013).

Des défauts au niveau de la barrière intestinale ont été rapportés chez les patients atteints de MICI. 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. Cela engendre la mise en place d'une dysbiose intestinale c'est-à-dire la diminution de la quantité de bactéries «protectrices» qui se traduit également par l'inactivation de l'inhibition de la prolifération des bactéries «délétères». Par ailleurs, en impactant également les jonctions intercellulaires au niveau de l'épithélium, ces facteurs provoquent l'augmentation de la perméabilité de la barrière physique épithéliale. Ainsi, les bactéries pathogènes pourront être en contact direct et de manière prolongée avec l'épithélium intestinal et envahir la lamina propria (figure 4). Cette perte de la fonction de barrière aura pour conséquence une activation excessive du système immunitaire muqueux, puis l'apparition d'une inflammation chronique pour aboutir finalement à l'apparition des lésions observées chez les patients. D'un point de vue mécanistique, cette activation excessive de la réponse immunitaire se traduit par une augmentation du taux de cytokines pro-inflammatoires synthétisées par les cellules épithéliales, les cellules mésenchymateuses et les macrophages comme IL-1 β , IL-6 et IL-8 et TGF- β ayant pour conséquence un déséquilibre concernant la balance des cytokines pro et anti-inflammatoires, induisant ainsi l'inflammation (Desreumaux 2004 ; Kökten *et al*. 2016).

A



B

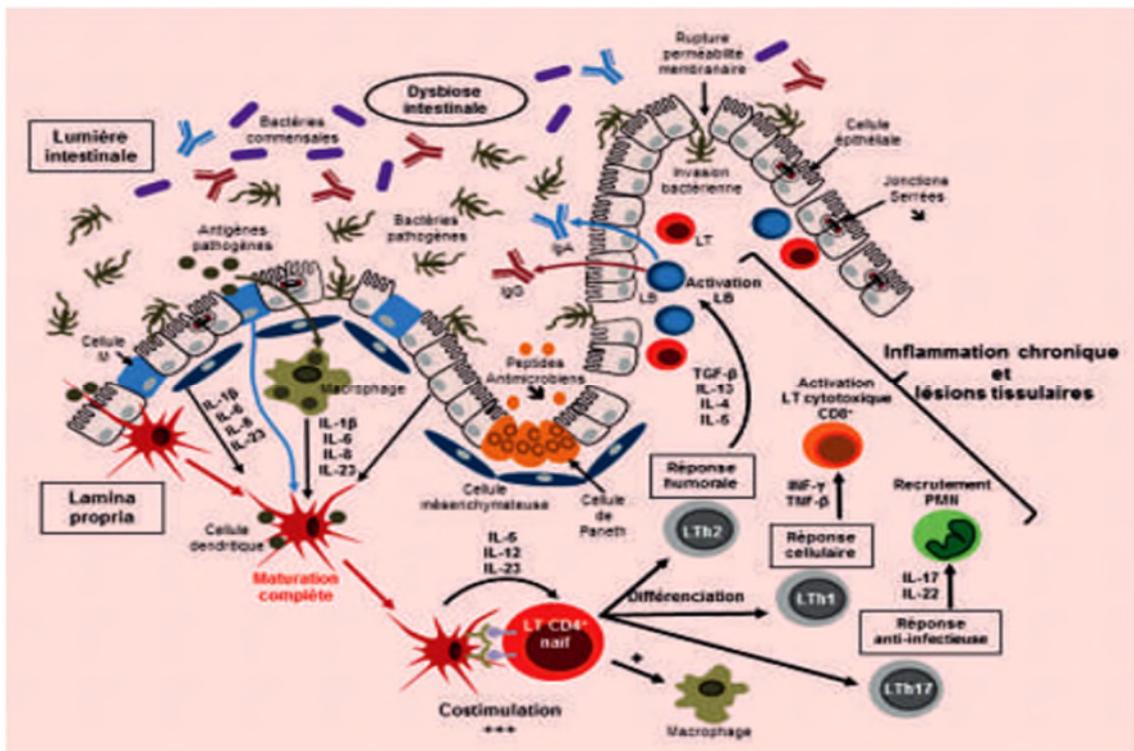


Figure N°4 : Représentation schématique d'une paroi intestinale (A : saine, B : atteinte de MICI) (Kökten *et al.*, 2016).

III-3 Prédisposition génétique des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

La reconnaissance de composés bactériens par les récepteurs va entraîner une réaction en chaîne, très complexe, entraînant l'activation de facteurs de transcription (NF- κ B), qui stimule l'expression de gènes codant pour la synthèse des cytokines inflammatoires. Le contact permanent de l'épithélium digestif et du contenu intra-luminal y compris bactérien provoque dès lors une stimulation continue du système immunitaire au sein de la muqueuse digestive. Cela a donné lieu au concept « d'inflammation physiologique » de la muqueuse digestive, mise en évidence dans de nombreux travaux (Watterlot, 2010).

L'étiologie exacte des MICI reste inconnue. Cependant, il est hautement probable que des facteurs dits d'environnement puissent chez des individus génétiquement susceptibles provoquer une réponse anormale du système immunitaire au sein de la paroi intestinale et induire de ce fait un déséquilibre de cette « inflammation physiologique », entraînant une dérégulation de la réponse immunitaire, causée par des lésions intestinales. Les études génétiques récentes ont pu identifier à ce jour au moins cinq gènes dits de prédisposition. Celui qui semble jouer le rôle majeur est le gène NOD2 ou CARD-15, identifié sur le chromosome 16. Son rôle est néanmoins modéré puisqu'on trouve une mutation chez 40 % des patients atteints de la maladie de Crohn et chez 20 % des sujets normaux (Lamoril, 2007 ; Gossum, 2007).

Le récepteur cytoplasmique NOD2/CARD15 est impliqué dans la reconnaissance et la liaison du composant du peptidoglycane des parois bactériennes. Ce récepteur est exprimé par les cellules immunitaires (macrophages, lymphocytes et CD) ainsi que par les cellules de Paneth. Trois mutations de ce gène (figure 5) ont été décrites et au moins une de ces mutations est retrouvée chez 10 à 50% des patients atteints de MC. Les mécanismes sous-jacents à cette liaison entre NOD2/CARD15 et MC restent encore à élucider (Montbarbon, 2013).

Des travaux antérieurs suggèrent que la réponse immunitaire aux agents pathogènes, notamment bactériens, serait perturbée dans les MICI, même de nombreux facteurs de risque environnementaux (tabagisme, appendicite, etc.) peuvent également participer à ce dysfonctionnement immunitaire (Matricon, 2010).

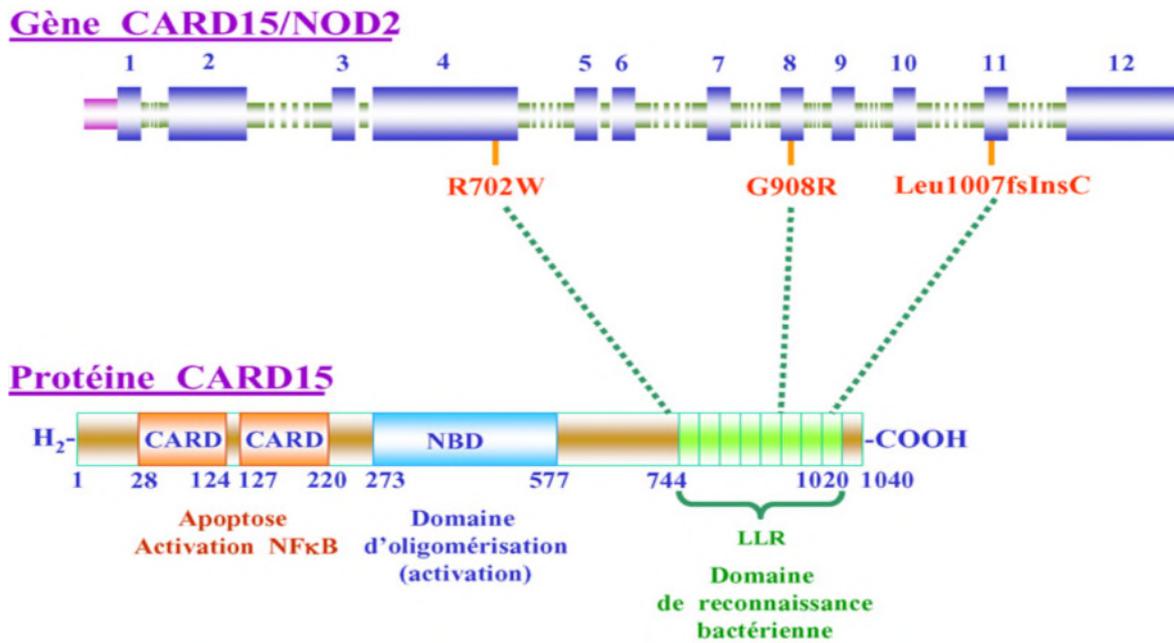


Figure N° 5 : Représentation du Gène et protéine CARD15 localisé sur le chromosome 6q12 et les trois mutations qui ont été identifiées dans les MICI (Lamoril, *et al.* 2007).

III-4 Dérégulation de la réponse immunitaire

Les cellules de l'immunité innée telles que les phagocytes, reconnaissent les bactéries grâce aux « Patterns Recognition Receptor » (PRR). Les PRR représentent l'ensemble des récepteurs de surfaces Toll Like Receptor (TLR) ainsi que les récepteurs intracellulaires «Nod Like Receptor » (NOD). L'association d'un PRR avec un ligand bactérien spécifique va induire l'activation de la protéine MyD88. Cette dernière va alors recruter l'IL-1 receptor associated kinase (IRAK) qui une fois autophosphorylé recrute le TNF receptor associated factor 6 (TRAF6) qui active également un certain nombre de kinases dont le but étant de phosphoryler l'inhibiteur de NF-κB (IκB). IκB va alors être dégradé au sein du protéasome dans le cytoplasme, permettant ainsi à NF-κB de transloquer dans le noyau et d'induire la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1, l'IL-6, l'IL-8, ou encore le TNF-α (figure 6), conduisant alors à l'activation de la réponse immune innée et/ou adaptative (Watterlot, 2010).

