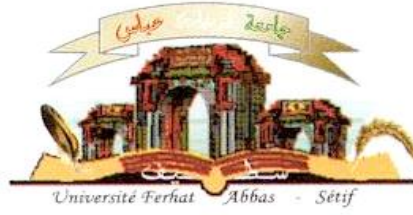


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

N°...../SNV/2016013

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

THÈSE

Présentée par

**AICHOOR Ridha**

Pour obtenir le diplôme de **Doctorat en Sciences**

Filière : **Sciences Biologiques**

Option : **Biochimie**

THÈME

**Effets immunomodulateurs sur les lymphocytes humains  
et hépatoprotecteur des extraits de *Capparis spinosa***

Soutenue publiquement le .../.../2017

Devant le Jury

Président :	<b>BAGHIANI Abderrahmane</b>	<b>Professeur</b>	<b>UFA Sétif 1</b>
Directeur:	<b>ARRAR Lekhmici</b>	<b>Professuer.</b>	<b>UFA Sétif 1</b>
Examineurs:	<b>LAROUI Salah</b>	<b>Professeur</b>	<b>Univ Batna</b>
	<b>ABDENNOUR Cherif</b>	<b>Professeur</b>	<b>Univ Annaba</b>
	<b>BOUMERFEG Sabah</b>	<b>MCA</b>	<b>Univ BBA</b>

# *Dédicaces*

*Mes très chers Parents,*

*Vous qui avez toujours cru en moi et su me redonner confiance lorsque la motivation n'était plus au rendez-vous. Acceptez ce travail comme le témoignage de mon profond amour et mon attachement indéfectible*

*A la mémoire de baba, mâ el hadja et mon frère Khaled*

*A mon épouse Karima*

*A mon frère Samir et mes chères sœurs*

*A mes enfants,*

*Je dédie cette thèse*

## REMERCIEMENTS

J'exprime d'abord mes profonds remerciements à **Allah** le tout puissant de m'avoir accordé la force et la patience d'aller jusqu'au bout de mon rêve et le bonheur d'achever ce travail.

J'adresse mes remerciements les plus sincères à mon promoteur **Pr. Lekhmici ARRAR** qui a guidé, surveillé le déroulement et l'exécution du travail de cette thèse en me prodiguant toute aide disponible, et en me consacrant de son temps précieux.

Mes remerciements vont également à **Pr. Janos Filep** de l'Université de Montréal, qui m'a accueilli au sein de son laboratoire. Son esprit scientifique et ses critiques approfondies ont grandement contribué à améliorer la qualité de ce travail.

Mes sincères remerciements vont au Professeur **Abderrahmane BAGHIANI** pour son aide précieuse et d'avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

J'aimerais également remercier Professeur **LAROUÏ Salah**, Université de Batna, Professeur **ABDENNOUR Cherif**, Université de Annaba et Docteur **BOUMERFEG Sabah**, Université de Bordj Bou Arreridj, pour avoir accepté de faire partie de ce jury.

Je tiens à remercier spécialement **Dr Nouredinne CHAREF** pour son aide et conseils tout le long de ce travail de thèse et **Dr Nadia DJENANE** pour sa générosité et d'avoir aimablement fourni les extraits pour mes essais préliminaires.

Je remercie vivement **Dr Samira ELMOUALIDJ**, **Salima HOUSINI** ainsi que tous les techniciens et stagiaires du laboratoire d'immunologie et de biochimie de l'Université de Montréal pour leur aide précieuse dans la réalisation et l'interprétation de mes résultats.

Je remercie chaleureusement mon ami **Habibe KHOUNI** et mes collègues de travail le **Dr Imane KRACHE**, le **Dr Naouel BOUSSOUALIM**, **Thoraya GUEMMAZ** pour leur aide morale et matérielle.

## Résumé

Le présent travail vise à évaluer les propriétés pharmacologiques d'extraits de *Capparis spinosa* telles que les effets antioxydant, immunomodulateur, hépatoprotecteur, anti-inflammatoire et analgésique. L'évaluation du pouvoir antioxydant *in vitro* par le test au DPPH a montré que les extraits des feuilles (CSLE) et fruits (CSFE) de *C. spinosa* ont une forte activité antioxydante avec une IC<sub>50</sub> de 28.80 et de 31.15 µg/ml, respectivement. Dans la méthode de l'inhibition de l'oxydation de β-carotène/acide linoléique, CSFE et CSLE ont présenté des taux d'inhibition (I %) de 70.04 % et 84.88 %, respectivement. L'effet des extraits méthanoliques de *C. spinosa* sur le système immunitaire est évalué en appliquant plusieurs approches. L'administration de ces extraits à des doses de 100 et 200 mg/kg a produit une augmentation significative du titre d'anticorps anti-globules rouges de moutons, de la réponse d'hypersensibilité retardé (DTH), et du nombre des lymphocytes T par le test de rosette chez les souris. Ces extraits ont également amélioré le niveau total des globules blancs dans le modèle de la myélosuppression induite par le cyclophosphamide. Dans le test de clearance de carbone, l'indice phagocytaire augmente significativement en présence des deux extraits méthanoliques. D'autre part, leur utilisation, *in vitro*, à la concentration de 400 µg/ml stimule considérablement la prolifération des lymphocytes T en présence de mitogènes. En outre, ils induisent une augmentation significative de la sécrétion de l'IL-2. En plus de ces activités importantes, les deux extraits (400 mg/kg, p.o.) ont révélé une hépatoprotection significative objectivée par un pourcentage de réduction notable des marqueurs biochimiques enzymatiques notamment les transaminases (ASAT et ALAT), la phosphatase alcaline (PAL) et la bilirubine. Ce potentiel hépatoprotecteur est également confirmé à travers l'étude histologique. L'activité anti-inflammatoire est menée *in vivo* sur des œdèmes induits par la Carragénine chez les souris, suivi *in vitro* par le test de stabilisation de la membrane plasmique et le test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine. A la dose de 400 mg/ml, les deux extraits ont montré une réduction significative de l'œdème dans les phases précoces et tardives de l'inflammation aiguë, maximale à 6 h après l'induction de l'inflammation. A la concentration de 400 µg/ml, le CSFE et le CSLE présentent une protection significative de la membrane érythrocytaire *vis-à-vis* de la lyse induite par la chaleur (34.4% et 28.4%, respectivement) et celle induite par l'hypotonie (58.9% et 72.8%, respectivement). Également, ils ont montré une action protectrice significative avec un pourcentage maximal de l'inhibition de la dénaturation de l'albumine de 51.78% et 51.12%, respectivement. L'étude *in vivo* a montré un effet analgésique périphérique du type acide acétylsalicylique significatif à la dose 200 mg/kg avec des pourcentages d'inhibition de 39.85% et 45.84%, respectivement pour le CSFE et le CSLE, effet comparable à celui de l'acide acétylsalicylique. Les résultats obtenus de cette recherche supportent l'application traditionnelle de la plante. De plus, les extraits méthanoliques de *Capparis spinosa* ont montré un potentiel immunostimulant qui pourrait constituer une base pharmacologique pour son efficacité thérapeutique contre les immunodéficiences