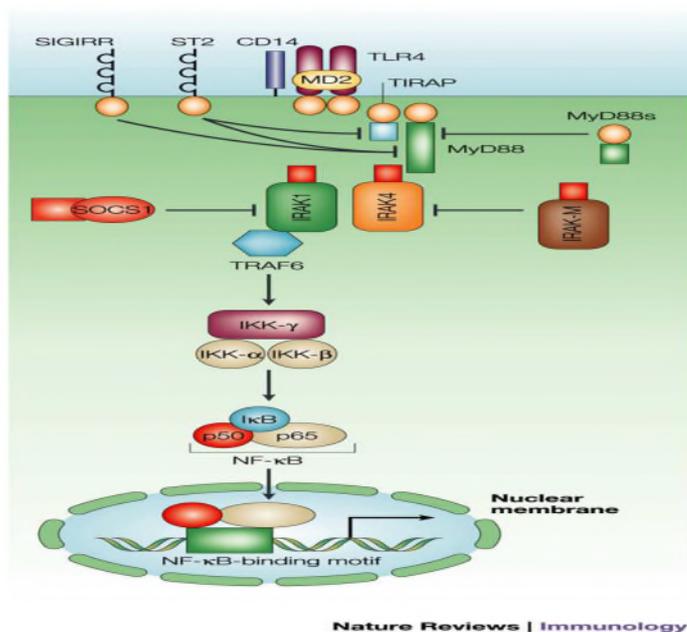


Figure N°6 : Schéma représentant la cascade d'activation NF-κB *via* l'activation du TLR-4 (Watterlot, 2010).

L'affaiblissement des premières défenses de la muqueuse contribue à la perméabilisation de l'épithélium intestinal. Ce qui conduit à l'augmentation de l'interaction de la flore commensale et le système immunitaire muqueux. L'excès de telles interactions serait à l'origine d'une perte de tolérance à la flore commensale, ce qui activerait les cellules sentinelles de l'immunité innée : les cellules dendritiques (CD) de la muqueuse. Dans les MICI, une activation excessive des cellules dendritiques est observée au niveau des sites inflammatoires. Il en résulte une très forte différenciation des lymphocytes effecteurs de type CD4⁺ et CD8⁺ et des autres cellules effectrices telles que les natural killer (NK et NKT) et une abolition de la production de cellules T régulatrices (Trég). Le défaut de lymphocytes Trég participe au développement d'une réponse immunitaire vis-à-vis des bactéries commensales qui normalement sont tolérées par le système immunitaire muqueux. Cette rupture de tolérance périphérique perpétue alors l'inflammation (Boumgart *et al.* 2007 ; Smith *et al.* 2009).

Les anomalies de la réponse immunitaire innée perturbent la reconnaissance des antigènes et leur présentation aux cellules effectrices. Un déséquilibre entre le nombre de lymphocytes T effecteurs (Th) et de lymphocytes T régulateurs (Trég) est observé lors d'une

MICI. Dans la RCH, la muqueuse des patients est infiltrée majoritairement par des lymphocytes Th2 atypiques, ce qui caractérise la production d'IL-5, d'IL-13 et de TGF β . un défaut de la production des chimiokines ou un défaut de la régulation des voies de transduction de leurs récepteurs pourrait contribuer à la perte d'intégrité épithéliale en induisant la production locale de radicaux libres (Matricon, 2010).

I Matériel et méthodes

I-I Matériel

I-I-1 Matériel végétal

Sur la base de son utilisation en médecine traditionnelle, notre étude a été réalisée sur la partie aérienne (fleurs, feuilles et tiges) d'une plante médicinale du genre *Fumaria*. Cette dernière a été récoltée le matin dans la région rurale ; Imakhlef d' El-kseure (wilaya de Bejaia), durant la période de fructification et de floraison (Avril, 2016). Loin de la pollution et ce pour écarter toute modification dans la composition chimique de cette espèce. Son identification est effectuée, au Laboratoire de Biologie Végétale, de la Faculté SNV, de l'Université A. Mira de Bejaia, et en utilisant la flore des plantes Algériennes (Quezel et Santa, 1963).

I-I-1-1 Classification botanique des fumeterres

Règne : Plantae

Sous règne : Métaphyses

Embranchement : Cormophyte

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Magnoliopsida

Ordre : Papaverales

Famille : *Fumariaceae*.

Genre : *Fumaria* (Preininc ,1986).



Figure N°7 : Photographie de *Fumaria* (Imakhlef d' El-kseure, Bejaia, 2016).

I-2 Matériel animal

Afin d'évaluer la toxicité de l'extrait éthanolique et la fraction ammoniacale et l'activité anti-inflammatoire intestinale des alcaloïdes extraits à partir de la plante médicinale du genre *Fumaria*, nous avons utilisé des souris femelles albinos de souche NMRI (Naval Medical Research Institute) (figure7), d'un poids variant entre (27-32), obtenues auprès de Faculté de Pharmacie de l'Université de Constantine.

Les souris ont été transférées à une animalerie et ont été réparties dans des cages de 6 souris soumises à des conditions de température ambiante de (23-26°C), et à un cycle de jour et nuit de 12 heures d'éclairage/ d'obscurité afin de respecter leur cycle biologique avec accès libre à l'aliment et à l'eau.



Figure N°8 : Photographie de souris albinos de souche NMRI (Animalerie de l'université de Bejaia, 2017).

I-3 Appareillages et réactifs

L'appareillage et les réactifs utilisés pour les différentes extractions et les activités biologiques sont rapportés en annexe.

II- Méthodes

II-1 Séchage et broyage

Les parties aériennes de la plante utilisées sont lavées et débarrassées de la poussière, du sable et autres particules (à l'eau courante), découpées en petits morceaux, puis séchées à l'étuve à 40°C pendant dix jours, pour obtenir une meilleure extraction. Les échantillons séchés sont réduits en poudre grâce à un broyeur électrique.

II-2 Extraction des alcaloïdes

Dans cette partie du travail nous avons contribué à l'extraction des alcaloïdes totaux de la plante médicinale du genre *Fumaria*. Nous avons utilisé la méthode d'extraction par « Soxhlet » (figure 9) pour extraire une quantité plus importante d'alcaloïdes à partir de la poudre sèche.

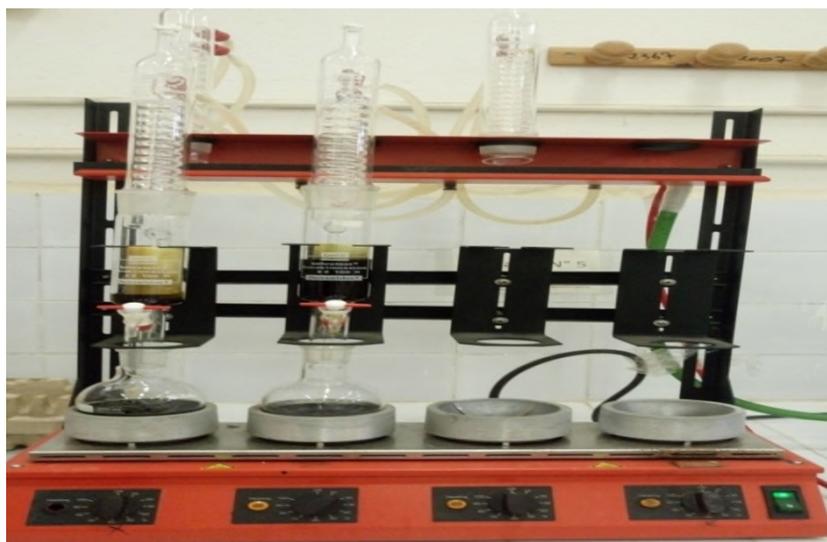


Figure N°9 : Montage d'extraction (Soxlet).

Le corps de l'extracteur, contenant une cartouche remplie de la poudre, est fixé à la partie supérieure, surmonté d'un réfrigérant. Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal pour donner une solution qui est soutirée périodiquement par l'amorçage d'un siphon. La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction (Houghton et Raman, 1998).

Dans cette extraction nous avons opté pour l'éthanol comme solvant de départ, car les solvants alcools (éthanol, méthanol) donnent de meilleurs taux d'extraction d'alcaloïdes, La méthode d'extraction utilisée est solide-liquide, selon le protocole préconisé par Souseck et al. (1999) schématisé sur la (figure 10).

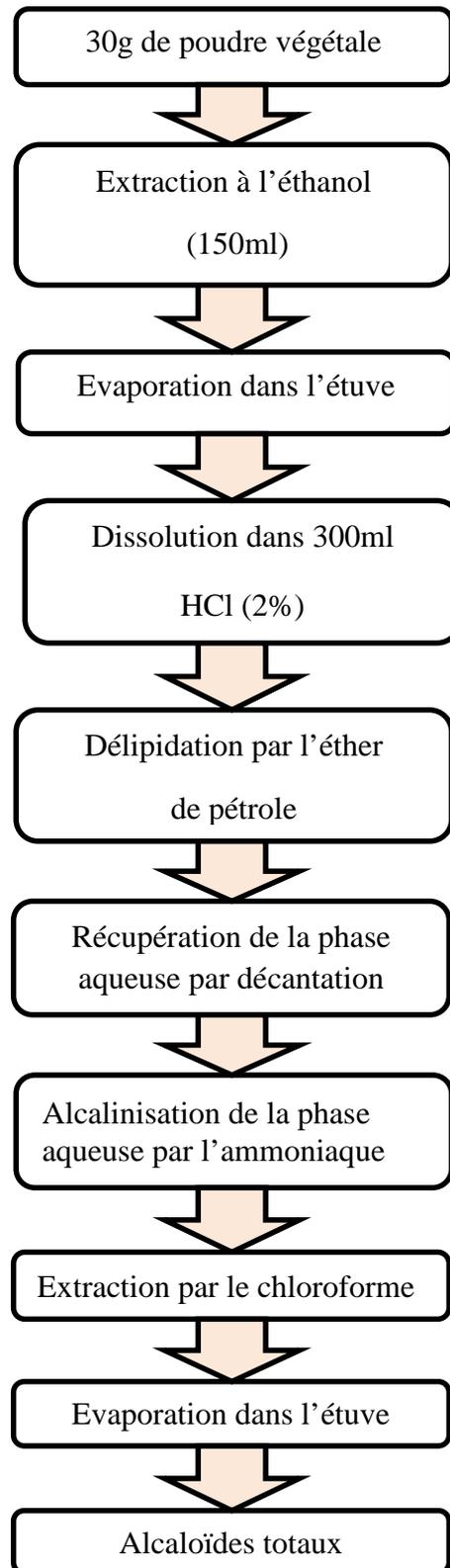


Figure N°10 : Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux des parties aériennes de *Fumaria* (Sousek *et al.*, 1999).

III-3 Evaluation de toxicité aiguë de l'extrait éthanolique et de la fraction ammoniacale de *Fumaria*

L'évaluation de la toxicité aiguë de l'extrait éthanolique de la plante médicinale utilisée a été réalisée suivant la recommandation de l'OECD (Organisation of Economic Cooperation and Développement). Quatre lots de 6 souris femelles de poids homogènes ont reçu par gavage la fraction éthanolique (figure 11) à différentes doses de 50, 250, 500 et 4000mg/kg. Trois lots de 6 souris ont reçu par gavage la fraction ammoniacale à des doses de 250, 500 et 4000mg/kg.

Après l'administration de l'extrait éthanolique et la fraction ammoniacale, les souris ont été observées pendant 4 heures pour tout changement de comportement et de mortalité en établissant une fiche d'observation. Le suivi des souris a été fait pendant 7 jours comparativement à un lot témoin non traité. Nous avons noté ainsi la mortalité et toutes les modifications comportementales et les variations du poids des animaux.



Figure N°11 : Présentation des lots et la méthode du gavage (Animalerie de l'université de Bejaia, 2017).

II-4 Etude de l'activité anti-inflammatoire intestinale des alcaloïdes de *Fumaria*

L'étude expérimentale de l'activité anti-inflammatoire intestinale des alcaloïdes a été réalisée selon la méthode de Wang et ses collaborateurs (2008), qui consiste à provoquer une colite via l'administration de 100µl d'acide acétique (AA) à 5% par voie rectale (figure 12). Les souris ont été ensuite maintenues dans une position verticale pendant 20s pour limiter

l'expulsion de la solution d'AA. Cette étude permet de comparer la réduction de la colite après administration de différentes doses de l'extrait ou la molécule à tester.

Pour cette étude 30 souris femelles pesant 30 ± 3 g ont été utilisées, scindées en 5 lots de six souris chacun. Un lot témoin sain, quatre lots ont été privés de nourriture pendant 12 heures avant l'administration de l'AA à 5% par voie rectale afin de provoquer une inflammation colique. Après 2 heures, un lot de référence traité par gavage avec un anti-inflammatoire utilisé en thérapeutique (Dexaméthasone) à une dose de 2,5mg/kg, deux lots d'essai ont reçu une administration de 1ml de l'extrait alcaloïdique par voie orale à des doses de 50 et 100mg/kg pendant 7 jours.

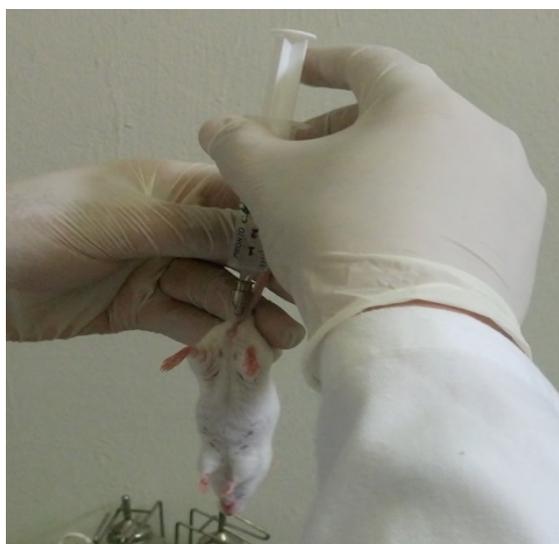


Figure N°12 : Induction des colites chez les souris par l'acide acétique à 5% par voie rectale.

L'indice d'activité de la maladie (DAI) a été enregistré quotidiennement en observant le changement du poids corporel et la consistance des selles. Chaque observation a été réalisée selon la méthode de Cooper et al. (1921).

Après traitement pendant 7 jours, les souris ont été sacrifiées par dislocation cervicale après anesthésie. Les colons ont été récupérés et libérés du tissu adipeux adhérent, rincés doucement avec une solution saline, pesés, mesurés et coupés longitudinalement afin de récupérer la partie distale et la conserver dans une solution de formol à 10% qui est utilisée pour une observation macroscopique et l'étude histologique. La longueur du côlon a été mesurée en cm entre la jonction iléo-caecale et le rectum proximal et son poids a été mesuré en mg, le rapport P/L (poids / longueur) a été calculé pour chaque souris en comparant la

réduction de l'inflammation chez les souris traitées par rapport aux témoins non traités par l'AA.

Des sections de 1 cm ont été prises du colon au niveau de la partie distale afin de réaliser l'étude histologique, les colons ont été nettoyés et coupés longitudinalement et conservés dans une solution de formol à 10%.

III- Etude histologique

C'est la dernière étape dans notre travail, ou elle consiste à étudier l'histologie de ces tissus à un niveau microscopique et permet de comprendre leur fonctionnement normal ou pathologique, dans laquelle on fait passer nos échantillons par plusieurs étapes.

III-1 Etape de déshydratation

Premièrement, nous avons mis les échantillons dans des histo-cassettes, de manière à pouvoir avoir une observation en deux positions longitudinale et transversale. puis les remettre dans du formol à 10% en attendant de les faire passer à la déshydratation par un automate de déshydratation (figure 13) qui contient 12 bains, les huit premiers contiennent de l'alcool à concentrations croissantes pour une durée de 45min dans chaque bain, ensuite, dans deux bains de xylène ou autre dérivé du benzène pendant 30min, et en dernier, dans deux bains de paraffine fondue durant 1h30.

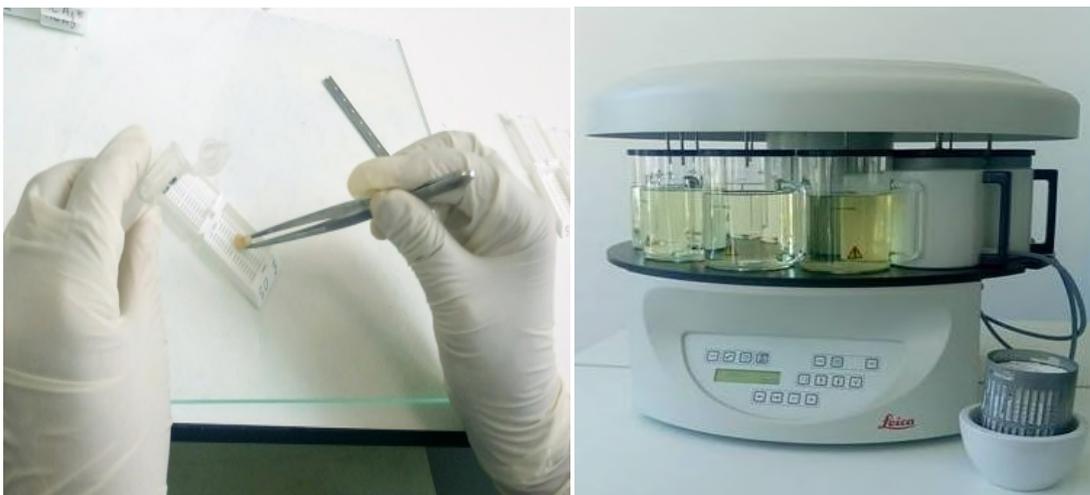


Figure N°13 : Photographie du dépôt de l'échantillon dans des histo-cassette et de l'automate à déshydratation.

III-2 Etape d'enrobage

Cette étape consiste à enrober les échantillons de paraffine à l'aide d'une station d'enrobage (figure 14), qui contient trois compartiments un pour faire fondre la paraffine pour quelle puisse passer dans le robinet, et deux petits compartiments contiennent de la paraffine fondue ou plonger les histo-cassettes et les moules. Une fois l'histo-cassette est bien plongée dans la paraffine, l'échantillon est déposé dans un moule qui contient une couche mince de paraffine, puis on remet la cassette et on la couvre de paraffine, ensuite on la laisse refroidir pour la déposer sur une plaque refroidissante afin de la démouler.

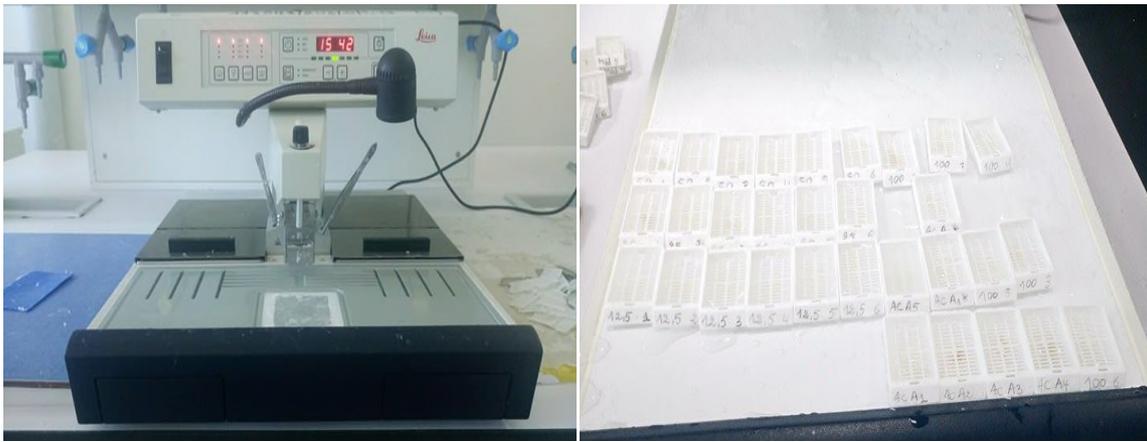


Figure N°14: Photographies de la station à enrobage et de la plaque refroidissante.

III-3 Etape de coupe par microtome

Une fois l'échantillon est démoulé, premièrement il passe à un dégrossissement de 20 μ avec un microtome afin d'enlever tout excès de paraffine, puis réaliser des coupes fines à 03 μ , et déposer l'échantillon sur des lames, ensuite à l'étalement dans de l'eau chaude pour éliminer les froissements de la paraffine (figure 15) et déposer les lames sur une plaque chauffante à 67°C, pour faire fondre la paraffine, et enfin les mettre dans l'étuve à une température de 70°C pendant une nuit toujours dans le but de déparaffinage.



Figure N°15: Photographies du microtome et de la plaque chauffante.