**Mots clés :** Immunomodulation, Hépatoprotection, anti- inflammation, analgésique, *Capparis spinosa*, extraits méthanolique, antioxydants

## Abstract

The present work aims to evaluate the pharmacological properties of extracts of *Capparis spinosa* such as antioxidant, immunomodulatory, hepatoprotective, anti-inflammatory and analgesic effects. The evaluation of the antioxidant potential *in vitro* by the DPPH test showed that the extracts of the leaves (CSLE) and fruits (CSFE) of *C. spinosa* have a strong antioxidant activity with an IC<sub>50</sub> of 28.80 and 31.15 g / ml, respectively. In the method of inhibiting the oxidation of β-carotene/linoleic acid, CSFE and CSLE presented an inhibition rate (I%) of 70.04% and 84.88%, respectively. The effect of methanolic extracts of *C. spinosa* on the immune system is evaluated by applying several approaches. The administration of these extracts at doses of 100 and 200 mg / kg result in a significant increase in titer of anti-sheep red blood cell antibodies, delayed type hypersensitivity response (DTH), and the number of T lymphocytes by the rosette test in mice. These extracts also enhanced the level of total white blood cells in cyclophosphamide-induced myelosuppression model. In carbon clearance test, the phagocytic index increased significantly in the presence of both methanolic extracts. On the other hand, their use, *in vitro*, at a concentration of 400 mg / ml stimulated significantly the proliferation of T cells in the presence of mitogens. In addition, they induced a significant increase in the secretion of IL-2. In addition to these important activities, both extracts (400 mg / kg, po) showed a significant hepatoprotection objectified by a significantly reduced levels of enzymatic biochemical markers including transaminases (AST and ALT), alkaline phosphatase (ALP) and bilirubin. This hepatoprotective potential is also confirmed through histology. The anti-inflammatory activity is carried out *in vivo* on edema induced by carrageenan in mice followed by *in vitro* tests of the stabilization of the plasma membrane and the inhibition of the denaturation of albumin. At a dose of 400 mg / ml, both extracts showed significant reduction of edema in the early and late phases of acute inflammation with a maximal effect at 6 hours after induction of the inflammation. At the concentration of 400 mcg / ml, the CSFE and CSLE exhibited significant protection of erythrocyte membrane against the lysis induced by heat (34.4% and 28.4%, respectively) and induced hypotonicity (58.9% and 72.8%, respectively). Also, they showed a significant protective effect, with a maximum percent inhibition of the denaturation of albumin (51.78% and 51.12%, respectively). On the other hand, the study of the *in vivo* showed a significant peripheral analgesic effect, acetylsalicylic acid type with the dose of 200 mg / kg with inhibition percentages of 39.85% and 45.84%, respectively for CSFE and CSLE, comparable to that of acetylsalicylic acid. The results of this research support the traditional application of the plant. In addition, the methanol extracts of *Capparis spinosa* showed an immunostimulatory potential which could be a pharmacological basis for their therapeutic efficacy against immunodeficiencies.

**Keywords:** Immunomodulation, hepatoprotection, anti-inflammatory, analgesic, *Capparis spinosa*, methanolic extracts, antioxidants

## ملخص

يهدف هذا العمل لتقييم الخصائص الدوائية لمستخلصات الكبار (*Capparis spinosa*) كمضادات الأكسدة ومعدلات مناعية، وواقية للكبد ومضادة للالتهابات وتأثيرات مسكنة للألام. أظهر تقييم النشاطية المضادة للأكسدة في المختبر عن طريق اختبار DPPH أن مستخلصات أوراق (CSLE) وفواكه (CSFE) الكبار تملك نشاطا قويا مضادا للأكسدة مع  $IC_{50} = 28.80$  و  $31.15$  مغ / مل، على التوالي. في طريقة تثبيط أكسدة  $\beta$  كاروتين / حمض اللينوليك، بين CSFE و CSLE معدل تثبيط ( $I\%$ )  $= 70.04\%$  و  $84.88\%$  على التوالي. تم تقييم تأثير المستخلصات الميثانولية للكبار على جهاز المناعة من خلال تطبيق عدة طرق. أدى الحقن بالمستخلصين بجرعتي 100 و 200 مغ / كغ إلى زيادة كبيرة في معيار الأجسام المضادة لكريات الدم الحمراء للخروف، وتثبيط فرط الحساسية (DTH)، وزيادة عدد اللفوايات التائية. كما عززت هذه المستخلصات مستوى مجموع خلايا الدم البيضاء في نموذج كبت نقي العظم الناجم عن سيكلوفوسفاميد. في اختبار تصفية الكربون، ارتفعت القدرة على البلعمة بشكل كبير في وجود المستخلصين. من ناحية أخرى، فإن استعمال المستخلصات، في المختبر، بتركيز 400 ميكروغرام / مل حفز بشكل كبير نمو الخلايا التائية في وجود مولدات الانقسام، كما أدت إلى زيادة كبيرة في إفراز IL-2. وبالإضافة إلى هذه الأنشطة الهامة، بينت النتائج أن مستخلصات الكبار (400 مغ / كغ) قدرة معتبرة على حماية الكبد وذلك بخفض كبير في مستويات المؤشرات الحيوية الأنزيمية بما في ذلك الترانساميناز (AST و ALT)، الفوسفاتاز القاعدي (ALP) والبيليبروبين. وتؤكد حماية كبد أيضا من خلال المقاطع النسيجية. من جهة أخرى، تمت دراسة النشاط المضاد للالتهاب في الكائن الحي على الودمة الناجمة عن الكاراجينان في الفئران تليها في المختبر اختبارات استقرار غشاء البلازما وتثبيط تغيير الطبيعة لألبومين المصل بجرعة 400 ملغ / مل، وأظهر المستخلصين انخفاضا كبيرا في الودمة في المراحل المبكرة والمتأخرة من الالتهاب الحاد مع وجود تأثير أقصى بعد 6 ساعات من تحريض الالتهاب. أدى استعمال التركيز 400 ميكروغرام / مل من CSFE و CSLE إلى حماية كبيرة لغشاء كرات الدم الحمراء ضد الإنحلال الناجم عن الحرارة ( $34.4\%$  و  $28.4\%$  على التوالي) ونقص الضغط ( $58.9\%$  و  $72.8\%$  على التوالي). كما أنها أظهرت تأثيرا وقائيا كبيرا ضد بغير طبيعة ألبومين المصل مع حد أقصى للتثبيط مقدر ب  $51.78\%$  و  $51.12\%$  على التوالي. من ناحية أخرى، أظهرت الدراسة في الكائن الحي تأثيرا مسكنا للألام من النوع acetylsalicylic acid بالجرعة 200 ملغ / كغ من CSFE و SCEA مع نسب تثبيط  $39.85\%$  و  $45.84\%$  على التوالي، مماثلة لتلك المحصل عليها باستعمال acetylsalicylic acid. تدعم نتائج هذا البحث التطبيق التقليدي للكبار. وبالإضافة إلى ذلك، أظهرت مستخلصات الميثانول لنبات *Capparis spinosa* إمكانات محفزة للمناعة ويمكن أن تكون أساسا لدراسات دوائية لاستعمالات الكبار في حالات أمراض نقص المناعة.