III-4 Etapes de coloration et montage

Après l'incubation dans l'étuve, nous avons récupéré les lames, elles ont été plongées dans le xylène pendant 30min pour bien déparaffiner les échantillons, ensuite ces dernières passent aux étapes de coloration (figure 16) commençant par l'hydratation où on les plonge à nouveau 10min dans un bain d'alcool suivi de 10 min dans l'eau, puis durant 3min dans l'hématoxyline suivi d'un rinçage puis dans l'éosine pendant 1min et enfin un dernier rinçage.



Figure N°16 : Photographies du protocole de coloration et du montage

Pour finir nous avons mis nos lames dans des différents bacs qui contiennent l'alcool pour éliminer l'excès du colorant, ensuite dans un bac à alcool / xylène comme milieu intermédiaire, puis dans du xylène afin de faciliter l'étalement de l'eukitt et enfin on couvre l'échantillon de la lamelle qui contient l'eukitt pour la fixer. On laisse sécher et on passe à l'observation sous microscope optique.

I- Résultats et discussion

I-1 Collecte et séchage

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

I-2 Taux d'extraction des alcaloïdes totaux

L'extraction des alcaloïdes totaux de cette plante médicinale du genre *Fumaria* par la méthode liquide - liquide, en utilisant le Soxhlet, nous a permis d'obtenir un extrait d'une couleur verdâtre, cette espèce semble être plus riche en alcaloïdes car elle renferme 1,17% d'alcaloïdes à partir de la poudre sèche. Le rendement est calculé en fonction de la matière végétale sèche (poudre initiale) de la partie aérienne de la plante. Cette espèce semble être plus riche en alcaloïdes en comparaison avec d'autres espèces du même genre ; En effet on observe chez *F. fella* un taux de 0,67%, dans le cas de *F. sepium* et *F. agaria* des rendements allant respectivement jusqu'à 0,88% et 0,83%. Généralement, la teneur en métabolites secondaires dépend de plusieurs facteurs tels que l'espèce, l'origine, le stade de croissance, les influences environnementales et le patrimoine génétique (Bruneton, 1999).

I-3 Etude de la toxicité aiguë de l'extrait éthanolique et de la fraction ammoniacale

Les plantes médicinales ou plus exactement les métabolites secondaires bioactives dérivées des plantes médicinales comme ils possèdent un effet pharmacologique peuvent aussi avoir un effet toxique, pour cela l'étude de leurs propriétés pharmacologiques et toxicologiques est une étape primordiale pour mieux élucider l'efficacité et les risques de leurs utilisations.

Nous avons évalué la toxicité de l'extrait éthanolique, et la fraction ammoniacale à différentes doses 50, 250, 500 et 4000 mg /kg sur des souris albinos traitées par voie orale dans les conditions de la toxicité aiguë, n'ont montré aucun signe de toxicité pendant la période de l'étude tel que la diminution du poids ou la mortalité ou encore de changement dans l'apport journalier d'aliments et d'eaux des différents lots traités en comparaison avec le

lot témoin, non plus de changement physique tel que la fraisant de la fourrure, les yeux qui se ferment ni de changement de comportement, or que il y'avais une évolution normale (figure 17) du poids corporel des souris traitées avec la fraction ethanolique, ammoniacque et du lot témoin.

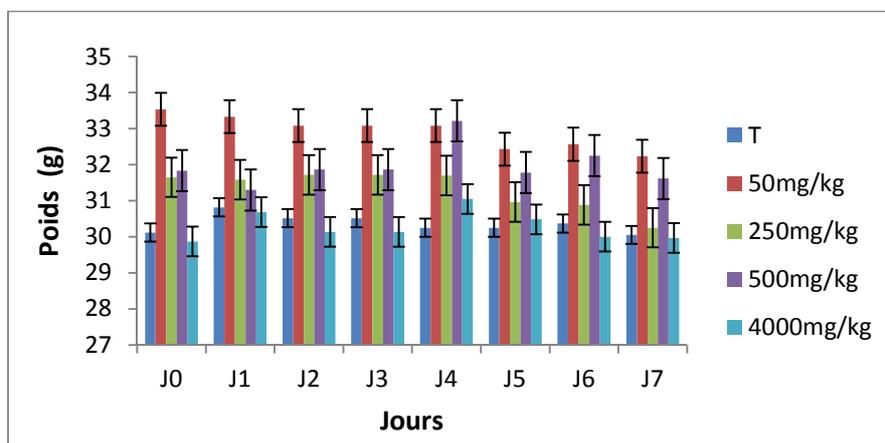


Figure N°17: Evolution du poids corporel des lots de souris traité avec la fraction ethanolique.

Une évolution normale du poids corporel a été remarquée chez les trois lots (50, 500, et 4000 mg/kg) avec une légère diminution du poids à partir du 5^{ème} jour chez les souris du 2^{ème} lot traitées avec la dose de 250 mg/kg, mais elle est non significative. Nous n'avons observé aucune mortalité ni changement de comportement au cours des 24h, 48h et les 7 jours d'observations, cela signifie que l'extrait testé n'a aucun effet néfaste sur la croissance des souris et la DL 50 est supérieure à 4000mg/kg.

Tableau II : Taux de létalité des différentes doses de l'extrait ethanolique.

| Dose (mg/Kg) | Mortalité | Latence de mortalité |
|------------------|-----------|----------------------|
| 0 mg/Kg | 0/6 | 0 |
| 50mg/Kg | 0/6 | 0 |
| 250 mg/Kg | 0/6 | 0 |
| 500mg /kg | 0/6 | 0 |
| 4000mg/kg | 0 /6 | 0 |

D'après les résultats obtenus après le suivi du poids corporel et la létalité (tableau II) des lots traités avec l'extrait éthanolique, cela signifie que l'extrait éthanolique de la plante médicinale du genre *Fumaria* n'a aucune toxicité aiguë lorsqu'elle est administrée par voie orale, et selon l'OCDE la fraction éthanolique de *Fumaria* est considérée comme non toxique et que la DL50 de cet extrait est supérieure à 4000mg/kg.

Nous avons procédé au même protocole pour évaluer la toxicité aiguë de la fraction ammoniacale de *Fumaria*, et les mêmes paramètres ont été suivis dans les mêmes conditions. Les souris des lots traitées avec la fraction ammoniacale par voie orale à 250 et 500mg /kg n'ont pas eu de comportements anormaux ou de perte de poids ni de mortalité tout au long de la période d'observation en comparant avec le lot témoin (tableau III). Les variations du poids corporel des lots traités avec la fraction ammoniacale sont présentés dans la figure 18. Les souris du lot 3 qui ont reçu une dose de 4000mg/kg qui était très toxique a conduit à la mort immédiate de cinq souris sur six.

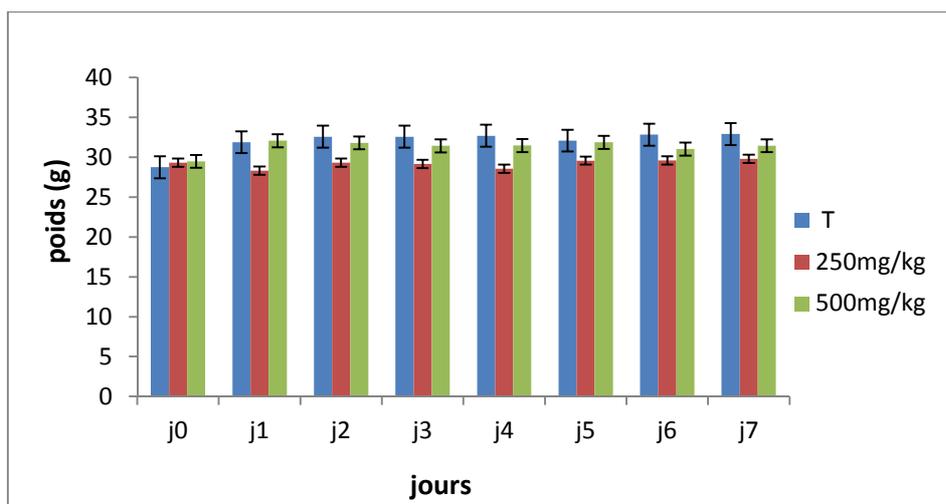


Figure N°18: Evolution du poids corporel des souris traitées avec la fraction ammoniacale.

Tableau III: Taux de létalité des différentes doses administré de l'extrait ammoniacale.

| Dose (mg/Kg) | Mortalité | Latence de mortalité |
|------------------|-----------|----------------------|
| 0 mg/Kg | 0/6 | 0 |
| 250 mg/Kg | 0/6 | 0 |
| 500 mg/Kg | 0/6 | 0 |
| 4000mg/kg | 5/6 | 1 |

Le suivi de la variation de la masse corporelle des souris des trois lots traités avec 250, 500 et 4000mg/kg et le lot témoin ainsi que le taux de létalité au cours de l'expérience de la toxicité aiguë par l'extrait ammoniacal de la plante médicinale locale *Fumaria* a démontré une légère augmentation du poids à partir du 1^{er} jour du gavage et puis une stabilisation tout au long des 7 jours de la période d'évaluation, ce qui signifie que il n'ya pas eu d'effet toxique apporté par les deux doses 250 et 500mg/kg. Or la mort des cinq souris du lot 3 traités avec la dose de 4000 mg/kg a révélé une toxicité aiguë de la fraction ammoniacale de la plante médicinale locale *Fumaria* et sa DL50 est inférieure à 4000mg/kg.

I-4 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des alcaloïdes de *Fumaria*

Cette étude a été réalisée pour évaluer l'effet anti-inflammatoire des alcaloïdes d'une plante médicinale du genre *Fumaria* contre la colite induite chez des souris albinos. L'administration rectale d'acide acétique à 5% est l'un des modèles de colite expérimentale (colites chimio-induites). Ce modèle permet le développement rapide d'une inflammation majoritairement confinée au niveau du côlon distal.

Les souris qui ont été utilisées dans cette étude, ont développé une inflammation colique suite à l'administration de l'acide acétique, caractérisée par une perte de poids corporel (figure19), sang dans les fèces, diarrhées, ulcérations ainsi les atteintes macroscopiques observés lors de la récupération des colons (figure 20). et la diminution de la longueur de ce dernier et une augmentation du poids, en comparaison avec les souris du lots témoins non colique, lot médicament et celles des lots traitées avec l'extrait alcaloïdique (50 et 100mg/kg).



Figure N°19 : Photographie des colons récupérés des témoins colique et non colique, A: témoin colique, B: témoin non colique.

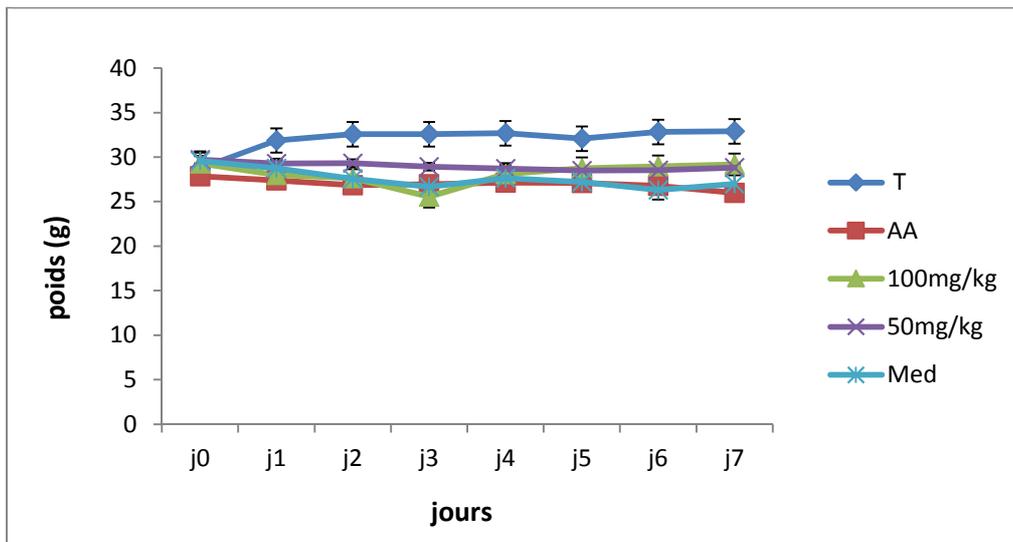


Figure N°20 : Evolution du poids corporel des souris traitées par l'acide acétique, les alcaloïdes et le dexaméthasone.

Pour évaluer les effets bénéfiques des alcaloïdes sur la colite induite par l'acide acétique chez la souris, nous avons surveillé les changements du poids corporel et histologique des zones enflammées des côlons des souris des différents lots expérimentaux. Après sacrifice, les colons ont été récupérés, pesés et mesurés pour calculer le rapport Poids/ Longueur (P/L), car

il est considéré comme indicateur de l'étendue de l'inflammation colique (Sotnikova, 2013) et les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau IV : Moyenne du poids et longueur des colons des souris.

| Lot | Longueur (cm) | Poids (mg) | P/L |
|--------------------|---------------|------------|-------|
| Témoin | 8,9 | 428,16 | 48,17 |
| Acide acétique | 8,24 | 535,62 | 66,41 |
| Médicament | 9,31 | 382,93 | 41,92 |
| Alcaloïdes 50mg/kg | 8,69 | 470,91 | 54,19 |
| Alcaloïde 100mg/kg | 8,78 | 462,55 | 52,40 |

Les résultats obtenus avec le groupe de souris malades (Colite) traitées par l'acide acétique révèle la présence d'une inflammation aiguë à cause de la relation inverse qu'il y'a entre la longueur et le poids du colon par rapport au lot témoin. Cela est dû à l'envahissement du site de l'inflammation par des cellules et médiateurs tels que les cytokines pro-inflammatoires IL-1, IL-6, IL-8, et TNF α , ce qui a augmenté la masse corporelle du colon ainsi sa diminution qui est due aux nécroses, lésions et œdèmes. De ce fait, le rapport poids / longueur (figure 21) est plus élevé dans le groupe colique témoin par rapport au groupe non colique.

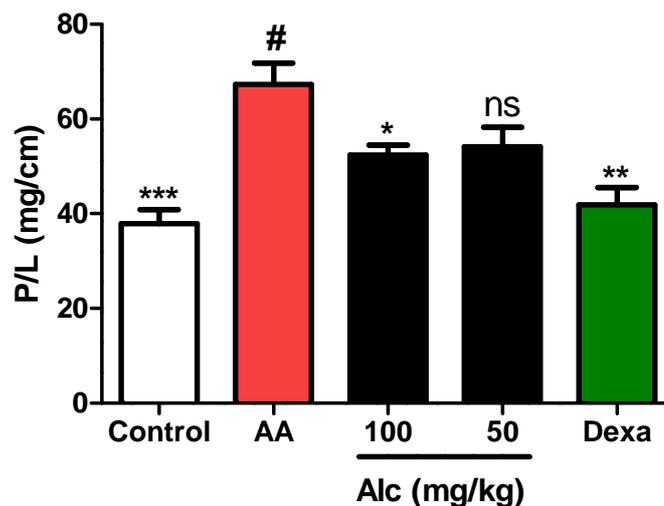


Figure N°21 : Effet anti-inflammatoire des alcaloïdes totaux de *Fumaria* (50 et 100mg/kg) sur la variation du rapport P/L dans le modèle de colite induite par l'acide acétique (5%). *: significative. **: représente des différences très significatives par rapport au témoin. Ns : non significative. AA : Acide Acétique, Alc : Alcaloïdes, Dexa: Dexamethasone.

Le traitement des souris coliques avec les doses 50 et 100mg/kg de *Fumaria* a provoqué une diminution du rapport P/L proche à celui obtenu avec le lot traité par le médicament de référence, ce qui nous a permis de noter son effet anti-inflammatoire qui a réduit l'état clinique et les dégâts macroscopiques induits par l'acide acétique. Mais les résultats du rapport P/L et les observations macroscopiques (figure 22), révèlent un effet meilleur de la dose 100mg/kg. Ce qui nous permet de suggérer que les alcaloïdes de cette plante médicinale *Fumaria* possèdent des propriétés anti-inflammatoires intestinales et que la dose de 100mg/kg était meilleure et plus efficace que celle de 50mg/kg et elle a montré une réduction significative du DAI, en tout une amélioration de l'état clinique des souris.

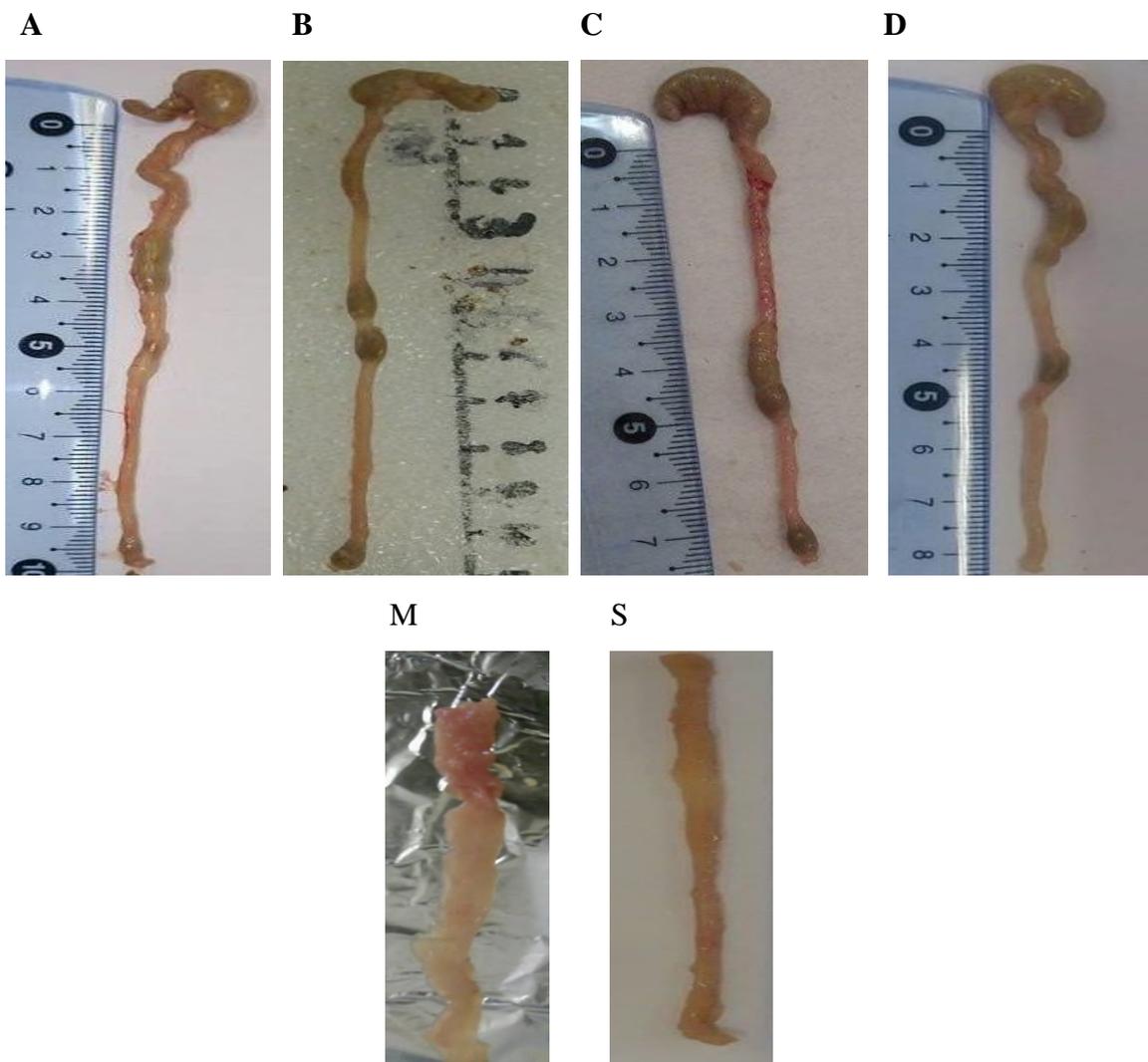


Figure N°22 : Photographies des colons récupérés des quatre lots au laboratoire d'expérimentation animale de la faculté SNV de l'Université A-Mira de Bejaia. **A** : lot témoin, **B** : lot médicament, **C** : lot 50mg/kg, **D** : lot 100mg/kg, **M**: colon enflammé ouvert et nettoyé, **S**: colon sain ouvert et nettoyé.

L'effet anti-inflammatoire intestinal des alcaloïdes de la plante médicinale du genre *Fumaria* a été confirmé après l'évaluation histologique des échantillons coliques, car cette étude favorise la récupération de l'histologie colique.