**الكلمات المفتاحية:** المعدلات المناعية، حماية الكبد، المضادة للالتهاب، *Capparis spinosa*، المستخلصات الميثانولية، ومضادات الأكسدة

## Liste des abréviations

ADCC	Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity
ALAT	Alanine Aminotransferase
ANOVA	Analyse de variance
AP-1	Activator protein-1
ASAT	Aspartate Aminotransferase
BCRB	Cell Receptor
BHT	Hydroxytoluenebutyle
CAT	Catalase
CD	Cluster of differentiation
CMH (MHC)	Major Histocompatibility Complex
Con A	Concanavaline A
COX	Cyclooxygenase
CSFE	<i>Capparis spinosa</i> fruits extract
CSLE	<i>Capparis spinosa</i> leaf extract
CYP2E1	Cytochrome P450 2E1
DMEM	Dulbecco modified eagle medium
DMSO	Dimethylsulfoxyde
DPPH	diphenyl picryl hydrazyl
DTH	Delayed-Type Hypersensitivity
EGTA	Ethylen glycol tetra acetic acid
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FBS	Fetal bovine serum
GPx	Glutathion peroxidase
GSH	Reduced glutathione
GSSG	Oxidized glutathione
HA	Hemagglutination
HepG2	Hepatoblastoma G2
HLA	Human Leukocyte Antigen
HT29	The human colon adenocarcinoma cell line
IC <sub>50</sub>	The half maximal inhibitory concentration
IL	Interleukine
INF	Interferon
IκB	Nuclear factor of kappa-light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor
LTB4	LeukotrieneB4
MCF-7	Michigan Cancer Foundation-7

MTT	Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide
N.M.R.I	Naval Medical Research Institute
NASH	Non-alcoholic steatohepatitis
NF- $\kappa$ B	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells
NK	Natural Killer cells
NSAIDs	Nonsteroidal anti-inflammatory drugs
ONAB	Office National des Aliments de Bétails
P.O	Per os
PAF	Platelet activating factor
PAL (ALP)	Alkaline Phosphatase
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell
PBS	Phosphate buffer saline
PGE1	Prostaglandine E1
PGE2	Prostaglandine E2
PHA	Phytohemagglutinine
PNE	Polynuclear eosinophil
PNN	Polynuclear neutrophil
PP2B	Protein phosphatase2B
ROS	Reactive oxygen species
RPM	Rotation per minute
SAIDs	steroidal anti-inflammatory drugs
SGOT	Serum glutamic oxalo acetic transaminase
SGPT	Serum glutamic pyruvic transaminase
Sily	Silymarine
SOD	Superoxyde Dismutase
SRBC	Sheep Red Blood Cells
TCGF	Tcell growth factor
TCR	Tcell receptor
TNF	Tumor Necrosis Factor
Tween	Polyethylene glycol sorbitan monooleate
UDPG	Uridine diphospho-glucuronosyl transferase
VLDL	Very low-density lipoprotein
WBCs	White Blood Cells



# Sommaire

INTRODUCTION GÉNÉRALE .....	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. Inflammation.....	4
1.1. Phases de l'inflammation aigue .....	4
1.1.2. Phase cellulaire.....	7
1.1.3. Phase de réparation.....	8
1.2. Principaux médiateurs de l'inflammation.....	8
1.3. Traitement anti-inflammatoire .....	11
1.3.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens .....	11
1.3.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens .....	13
1.3.3. Effets indésirables des anti-inflammatoires .....	14
1.3.4. Les anti-inflammatoires d'origine végétale.....	15
2. Système immunitaire.....	16
2.1. Leucocytes.....	18
2.2. Macrophages .....	19
2.3. Cellules NK .....	19
2.4. Lymphocytes .....	20
2.5. Cytokines.....	22
3. Immunomodulation .....	22
3.1. Immunomodulateurs .....	23
3.2. Effet des plantes sur la réponse immunitaire .....	24
3.3. Exemples d'immunomodulateurs naturels.....	24
3.3.1. Alcaloïdes.....	26
3.3.2. Terpénoïdes .....	26
3.3.3. Lectines .....	27
3.3.4. Phénols et quinones.....	27
3.4. Mécanismes d'action des immunosuppresseurs .....	28
4. Hépatotoxicité et hépatoprotection .....	29
4.1. Rôle du foie dans la détoxification .....	29
4.2. Hépatotoxicité.....	30

4.2.1. Mécanismes de l'hépatotoxicité .....	31
4.4.2. Hépatoprotection par les plantes .....	36
5. Activité antioxydante .....	37
6. Activité analgésique .....	40
6.1. Notion de physiologie de la douleur .....	40
6.2. Différents types de nocicepteurs .....	40
6.3. Gestion de la douleur .....	41
6.3.1. Analgésiques opioïdes .....	41
6.3.2. Analgésiques non morphiniques .....	42
6.4. Les analgésiques d'origine végétale .....	43
7. <i>Capparis spinosa</i> .....	43
7.1. Classification botanique.....	44
7.2. Composition chimique de la plante .....	45
7.4. Activités biologiques du câprier .....	48

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Matériels.....	55
1.1. Matériel végétal .....	51
1.2. Animaux.....	51
1.3. Sang humain .....	52
2. Méthodes .....	52
2.1 Préparation des extraits .....	52
2.2. Évaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	52
2.2.1. Test au DPPH.....	53
2.2.2. Test de $\beta$ -carotène/acide linoléique .....	54
2.3. Activité immunomodulatrice .....	54
2.3.1. Isolation des lymphocytes humains sur Ficoll-hypaque .....	54
2.3.2. Comptage des cellules .....	55
2.3.3. Test de Prolifération des lymphocytes .....	56
2.3.4. ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay).....	56
2.3.5. Préparation des globules rouges de mouton .....	57
2.3.6. Évaluation de la réponse humorale (production des anticorps).....	58
2.3.7. Hypersensibilité retardée induite par les hématies de mouton.....	58
2.3.8. Clearance de l'encre de Chine .....	59

2.3.9. Myélosuppression induite par le cyclophosphamide .....	60
2.3.10. Evaluation des lymphocytes T par la technique de rosette .....	60
2.4.1. Inflammation aiguë induite par la carragénine chez les souris .....	61
2.4.2. Effet anti-hémolytique .....	63
2.4.2.1. Préparation des hématies .....	63
2.4.2.2. Hémolyse induit par la chaleur.....	63
2.4.2.4. Inhibition de la dénaturation de l'albumine.....	64
2.5. Activité analgésique .....	65
2.5.1. Test de torsion.....	65
2.5.2. Test d'immersion de la patte des souris .....	66
2.6. Activité hépatoprotectrice in vivo.....	66
2.7. Analyses statistique.....	68

## RESULTATS ET DISCUSSION

1. Activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	75
1.1. Effet scavenger du radical DPPH .....	69
1.2. Test du blanchissement du $\beta$ -carotène .....	71
2. Effet hépatoprotecteur .....	74
2.1 Effet de <i>C. Spinosa</i> sur le poids corporel et le poids relatif du foie .....	74
2.2. Effet des extraits méthanolique sur les paramètres biochimiques .....	78
2.3 Histologie.....	82
3. Activité immunomodulatrice.....	91
3.1 Effet immunomodulateur <i>in vitro</i> .....	85
3.2.1 Effet sur la réponse humorale.....	89
3.2.2. Effet de <i>C. spinosa</i> sur la réponse d'hypersensibilité retardée (DTH).....	91
3.2.3 Test de Clearance de carbone.....	93
3.2.4 Evaluation des lymphocytes T par la technique de rosette.....	95
3.2.5 Effet de <i>C. spinosa</i> sur les souris traitées par la cyclophosphamide .....	97
4. Activité anti-inflammatoire .....	99
4.1. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> .....	99
4.2 Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> ( <i>Effet sur la stabilité de la membrane érythrocytaire</i> ) .....	102

4.2.1 Hémolyse induite par la chaleur.....	102
4.2.2. Hémolyse induite par l'hypotonicité .....	103
5. Activité antalgique .....	107
5.1. Effet analgésique central.....	107
5.2. Action analgésique périphérique.....	108
Conclusion et perspective.....	110
Références Bibliographiques .....	113

## Listes de figures

<b>Figure. 1:</b> Formation du transudat et d'exsudat (Kumar <i>et al.</i> , 2007).....	6
<b>Figure. 2:</b> Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (Janeway <i>et al.</i> , 2009) .....	12
<b>Figure. 3:</b> mécanisme d'action des NSAIDs (Jean-François, 2001). .....	13
<b>Figure. 4:</b> schéma simplifié du système immunitaire. Tc, Lymphocytes T cytotoxiques; Th, Lymphocytes T auxiliaires (Volman <i>et al.</i> , 2008). .....	18
<b>Figure. 5:</b> Mécanisme d'hépatotoxicité de CCl <sub>4</sub> . Adopté de Timbrel (2009).....	33
<b>Figure. 6:</b> <i>Capparis spinosa</i> . A : Feuilles, B : Fruits.....	51
<b>Figure. 7:</b> Graphique montrant le changement de couleur de DPPH du violet au jaune quand il est exposé à une substance antioxydante (Pérez et Aguilar, 2013).....	53
<b>Figure. 8:</b> isolement des lymphocytes du sang de souris par centrifugation sur Ficoll-Hypaque. ....	61
<b>Figure. 9:</b> Activité antiradicalaire des extraits des <i>Capparis spinosa</i> des extraits méthanoliques de fruits (CSFE) et de feuilles (CSLE). Chaque valeur représente la moyenne de trois essais $\pm$ SEM. ....	71
<b>Figure. 10:</b> L'activité antioxydante exprimée en % d'inhibition e la peroxydation de l'acide linoléique en absence et en présence des extraits de <i>Capparis spinosa</i> et du BHT, MeOH, H <sub>2</sub> O. Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ SD de trois essais.....	72
<b>Figure. 11:</b> Pourcentage d'inhibition du blanchissement de $\beta$ -carotène après 24 heures par les extraits de <i>Capparis spinosa</i> , le BHT et les contrôles négatifs. Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ SD (n = 3) ; * p < 0.05 *** p < 0.001, comparées avec BHT.....	72
<b>Figure. 12:</b> Effet de l'extrait de feuilles de <i>C. Spinosa</i> (CSLE) sur le poids corporel des souris. Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ SEM (n = 6). Sily : Silymarine.....	75
<b>Figure. 13:</b> Effet de l'extrait de fruits de <i>C. Spinosa</i> (CSFE) sur le poids corporel des souris. Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ SEM (n = 6). Sily : Silymarine. ....	75
<b>Figure. 14:</b> Effet du prétraitement de l'extrait de fruits sur le poids relatif des souris intoxiqué par le CCl <sub>4</sub> . Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne $\pm$ SEM (n = 6). Les Animaux sont traités avec l'extrait ou la Silymarine (Sily) pendant 5 jours avant le traitement avec CCl <sub>4</sub> . ....	77
<b>Figure. 15:</b> effet du prétraitement de l'extrait de feuilles sur le poids relatif des souris intoxiqué par le CCl <sub>4</sub> . Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne $\pm$ SEM (n = 5). Animaux ont été traités avec l'extrait ou le silymarine (Sily) pendant 5 jours avant le traitement par le CCl <sub>4</sub> .....	77

- Figure. 16:** Effet de l'extrait de feuilles sur le niveau de l'ASAT des souris traitées avec CCl<sub>4</sub>. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM (n = 6). ++ p < 0,01 par rapport au témoin normal; \*\* p < 0,01, par rapport ou contrôle CCl<sub>4</sub>. Sily : Silymarine. .... 79
- Figure. 17:** Effet de de l'extrait de feuilles sur le niveau de l'ALAT des souris traitées avec CCl<sub>4</sub>. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM (n = 5). ++ p < 0,01 par rapport au témoin normal; \*\* p < 0,01, par rapport ou contrôle CCl<sub>4</sub>. .... 79
- Figure. 18:** Effet de l'extrait de fruits sur le niveau de l'ALAT des souris traitées avec CCl<sub>4</sub>. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM (n = 6). ++ p < 0,01 par rapport au témoin normal; \*\* p < 0,01, par rapport ou contrôle CCl<sub>4</sub>. Sily : Silymarine. .... 81
- Figure. 19:** Effet de de l'extrait de fruits sur le niveau de l'ASAT des souris traitées avec CCl<sub>4</sub>. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM (n = 6). ++ p < 0,01 par rapport au témoin normal; \*\* p < 0,01, par rapport ou contrôle CCl<sub>4</sub>. Sily : Silymarine. .... 81
- Figure. 20:** Effet de l'extrait méthanolique de *Capparis spinosa* sur la structure histologique du foie chez les souris traitées par le CCl<sub>4</sub>. A : lot souris normales, B : Lot CCl<sub>4</sub>, C : Lot 400 mg/kg de CSLE+ CCl<sub>4</sub>, D: Lot 400 mg/kg de CSFE+ CCl<sub>4</sub> , E : Lot silymarine+ CCl<sub>4</sub>. DG: Dégénérescence graisseuse du foie; Inf: inflammation par les granulocytes; N: Nécrose..... 84
- Figure. 21:** Prolifération des lymphocytes par les extraits méthanoliques de fruits et de feuilles de *Capparis spinosa* en présence de Con A (10 $\mu$ g/ml). Les cellules sont incubées pendant 72h à 37 C<sup>o</sup> et à 5% de CO<sub>2</sub>. La détermination de la prolifération lymphocytaire est réalisée par la méthode du MTT. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD de quatre expériences indépendantes. \*p<0.05 et \*\* p<0.01 sont comparés au contrôle Con A (10  $\mu$ g/ml)..... 86
- Figure. 22:** Effets de l'extrait de feuilles et de fruits de *Capparis spinosa* sur la production d'IL-2 par les lymphocytes in vitro. Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  SEM. Les incubations sont réalisées en triples chez quatre (4) sujets volontaires. \*\*P < 0.01 en comparant avec le contrôle Concanavaleine A (10 $\mu$ g/ml). .... 87
- Figure. 23:** Effet de l'extrait méthanolique de feuilles de *Capparis spinosa* sur les SRBC des moutons. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM (n = 6). \*\*\* P < 0,001 ..... 90
- Figure. 24:** Effet de l'extrait méthanolique de fruits de *Capparis spinosa* sur les SRBC des moutons. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM (n = 6). \*\* P < 0,01 ..... 90
- Figure. 25:** Effet de l'extrait méthanolique de fruits de *Capparis spinosa* sur l'hypersensibilité de type retardé (DTH) des souris immunisées par les globules rouges des moutons (SRBC). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM (n = 6). \* P < 0,05 ..... 91
- Figure. 26:** Effet de l'extrait méthanolique de feuilles de *Capparis spinosa* sur l'hypersensibilité de type retardé (DTH) des souris immunisées par les globules rouges des moutons (SRBC). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM (n = 6). \* P < 0,05 ..... 92