I-5 Etude histologique

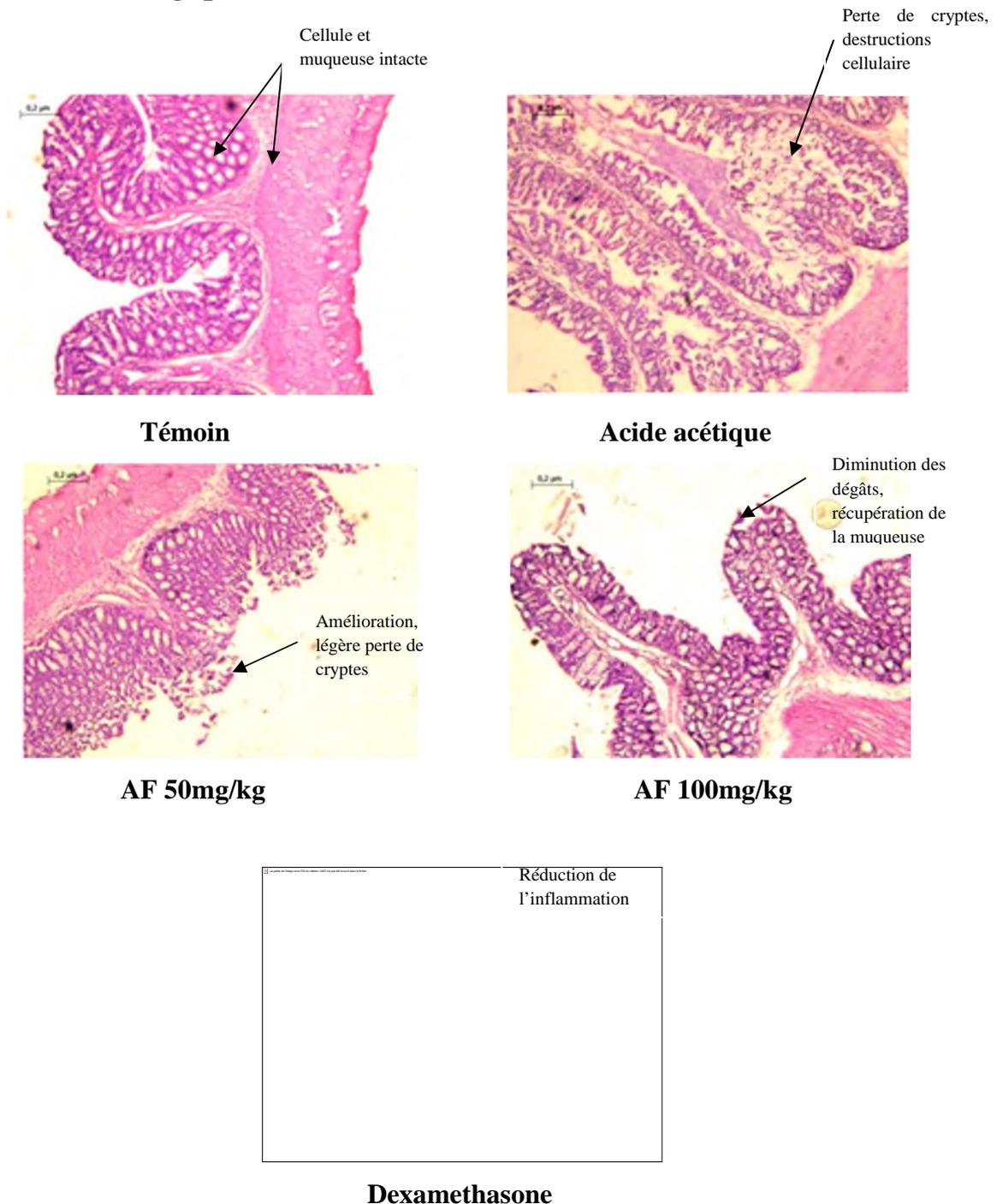


Figure N°23 : Les observations histologiques dérivées de l'évaluation de l'histopathologie des côlons récupérés des différents lots traités G × 20 (réalisé au laboratoire de médecine de l'Université de Bejaia, 2017).

Notre étude réalisée sur des souris NMRI albinos a abouti à des résultats intéressants et a démontré des effets bénéfiques des alcaloïdes de *Fumaria* sur la colite induite expérimentalement par l'acide acétique, chez les souris substitut par l'augmentation du rapport P/L et la diminution des lésions tissulaires observées dans l'étude histologiques des colons des souris traitées.

L'évaluation morphologique de la forme des colons a montré que l'acide acétique provoque une acidification intracellulaire massive entraînant une lésion des cellules épithéliales et une réponse inflammatoire induisant des dommages graves aux muqueuses et une l'infiltration cellulaire, ce qui signifie que ce dernier provoque une inflammation aiguë jointe à des lésions épithéliales et des hémorragies et la libération des médiateurs pro-inflammatoires. La forme protonée de l'acide acétique libère des protons dans l'espace intracellulaire en provoquant une acidification intracellulaire massive entraînant un dommage épithéliale immense (Otari, 2012 ; Somani, 2014).

La réponse inflammatoire a été classée en fonction de l'étendue de la destruction de la muqueuse normale : l'architecture, la présence et le degré de l'infiltration cellulaire, l'épaississement et la présence ou l'absence des cryptes. L'analyse histologique des tissus de la partie distale des colons a montré que les tissus coliques des souris non coliques (lot sain) présentaient une muqueuse et une sous-muqueuse intacte. Les souris du témoin colique à montré un œdème sous-muqueux, une perte de crypte, une destruction de l'architecture épithéliale, une infiltration des neutrophiles dans la muqueuse et sous-muqueuse. Les souris traitées avec les deux doses (50 et 100mg/kg) et le dexaméthasone (2.5mg/kg) ont présenté une amélioration modérée de la réponse inflammatoire avec une légère perte des cryptes, un œdème sous-muqueux et une infiltration de neutrophiles dans la muqueuse. Les souris traitées avec la dose 100mg/kg ont montré une diminution des dégâts de cette inflammation colique et une récupération remarquable de la muqueuse. Ce résultat suggère que la dose de 100mg/kg des alcaloïdes de *Fumaria* à un effet anti-inflammatoire meilleur que la dose de 50mg/kg qui est proche de celui assuré par le médicament de référence (dexaméthasone).

Dans notre étude, les caractéristiques d'une inflammation tel que la rougeur, le gonflement, la douleur et la chaleur ont été suspectées chez les souris traitées avec de l'acide acétique, qui sont les principaux événements d'une réaction inflammatoire qui décrivent la vasodilatation, l'augmentation de la perméabilité capillaire et la migration des macrophages au site infecté à travers la paroi endothéliale, par le phénomène de diapédèse, afin de stimuler

la production des médiateurs pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-8, et TNF α). Ce qui explique les observations des dégâts macroscopique et microscopique engendrés par l'acide acétique sur les colons des souris traitées et l'augmentation du rapport P/L. Cela résulte du stress oxydatif qui pourrait être le facteur majeur des lésions tissulaires et de la fibrose associée à une réaction inflammatoire pathologique, ce qui caractérise ce genre de maladies intestinales, avec des niveaux élevés en oxyde nitrique (NO) et en espèces réactives de l'oxygène (ERO) pendant la colite ulcéreuse. Ce qui augmente la formation de peroxy-nitrite qui favorise l'oxydation des lipides, des protéines et de l'ADN. L'augmentation de la capacité de peroxydation lipidique due au changement dans l'état d'oxydation, ce qui conduit à l'érosion de la muqueuse, la distorsion et la perte des cryptes ainsi qu'une diminution de la capacité de défense antioxydante du système immunitaire (Sotnikova, 2013 ; Vinod Prabhu et Guruvayoorappan, 2014 ; Krishnan *et al.* 2014 ; Bounihi, 2016).

Le marqueur de peroxydation lipidique, la malondialdéhyde (MDA) qui joue un rôle clé dans les dommages aux tissus. Une étude antérieure avait montré qu'une augmentation significative de MDA a eu lieu dans les tissus coliques enflammés des souris traitées avec de l'acide acétique. Les enzymes super-oxyde dismutases (SOD) et catalase (CAT) présentes dans les cellules gastriques sont impliquées dans les mécanismes antioxydants défensifs des cellules qui possèdent un rôle antioxydant qui intervient dans l'élimination des radicaux libres (Crespo *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2008; Krishnan *et al.*, 2014).

Parmi les étapes de la Réponse inflammatoire complexe dans le processus de MICI, l'activation de NF- κ B conduit à des dimères NF- κ B (p65 Et p50) qui se déplacent vers le noyau pour favoriser la transcription des médiateurs et enzymes pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6 et COX-2), ce qui entraîne une série de réponses en cascade inflammatoire. Le PPAR- γ , un membre de la superfamille des récepteurs des hormones nucléaires, pourrait inhiber l'activation de NF- κ B à travers plusieurs mécanismes et ensuite réprimer la transcription de cytokines pro-inflammatoires (Kelly *et al.*, 2004 ; De Vry *et al.*, 2007 ; Takedatsu *et al.*, 2009).

L'activation du PPAR- γ pourrait potentiellement réduire la sévérité des MICI en inhibant l'expression excessive de la réponse immunitaire et inflammatoire, car il joue un rôle de répresseur du facteur de transcription des médiateurs pro-inflammatoires, le NF- κ B. Des études cumulatives ont montré que la surproduction de médiateurs inflammatoires libérés par les leucocytes effecteurs détermine la gravité de la maladie et jouent un rôle clé dans le

maintien de l'homéostasie de l'organisme et le défi pathogène dont ils subissent certaines modifications biochimiques et morphologiques pour exercer leurs fonctions. Ainsi que la liaison des LPS au récepteurs de surface 4 (TLR4) des monocytes et des macrophages déclenchant la surexpression et ensuite la sécrétion d'une variété de produits inflammatoires, y compris TNF- α , cyclooxygénase (COX-2) et IL-6 ainsi que des quantités élevées de nitrate oxyde (NO), qui contribuent à la pathophysiologie de conditions inflammatoires (Pinna *et al.*, 2004; Dubuquoy *et al.*, 2006; Hume, 2008; Bosani *et al.*, 2009 ; Desreumaux *et al.*, 2009) .