- Figure. 27:** Effet de l'extrait de fruits de *Capparis spinosa* sur l'activité phagocytaire par le test de clearance de carbone. Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  SEM (n=6). \*\* P < 0,01 ..... 94
- Figure. 28:** Effet de l'extrait de feuilles de *Capparis spinosa* sur l'activité phagocytaire par le test de clearance de carbone. Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  SEM (n=6). \*\* P < 0,01 ..... 94
- Figure. 29:** Effet de l'extrait méthanolique de fruits de *Capparis spinosa* sur le taux des lymphocytes formant des rosettes avec les globules rouges des moutons. Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  SEM (n=6). \*\* P < 0,05 ..... 96
- Figure. 30:** Effet de l'extrait méthanolique de fruits de de *Capparis spinosa* sur le taux des lymphocytes formant des rosettes avec les globules rouges des moutons. Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  SEM (n=6). \*\* P < 0,01 ..... 97
- Figure. 31:** Action analgésique centrale des extraits méthanoliques de fruits (CSFE) et de feuilles (CSLE) de *Capparis spinosa* (100 et 200 mg/kg) chez la souris. S.morph : sulfate de morphine. .... 107

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Récapitulatif des médiateurs solubles de l'inflammation (Rousselet <i>et al.</i> , 2005) .....	11
<b>Tableau 2 :</b> Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-inflammatoires (Barnes, 1998). .....	15
<b>Tableau 3:</b> Les différents types des espèces réactives (Fontaine, 2009). .....	38
<b>Tableau 4 :</b> Quelques plantes médicinales à activité analgésique .....	43
<b>Tableau 5:</b> Classification botanique de <i>Capparis spinosa</i> L. ....	44
<b>Tableau 6:</b> Effet des extraits de feuilles et de fruits du <i>capparis spinosa</i> sur les paramètres biochimiques des différents groupes intoxiqué par CCl <sub>4</sub> . .....	80
<b>Tableau 7:</b> L'effet des extraits méthanoliques fruits et feuilles de <i>Capparis spinosa</i> sur les souris induites par la cyclophosphamide. ....	98
<b>Tableau 8:</b> Effet d'extrait méthanolique de feuilles et de fruits de <i>Capparis spinosa</i> sur l'œdème de la patte (en mm) induit chez la souris par l'injection de la carragénine....	100
<b>Tableau 9:</b> Effet d'extrait méthanolique des feuilles et des fruits de <i>Capparis spinosa</i> sur l'œdème induit chez la souris par l'injection de la carragénine (Pourcentage d'inhibition) .....	101
<b>Tableau 10:</b> Effet de <i>C.spinosa</i> sur l'hémolyse induite par la chaleur des globules rouges humains. ....	103
<b>Tableau 11:</b> Effet de <i>C.spinosa</i> sur l'hémolyse des globules rouges humains induite par une solution hypotonique. ....	104
<b>Tableau 12:</b> Effet de <i>Capparis spinosa</i> sur la dénaturation de l'albumine provoquée par la chaleur. ....	106
<b>Tableau 13:</b> Activité antalgique de l'extrait méthanolique, fruits et feuille, de <i>C. spinosa</i> contre les torsions provoquées par l'acide acétique : «Writhing test».....	108



# Introduction générale

## **Introduction générale**

L'utilisation des plantes dans la médecine est une pratique très lointaine. Les Preuves écrites de l'ingéniosité de l'homme dans l'utilisation de ces plantes pour le traitement de diverses maladies sont présentés par les anciens Chinois, les Indiens, et les Nord-Africains (Phillipson, 2001). Ces plantes ont été au commencement employées sans modification, puis comme des extraits concentrés pour augmenter leur efficacité ou en tant que forme sèche pour les garder pendant de plus longues périodes avec moins de dégradation. Pendant les années 1900, les gens ont appris comment isoler les composés actifs des plantes médicinales.

Un grand nombre de plantes de la médecine traditionnelle sont utilisées pour traiter des maladies, y compris les infections, les troubles immunologiques et le cancer (Ganju *et al.*, 2003). Ceci est basé sur la capacité des plantes à moduler efficacement les fonctions immunitaires, pouvant ainsi promouvoir la santé positive et maintenir la résistance de l'organisme à l'infection (Jayathirtha et Mishra, 2004). De même, les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits chimiques à structure souvent complexe, très différents selon les espèces, appelés métaboles secondaires. Il existe sans doute plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leurs appartenances chimiques (lipides, cire, composés acétyléniques, mycotoxines, acides aminés non protéinogènes, composés phénoliques, terpènes, alcaloïdes, amines et polyamines, glycosides cyanogéniques, glucosinolates, etc...).

Présentement, les produits naturels sont des sources importantes de base de médicaments et près de 60% de la population mondiale utilise des médicaments à plantes comme remède pharmaceutique initiale (OMS, 2002). De plus, dans les pays comme la France (Legifrance, 2007), le Canada (Canada, 2003) et le Brésil (Marques, 1999), les médicaments à base de plantes bénéficient d'une autorisation de mise en marché qui donne au consommateur des garanties de qualité et d'innocuité.

Le territoire algérien, de par sa position géographique, présente une large gamme de végétation riche et diverse d'étages bioclimatiques de plantes utilisées comme condiments, aliments naturels et pour des buts thérapeutiques (Emberger, 1971). Parmi ces plantes, le *Capparis spinosa* (le câprier) qui fait partie de la flore algérienne est une plante de la famille des Capparidaceae (Quezel et Santa, 1962). Les différentes parties du *C. spinosa* ont été rapportées pour avoir des activités biologiques comprenant les activités antioxydantes (Germano *et al.*, 2002; Arrar *et al.*, 2013), antifongiques (Ali-Shtayeh et Abu-Ghdeib, 1999), anti-hépatotoxiques (Gadgoli et Mishra, 1999) et anti-inflammatoires (Al-Said *et al.*, 1988).

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. Cependant, la situation géographique d'une plante peut affecter son composant actif. Une plante poussant à l'état sauvage dans un pays peut ne pas avoir nécessairement les mêmes composants que la même plante dans un autre pays, et leur activité biologique peut ne pas être similaire. C'est pourquoi nous avons entrepris l'étude de quelques activités pharmacologiques du *C. spinosa* de la région de Sétif.

Considérant l'effet immunomodulateur de quelques espèces de *Capparis* (*zeylanica* et *moonii*) (Ghule *et al.*, 2006; Kanasea *et al.*, 2013), l'activité immunostimulante de l'extrait lyophilisé des bourgeons de *C. spinosa* (Arena *et al.*, 2008) ainsi que le contenu riche de cette plante en métabolites secondaires (Tlili *et al.*, 2013), nous avons orienté notre étude pour vérifier un éventuel effet immunomodulateur de l'extrait méthanolique de deux parties de cette plante, les feuilles et les fruits.

Le but de ce travail s'inscrit dans un programme de recherche destiné à valoriser les plantes médicinales de l'Algérie. La présente étude a pour objectifs :

- Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des fruits et des feuilles de *Capparis spinosa*.
- Etude de l'effet hépatoprotecteur des deux extraits de *Capparis spinosa* vis-à-vis de la toxicité du foie induite par le tétrachlorure de carbone (CCl<sub>4</sub>).
- Explorer l'effet de la plante *in vivo* et *in vitro* sur le système immunitaire.
- Evaluation de l'activité antiinflammatoire des extraits de *Capparis spinosa* par différents approches *in vivo* et *in vitro*.
- Rechercher l'existence de propriétés antalgiques des extraits de *Capparis spinosa*, en raison de l'importance en médecine contemporaine des substances dotées de tels effets.

# **Revue bibliographique**

## **1. Inflammation**

L'inflammation désigne l'ensemble des réactions déclenchées dans un organisme vivant, par une agression qui peut être d'origine immunitaire ou non (traumatique, infectieuse, micro cristalline, chimique), quelle que soit l'origine du stimulus photogène. Cet ensemble de phénomènes réactionnels siégeant dans les tissus vascularisés (tissus conjonctifs) a pour finalité de limiter et de réparer les effets de l'agression (Zhou et Jian, 2006).

### **1.1. Phases de l'inflammation aigue**

L'inflammation aigue peut avoir de nombreuses origines : traumatisme, agression physique ou chimique, infection, dérèglement immunologique. Il s'agit d'une réponse immédiate de courte durée (quelques jours à quelques semaines). Elle concerne le tissu conjonctif et se trouve schématiquement marquée par trois phases, qui ne sont que rarement successives mais bien plus souvent concomitantes.

#### **1.1.1. Phase vasculaire**

En réponse à une agression, des mécanismes immédiats se mettent en route, leur but est de donner l'alerte et de recruter les cellules de l'immunité naturelle. Cette phase comporte trois modifications élémentaires qui sont la congestion active, l'œdème inflammatoire, les diapédèses leucocytaires (Gillian et Christopher, 2004).

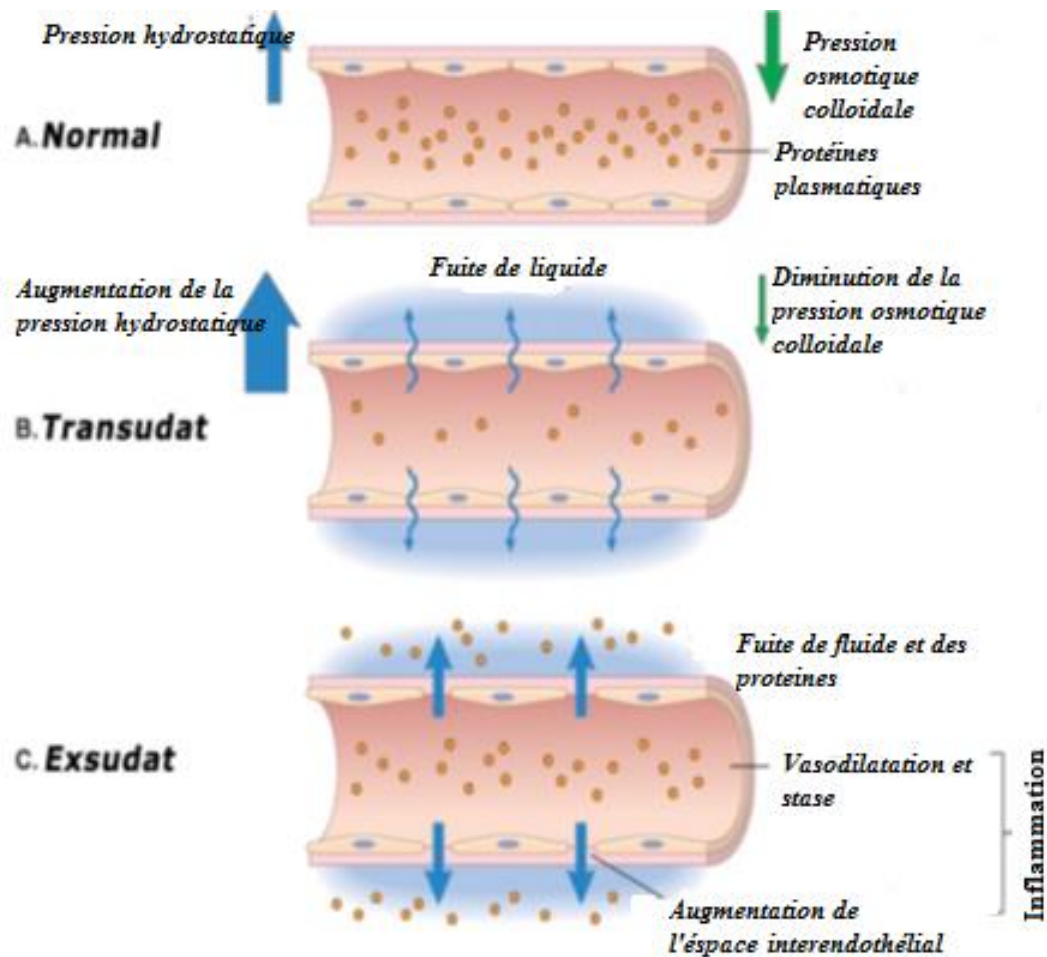
##### **a. Congestion active**

La congestion constitue la première phase. Contrairement à ce qui est observé dans l'œdème circulatoire, la congestion lors de l'inflammation est active. Elle est due à l'ouverture des sphincters précapillaires, provoquée par des facteurs humoraux : histamine, sérotonine,

prostaglandine (Offenstadt *et al.*, 2001). Cliniquement, cette congestion active s'exprime par une chaleur et par une rougeur. L'augmentation du nombre des capillaires fonctionnels entraîne initialement un accroissement du débit sanguin. Le ralentissement de la vitesse circulatoire, conséquence d'une viscosité accrue du sang, a pour conséquence une stase secondaire.

### **b. Œdème inflammatoire**

Parallèlement à la congestion, la quantité d'eau présente dans le milieu extracellulaire augmente : c'est l'œdème inflammatoire. Il a une double origine : il est au début lié à l'ouverture des sphincters précapillaires qui provoque une élévation de la pression capillaire. Secondairement c'est l'augmentation de la perméabilité vasculaire qui est en cause. Elle est due à l'histamine qui a une action immédiate mais transitoire. Les lésions de la paroi vasculaire causent une augmentation durable de la perméabilité. Le liquide d'œdème, au cours de l'inflammation est riche en protéines (>30 g/l) : il s'agit d'un exsudat (Figure 1).