L'interleukine 6 (IL-6) est une cytokine qui joue un rôle central dans la régulation immunitaire et dans l'inflammation. La surproduction d'IL-6 a été trouvée dans de nombreux types de colites, dans laquelle elle exerce son effet pro-inflammatoire en grande partie par l'activation des signaux transducteurs et en tant qu'activateur de la transcription. Les macrophages activés par l'IL-6 et les cellules épithéliales du côlon sécrètent des cytokines inflammatoires, y compris le TNF- α et l'IL-1 β , qui contribuent au développement de la colite (Suzuki *et al.* 2001 ; Sanchez *et al.* 2008).

L'effet thérapeutique des alcaloïdes de *Fumaria* est associé à une réduction significative de l'expression de TNF- α et d'IL-6 par rapport au témoin colique (Modèle DNBS), ce qui présente la plus grande efficacité à des doses de 50 et 100 mg / kg. (Bribi *et al.*, 2016).

La présente étude a montré que les alcaloïdes de *Fumaria* ont un effet anti-inflammatoire intestinal significatif dans un modèle de colite expérimentale chez la souris, qui ressemble à la RCH humaine. Cette activité pourrait être associée à une modulation de la réponse immunitaire intestinale puisque l'AF a pu inhiber l'expression et/ou la libération de différents médiateurs pro-inflammatoires tels que TNF α , IL-6, ainsi que l'amélioration de l'intégrité de la barrière épithéliale. Cela peut être confirmé par l'étude menée par Bribi et ses collaborateurs en 2015, qui a démontré que les alcaloïdes totaux de *Fumaria* possèdent une activité anti-nociceptive contre la nociception associée à une inflammation chimiquement induite qui peut être liée à la richesse de cette plante en alcaloïdes isoquinoleiques tel que la protopine, le métabolite secondaire le plus actif sur le plan pharmacologique (Rathi *et al.*, 2008 ; Bribi *et al.*, 2015).

Les alcaloïdes de *Fumaria* (AF) inhiberaient la production et la libération du NO vu qu'elle a un impact sur l'expression de l'oxyde nitrique synthase inducible (iNOS) stimulée par les LPS qui est en corrélation avec la production de NO, dont la AF a réduit

l'augmentation de l'expression des enzymes (iNOS et COX-2) et produit une inhibition significative de la réaction de congestion induite par l'acide acétique par rapport au groupe témoin. Tout cela affirme l'effet anti-inflammatoire des alcaloïdes de *Fumaria*. (Xaus *et al.* 2000 ; Bribi *et al.* 2015).

Conclusion

Les plantes médicinales et leurs dérivés en métabolites secondaires, occupent de plus en plus une place de choix en thérapeutique et constituent de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit pour l'extraction et la purification de nouvelles molécules pour le traitement de diverses maladies chroniques telles que les MICI.

Le présent travail a porté sur l'évaluation de la toxicité aiguë et l'étude de l'activité anti-inflammatoire intestinale des extraits de *Fumaria*. Pour l'obtention des différents extraits, nous avons réalisé une extraction éthanolique par Soxhlet de la plante médicinale *Fumaria*, suivie d'un protocole d'extraction des alcaloïdes de *Fumaria*. Nous avons étudié la toxicité aiguë de ces deux extraits, d'un côté l'extrait éthanolique a prouvé la non toxicité même à de fortes doses avec une DL 50 supérieure 4000mg/kg, de l'autre côté, la fraction ammoniacale a dévoilé sa toxicité à une dose de 4000mg /kg.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des alcaloïdes de *Fumaria* administrés par voie orale a montré que cette plante possède des effets bénéfiques sur la colite expérimentale induite par l'acide acétique et un pouvoir pharmacologique en atténuant les caractéristiques morphologiques et histologiques de l'ulcération colite à une dose de 100mg/kg comparativement à celui assuré par le médicament de référence, le Dexaméthasone, ce qui soutient son usage traditionnel pour le soulagement de diverses affections inflammatoires.

Les résultats obtenus lors de cette étude sont intéressants, mais des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires de ces effets pour mieux comprendre le mécanisme d'action de ces alcaloïdes dont l'usage de la plante native reste jusque-là traditionnel et les utiliser en médecine moderne par la détermination des mécanismes d'interaction entre ces molécules et les cellules cibles après l'évaluation de la toxicité sub-chronique de ces molécules.

*Références
bibliographique*

Abadjian G, (2012). Pathologie générale. Inflammation et cicatrisation. Faculté de médecine –France.

Adjadj, M ; Baghiani, A; Boumerfeg, S; Noureddine, N; Khennouf, S; Lekhmici Arrar1, A; Mohammad S. Mubarak. (2016). Protective Effect of *Paronychia argentea* L. on Acetic Acid Induced Ulcerative Colitis in Mice by Regulating Antioxidant Parameters and Inflammatory Markers. *Der Pharma Chemica*, **8**: 207-218.

Baumgart, DC; Sandboun, WJ. (2007). Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. The *Lancet*. **369** : 1641-1657.

Benabdesselam, F; Chibane, M; Madani, K; Max, H; Adach, S. (2007). Determination of isoquinoline alkaloids contents in two Algerian species of *Fumaria* (*Fumaria capreolata* and *Fumaria bastardi*). *African Journal of Biotechnology*. **6** : 2487-2492.

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

Bougoffa, K. (2016). Caractérisation des fractions alcaloïdiques de *Fumaria agraria* et étude de leur pouvoir anticancéreux vis-a-vis de lignées cellulaires cancéreuses mammaires. Thèse de Doctorat en science. Université A.Mira, Faculté des Science de la Nature et de la vie, bejaia, 96p.

BOUNIHI, A. (2016). Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées). Thèse de Doctorat de Sciences du Médicament. Université Mohammed V, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat, 199p.

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

Bribi, N, Algieri, F ; Rodriguez-Nogales, A ; Garrido-Mesa, J ; Vezza, T ; Maiza, F ; Utrilla, MP ; Rodriguez-Cabezas, ME ; Galvez J. (2015). Antinociceptive and Anti-inflammatory effects of total alkaloid extract from *Fumaria capreolata*. *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. **2015**:1-7.

Bruneton, J. (1987). *Element de phytochimie et de pharmacongosie*. 1^{ere} Edit Lavoisier, Paris, pp. 224-228.

Chamaillard, M; Desreumaux, P. (2006). PPAR γ as a new therapeutic target in inflammatory bowel diseases. *Gut*. **55**: 1341-1349.

Conway, S. (2004). Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclearcytoplasmic shuttling of PPAR-gamma and rela. *Nature Immunology* **5**: 104-112.

Cortot, A; Peniton de chamrun, G; Verniie-Massouille, G ; Vigneron, B; Gower Rousseau, C. (2009). Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin : Maladies génétiques de l'environnement ?. *gastroenterologie Clinique e Biologique*. **33**: 681-691.

Coste H, (1937). *Flore descriptive et illustrée de la France, de la crose et des contrées limitrophes*. Edit Librairie des sciences et des Art, Paris, pp 191.

Crespo, MV; García-Mediavilla, M; Almar, P; González, MJ; Tuñón, S; Sánchez Campos, S; González-Gallego, J. (2008). Differential effects of dietary flavonoids on reactive oxygen and nitrogen species generation and changes in antioxidant enzyme expression induced by proinflammatory cytokines in Chang Liver cells. *Food and Chemical Toxicology*. **46**: 1555-1569.

De Vry, CG; Prasad, S; Komuves, L; Lorenzana, C; Parham, C; Le, T; Adda, S; Hoffman, J; Kahoud, N; Garlapati, R; Shyamsundar, R; Mai, K; Zhang, J; Muchamuel, T; Dajee, M; Schryver, B, McEvoy, L; Ehrhardt, R. (2007). Non-viral delivery of nuclear factor-kappab decoy ameliorates murine inflammatory bowel disease and restores tissue homeostasis. *Gut*. **56**. 524-533.

Desreumaux, P. (2004). Immunologie du tube digestif et maladie de Crohn. *Archive de Pediatrie*. **11** :539-541.

Desreumaux, P; Dubuquoy, L. (2009). Ppargamma agonists as a new class of effective treatment for ulcerative colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*. **15**: 959-960.

Dubuquoy, L.; Rousseaux, C.; Thuru, X; Peyrin-Biroulet, L; Romano, O; Chavatte, P;

Erpicum; Auster, E ; Germine, C et Coralie G. (2014). La rectocolite ulcero-hémorragique et la polypose colique. *province de namur*. 14p.

Goetz, P ; Ghedira, K ; Legeune, L. (2009). *Fumaria officinalis* (Fumariacées), matière médicinale pratique. *Phytothérapie*. **7**: 221-225.

Gossum, AV. (2007). Probiotiques et maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). *Nutrition clinique et métabolisme*. **21** : 81–84.

Henrotin, Y, Deby-Duponte, G; Reginster, JY. (2001). Les médiateurs biochimique de l'inflammation. *Rev Med Lieg*. **56** : 433-442.

Houghton, PJ; Raman, A. (1998). Laboratory Hand book for Fractionation of Natural Extracts. Chapman et Hall, Londres, 1ère éd., p29-31.

Hugot, JP. (2006). Allergie au médicament .test immunologique. john libbey eurotexte, paris, p : 5-10.

Hume, DH. (2008). Differentiation and heterogeneity in the mononuclear phagocyte system. *Mucosal Immunology*. **1**: 432–441.

Iwasa, K; Moriyasu, M; Yamori, T; Turuo, T ; Lee, DU ; Wiegred, W. (2001). Simple isoquinoline and benzylisoquinoline alkaloids as potential Antimicrobial, Antimalarial, Cytotoxic and Anti-HIV agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **9**: 2871-2884.

Kelly, D; Campbell, JI; King, TP; Grant, G; Jansson, EA; Coutts, AG; Pettersson, S;

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

Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de Doctorat Ecologie et Chimie des Substances Naturelles. Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, 343p.

Krishnan, M; Jayaraj, RL; Megala,J; Elangovan, N. (2004). Antioxidant mediated antiulcer effect of *Eupatorium triplinerve* Vahl against acetic acid induced ulcerative colitis in mice. *Biomedicine & Aging Pathology*. **4**: 153-160.

Kuby, J. (2003). Immunologie. 2^{ème} Edit Dunode, Paris, pp. 318.

Lamoril, J; Deybach ,JC; Bouizegarène, P. (2007). Maladie de Crohn et génétique : connaissances actuelles. *Immuno-analyse et biologie spécialisée*. **22**: 137-150.