**Figure. 1:** Formation du transudat et d'exsudat (Kumar *et al.*, 2007).

### c. Diapédèse leucocytaire

C'est la migration de leucocytes hors des capillaires et veinules. Dans le courant sanguin, ralenti après la vasodilatation, les leucocytes se disposent en un film périphérique puis se plaquent contre les cellules endothéliales, c'est l'émargination (Cohen et Belmatoug, 2002). Grâce à des pseudopodes ces leucocytes s'insinuent entre les cellules endothéliales et franchissent la membrane basale par dépolymérisation. Elles se groupent d'abord en manchon péri-capillaire



puis migrent dans le tissu (Russe *et al.*, 1998). Il s'agit essentiellement de polynucléaires neutrophiles (PNN), de polynucléaires éosinophiles (PNE) puis de monocytes. Leur afflux local est le fait de facteurs généraux (stimulation médullaire par des substances circulantes), de facteur locaux (chimiotactisme positif développé par de nombreuses substances), et de produits de dégradation du complément. Les granulocytes et les monocytes vont s'associer à d'autres cellules pour constituer le granulome inflammatoire à la phase cellulaire.

### **1.1.2. Phase cellulaire**

Les phénomènes vasculo-exsudatifs initiaux permettent l'arrivée des leucocytes dans le foyer inflammatoire. Les premiers sur place (environ 6 heures) sont les polynucléaires. Le plus souvent, les polynucléaires sont progressivement remplacés dans le site inflammatoire par les monocytes. Parmi celles-ci, les macrophages ont pour fonction d'assurer la détersion grâce à leur capacité de phagocytose. Il s'y associe des lymphocytes et des plasmocytes qui participent à la réponse immune spécifique de l'antigène (Nathan, 2002). L'afflux des cellules, fait que celles-ci vont d'abord se marginaliser sur le site de l'agression en environ 30 minutes. C'est à ce moment qu'on pourra constater la présence de polynucléaires neutrophiles, lesquelles sont plaqués le long des cellules endothéliales de l'endroit concerné. Ces cellules vont traverser la paroi, grâce à de nombreux facteurs attractants comme l'IL8, C5a et LTB4. Ces cellules vont en effet ingérer les éléments lésés. Cette fonction n'est pas simple. Elle repose sur la dégranulation des composants internes de la cellule. Ceci conduit à la sécrétion des protéases (élastase et collagénase), et la libération des radicaux libres. Les PNNs vont contribuer à l'éradication des corps étrangers (s'il y a lieu) ou des tissus lésés (en cas de traumatisme par exemple). Dans ce type de situation, la réaction va s'arrêter mais ceci n'est pas toujours le cas et les macrophages dont le pouvoir phagocytaire est important, vont intervenir. Ceci constitue le passage de la réaction inflammatoire

proprement dite à la réaction immunitaire et la mise en place des processus inhérents (Charles *et al.*, 2010).

### **1.1.3. Phase de réparation**

La réparation tissulaire est l'ensemble des processus aboutissant à la guérison d'une lésion, avec ou sans séquelles, par régénération ou cicatrisation. Elle comporte des phénomènes qui s'intriquent et se succèdent. Dans les conditions les plus favorables, les agents agresseurs sont éliminés par les PNNs, et les produits de dégradation ainsi que les débris cellulaires sont phagocytés par les macrophages. Les macrophages vont alors sécréter des cytokines et des médiateurs qui vont induire la phase de cicatrisation et de régénération tissulaire. Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes. Ces cellules peuvent produire et remodeler les éléments de leur stroma (collagène de type I et III) ou de leur lame basale (collagène de type IV et V, laminine). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le nouveau tissu. Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais ce sont surtout les fibroblastes qui vont produire les protéines matricielles intercellulaires des tissus, comme le collagène, et la laminine qui participent à la reconstruction (Marsolais et Frenette, 2001).

## **1.2. Principaux médiateurs de l'inflammation**

### **1.2.1. Médiateurs d'origine locale**

Les amines vasoactives (histamine, sérotonine) sont stockées sous forme de granules cytoplasmiques dans les mastocytes, les polynucléaires basophiles, les plaquettes, et sont libérées

lors de la phase vasculo-exsudative. Elles provoquent une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité vasculaire responsable de la congestion active et de l'œdème inflammatoire. L'histamine entraîne également une contraction des fibres musculaires lisses et une attraction des polynucléaires éosinophiles (Rankin, 2004).

Les prostaglandines et les leucotriènes (eicosanoïdes) sont des dérivées des acides gras, synthétisés dans les membranes à partir de l'acide arachidonique. Les eicosanoïdes, comme les hormones, jouent des rôles physiologiques importants à faibles concentrations. Ils interviennent dans (1) la réponse inflammatoire notamment au niveau des articulations (arthrite), de la peau (psoriasis) et des yeux; (2) la production de la douleur et de la fièvre, (3) l'induction de la coagulation (Diebold *et al.*, 1986; Voet et Voet, 2005).

Les cytokines sont des petites glycoprotéines solubles produites par une grande variété de cellules immunitaires et non immunitaires qui ont des fonctions pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) et anti-inflammatoires (IL-10), (Moldoveanu *et al.*, 2001). Les cytokines sont responsables de la médiation de l'immunité naturelle, la régulation de l'activation, de la croissance et de la différenciation des lymphocytes, ainsi que la stimulation de l'hématopoïèse (Nakov *et al.*, 2002)

### **1.2.2. Médiateurs circulants (plasmatiques)**

Le système de coagulation est en relation complexe avec les phénomènes inflammatoires. La présence de dépôts de fibrine intra- et extra-vasculaires est quasi constante dans l'inflammation. La mise en jeu du système de la coagulation aboutit à la formation de thrombine qui active les plaquettes et les cellules endothéliales et déclenche la formation de fibrine à partir du fibrinogène plasmatique. L'activation du système de la fibrinolyse conduit à la formation de

plasminine (à partir de son précurseur plasmatique : le plasminogène) qui détruit la fibrine par protéolyse. L'inflammation active la fibrino-formation et par voie de conséquence la fibrinolyse ce qui contribue à amplifier l'inflammation (Rousselet *et al.*, 2005).

Les kinines proviennent du kininogène activé par la kallikréine, elle-même issue du clivage de la prékallikréine circulante. Le facteur XII (Hageman) activé est l'une des molécules qui clive la prékallikréine. Les kinines sont de puissants vasodilatateurs. Elles augmentent la perméabilité vasculaire. La bradykinine est un médiateur de la douleur et déclenche la contraction du muscle lisse.

L'activation du système du complément par la voie classique et/ou alterne se traduit par la formation de nombreux produits qui servent d'importants médiateurs de l'inflammation. Les anaphylatoxines (C3a, C4a, C5a) induisent la dégranulation des mastocytes et des polynucléaires basophiles, la contraction des muscles lisses et augmentent la perméabilité vasculaire. Les C3a, C5a et C5b67 agissent ensemble pour induire la migration des monocytes et des neutrophiles vers les tissus (Goldsby *et al.*, 2003).