Leclercq q. (2002). Le voyage insolite de la plante au médicament. *Journal de pharmacie de Belgique*. **57 HS 2**: 11-20.

Matricon, J. (2010). Immunopathogénèse des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *médecine/sciences*. **26**: 405-10.

Membled, B. (2006). Approche acupuncturale de la rectocolite hémorragique. *Acupuncture & Moxibustion*. **5**: 226-228.

Montbarbon, M. (2013). Régulation de la réponse inflammatoire intestinale par la fumée de cigarette : caractérisation des mécanismes cellulaires et moléculaires chez la souris. Thèse de doctorat en immunologie. Université Droit et Santé, Lille, 139p.

Morel, A. (2014). La maladie de crohn, epidemiologie, traitements actuels et en Developpement dont l'anticorps anti-integrine $\alpha 4\beta$.these de doctorat en pharmacie. Universite Joseph Fourier,Facule de Pharmacie,Grenoble, 98p.

Muniz, MN. (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (\pm) camptothécine. These de Doctorat en Chimie. Université Joseph Fourier, Grenoble, 181p.

Nancey, S ; Hacini, F ; Durand, P ; Milhau, N ; Kaiserlian, D; Flourié, B. (2008). Apport des modèles animaux d'inflammation intestinale dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Hepato-Gastro*. **15**: 33-41.

Nature Reviews Genetics. (2005). Genetics of Crohn disease, an archetypal inflammatory barrier disease.

Otari, KV; Gaikwad, PS; Shete, RV; Upasani, CD. (2012). Protective effect of aqueous extract of *Spinacia oleracea* leaves in experimental paradigms of inflammatory bowel disease. *Inflammopharmacology*. **20**: 277-287.

Pinna, GF; Fiorucci, M; Reimund, JM; Taquet, N; Arondel, Y;Muller, CD. (2004). Celastrol inhibits pro-inflammatory cytokine secretion inCrohn's disease biopsies. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **322**: 778-786.

Preininger, V. (1986). Chemotaxonomy of *Papaveraceae* and *Fumariaceae*. In Brossi A (Ed), the Alkaloids. Academic Press, New York. pp. 1-98.

Quezel, P ; Santa, S. (1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. *Edition 2*, p59.

Rahmouni, O ; Dubuquoy, L ; Desreumaux, P ; Neut, C. (2016). Microbiote intestinal et développement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. médecine/science. **32**: 968-73.

Sanchez-Munoz, F; Dominguez-Lopez, A; Yamamoto-Furusho, JK. (2008). Role of cytokines in inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol.* **14**: 4280-4288.

Seibold, F. (2015). Les maladies inflammatoires chroniques intestinales: la colite ulcéreuse et la maladie de Crohn. (Ed) suisse Association de la maladie de crohn et colite ulcéreuse. Aarau, p.1-14.

Shakil, A . (1998). Isolation and structural elucidation of chemical constituents from *Fumaria indica*, *Ferula oopoda* and *Withania somnifer*. These de Doctorat. International center for chemical recherche, university of Karachi.

Smith, AM ; Rahman, FZ ; Hayee B. (2009) Disordered macrophage cytokine secretion underlies impaired acute inflammation and bacterial clearance in Crohn's disease. *J Exp Med.* **206**: 1883-97.

Somani, SJ; Badgular, LB; Sutariya, BK; Saraf, MN. (2014). Protective effect of *Dillenia indica* L. on acetic acid induced colitis in mice. *Indian Journal of Experimental Biology.* **52**: 876-881.

Somani, SJ; Badgular, LB; Sutariya, LB; Saraf, MN. (2014). Beneficial Effects of THSG on Acetic Acid-Induced Experimental Colitis: Involvement of Upregulation of PPAR- γ and Inhibition of the Nf-Kb Inflammatory Pathway. *Indian Journal of Experimental Biology.* **52**: 876-881.

Sousék, J; Guédon, D ; Adam, T ; Bochorakova, H ; Taborska, E ; Valka, I ; Simanek, V. (1999). Alkaloids and organic acids content of eight *Fumaria* Species. *Phytochemical Analysis.* **10**: 6–11.

Suzuki, A; Hanada, T; Mitsuyama, K; Yoshida, T; Kamizono, S; Hoshino, T; Kubo, M; Takedatsu, H; Taylor, KD; Mei, L; McGovern, DP; Landers, CJ; Gonsky, R; Cong, Y; Vasiliauskas, EA; Ippoliti, A; Elson, CO; Rotter, JI; Targan, SR. (2009). Linkage of crohn's disease-related serological phenotypes: Nfkb1 haplotypes are associated with anti-cbir1 and asca, and show reduced nf-kappab activation. *Gut*. **58**: 60-67.

Wang, X; Zhao, L; Han, T; Chen, S; Wang, J. (2008). Protective effects of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-o-beta-d-glucoside, an active component of *Polygonum multiflorum* thunb, on experimental colitis in mice. *European Journal of Pharmacology*. **578**: 339-348.

Watterlot, L. (2010). Analyse des effets de souches probiotiques anti-inflammatoires. Thèse de doctorat de Microbiologie et Biologie Moléculaire. L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech, Paris, 191p.

Xaus, J; Comalada, M; Valledor, AF; Lloberas, J; López-Soriano, F; Argilés, J; Bogdan, C; Celada, A. (2000). LPS induces apoptosis in macrophages mostly through the autocrine production of TNF-alpha. *Blood*. **95**: 3823-3831.

Yamashita, A; Okabe, M; Takeda, K; Akira, S; Matsumoto, S; Toyonaga, A; Sata, M; Yoshimura, A. (2001). Cis3/socs3/ssi3 plays a negative regulatory role in stat3 activation and intestinal inflammation. *Journal of Experimental Medicine*. **193**: 471-481.

Zeng, C; Xiao, JH; Chang, MJ; Jia-Ling Wang, JL. (2011). Beneficial Effects of THSG on Acetic Acid-Induced Experimental Colitis: Involvement of Upregulation of PPAR- γ and Inhibition of the Nf-Kb Inflammatory Pathway. *Molecules*. **16**: 8552-8568.

Annexes

I.3.Appareillages et réactifs

Pour la mise au point d'une méthode de recherche dans le but d'étudier la toxicité aiguë et l'activité anti-inflammatoire de *Fumaria*, le matériel et les réactifs suivants ont été utilisés

- Une balance analytique de précision
- Agitateur magnétique
- Etuve
- pH mètre
- Soxhlet
- Seringue d'insuline et seringue de 5ml et 2,5ml
- Micropipette de 1000ul
- Ampoule à décanter
- Bêchers et entonnoirs en verre
- Spatule métallique
- Cages
- Sonde de gavage
- Ciseau et Pince
- Histo cassettes
- Automate de déshydratation
- Station d'enrobage
- Plaque refroidissante
- Plaque chauffante
- Microtome
- Lames et lamelles
- Ethanol à 96%
- Acide chlorhydrique (HCl) à 37%
- Ether de pétrole
- Ammoniaque
- Chloroforme
- Formol
- Acide acétique à 100%
- Eau physiologique
- Eau distillée
- Xylène
- Paraffine
- Alcool
- Hématoxyline
- Eosine
- Eukitt.

Résumé

Les fumeterres sont des plantes médicinales traditionnelles très utilisées pour traiter de nombreuses maladies. Ce travail a été consacré à l'extraction des alcaloïdes totaux et à la détermination de toxicité aiguë de l'extrait éthanolique et de la fraction ammoniacale de *Fumaria* et l'investigation de l'activité anti-inflammatoire de ses alcaloïdes sur un modèle de colite induite par l'acide acétique (5%) chez des souris albinos NMRI. L'étude de la toxicité aiguë a montré que l'extrait éthanolique de *Fumaria* est pratiquement non toxique avec une DL50 supérieure à 4000mg/kg et que la fraction ammoniacale est toxique à une dose de 4000mg/kg. L'étude de l'activité anti-inflammatoire a montré que les deux doses utilisées des alcaloïdes de *Fumaria* ont inhibé de manière significative l'inflammation induite.

Mots clés

Fumeterres, alcaloïdes, toxicité aiguë, anti-inflammatoire, acide acétique.

Summary

The *Fumaria* are traditional medicinal plants that are widely used to treat many diseases. This work was devoted to the extraction of the total alkaloids and to the determination of acute toxicity of the ethanol extract and the ammoniac fraction of *Fumaria* and the anti-inflammatory activity of the alkaloids on a model of colitis induced by the acetic acid (5%) in NMRI albino mice. The acute toxicity study showed that the ethanolic extract of *Fumaria* was practically non-toxic with a DL50 greater than 4000mg/kg and that the ammonia fraction is toxic at a dose of 4000mg / kg. The study of anti-inflammatory activity showed that the two doses used of *Fumaria* alkaloids inhibited significantly the induced inflammation.

Key words

Fumaria, alkaloids, acute toxicity, anti-inflammatory, acetic acid.

ملخص

تعتبر الفوماريا نوع من النباتات الطبية التقليدية التي تستخدم على نطاق واسع في مجال الطب لعلاج العديد من الأمراض لما تحتويه من القلويدات الأيزوكينونية و لهذا كرس هذا العمل على استخلاص القلويدات الكلية الموجودة فيها و دراسة نشاطها كمضاد للالتهابات في نموذج التهاب القولون المفتعل عند فئران باستعمال حمض الخل (5%) وتقييم السمية الحادة لكلا من مستخلص الأيثانول و جزء الامونيا لنبتة الفوماريا في الجسم الحي.

اظهر التقييم ان مستخلص الأيثانول لا يحتوي على مفعول سام في جرعات كبيرة قدرت ب 4000مغ/كغ، بينما ثبت ان جزء الامونيا سام عند جرعة قدرت ب 4000مغ/كغ في حين اثبتت دراسة مدى مفعول مضاد الالتهابات للقلويدات الكلية نتيجة ايجابية و فعالة ضد التهاب القولون المفتعل ب حمض الخل بالمقارنة بمضاد الالتهابات ديكزاميثازون مع ملاحظة ان الجرعة 100مغ/كغ تملك مفعولا اقوى مقارنة بجرعة 50مغ/كغ .

الكلمات المفتاحية :

الفوماريا ، القلويدات، السمية الحادة، مضاد الالتهابات، حمض الخل.

*Matériel et
méthodes*

Résultats et discussions