Les médiateurs lipidiques sont des dérivés des phospholipides des membranes cellulaires. Ils comprennent les métabolites de l'acide arachidonique et le facteur d'activation plaquettaire (PAF), (Shimizu, 2009). Les phospholipides membranaires sont transformés en acide arachidonique qui est ensuite dégradé pour aboutir à la production d'éicosanoïdes ; les prostaglandines les leucoténes (Khanapure *et al.*, 2007). Le PAF agit soit par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques soit par induction d'autres médiateurs et entraîne l'augmentation de la perméabilité vasculaire, l'agrégation des plaquettes, la stimulation de l'attraction des leucocytes

et de leur adhésion à l'endothélium (Defranco *et al.*, 2009). Le tableau 1 résume les différents facteurs solubles intervenant dans la réaction inflammatoire.

**Tableau 1:** Récapitulatif des médiateurs solubles de l'inflammation (Rousselet *et al.*, 2005)

Phénomène	Facteur(s) intervenant
Vasodilatation	histamine, kinines; prostaglandines PAF, NO
Augmentation de la perméabilité vasculaire	histamine, bradykinine, C3a et C5a, PAF leucotriènes C4, D4, E4
Chimiotactisme	Leucotriène B4, C5a, chimiokines, produits bactériens, PDF, thrombine
Fièvre	TNF, IL1, IL6, Prostaglandine E2
Douleur	Bradykinine, prostaglandines
Destruction (cellules, matrice)	Radicaux libres oxygénés, enzymes des lysosomes, NO, cytokines lymphocytaires

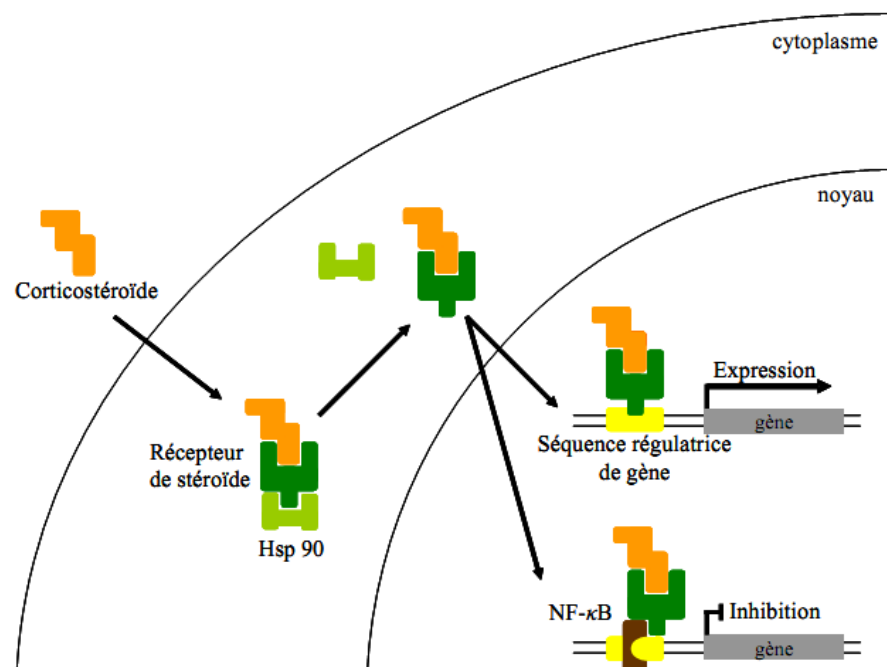
### 1.3. Traitement anti-inflammatoire

Le but du traitement de l'inflammation est de réduire les effets indésirables comme la douleur sans modifier les effets bénéfiques de réparation. Les anti-inflammatoires ne traitent pas la cause de la maladie mais ses effets indésirables.

#### 1.3.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (SAIDs), également appelés corticostéroïdes ou glucocorticoïdes (prednisone, prednisolone, bêtaméthasone) sont des dérivés synthétiques des

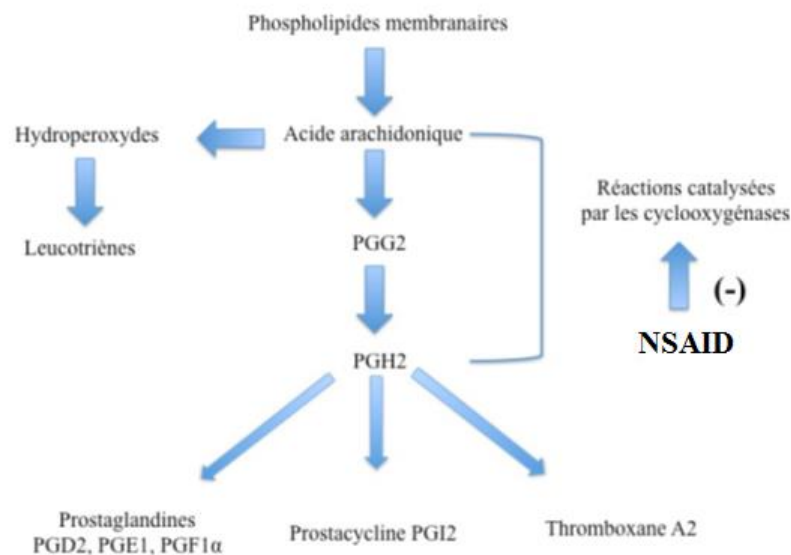
corticostéroïdes naturels, hormones sécrétées par les glandes corticosurrénales. Ce sont des anti-inflammatoires puissants largement utilisés pour supprimer les effets délétères des réponses inflammatoires. Ils agissent à différents niveaux par régulation (activation ou inhibition) de la transcription d'un grand nombre de gènes cibles (Figure 2). Les glucocorticoïdes inhibent la production de la phospholipase A2 (PLA2) et donc la production d'éicosanoïdes. Ils inhibent également de nombreuses cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ ...) en agissant sur certains facteurs nucléaires de transcription, en particulier NF- $\kappa$ B et AP-1. Cependant, ils ont de nombreux effets indésirables tels que l'altération de la peau, la fragilité osseuse, l'apparition d'un état diabétique ou d'hypertension artérielle. Les corticostéroïdes améliorent le pronostic vital et fonctionnel de nombreuses maladies mais n'agissent pas sur la cause de la maladie (Janeway *et al.*, 2009).



**Figure. 2:** Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (Janeway *et al.*, 2009)

### 1.3.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (NSAIDs) appartiennent à diverses catégories de molécules. Ce sont des inhibiteurs des cyclo-oxygénase (COX) aux propriétés anti-inflammatoires, antalgiques et antipyrétiques. Leur action inhibitrice des COX-1 et -2 entraîne une diminution de la production de différentes prostaglandines et de thromboxanes à partir de l'acide arachidonique (Figure 3). Cette classe thérapeutique présente cependant, par l'inhibition de la COX-1, des effets indésirables : génération d'ulcères gastro-intestinaux et diminution de l'agrégation plaquettaire (Vonkeman et Van de Laar, 2010). L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les NSAIDs semble donc, jusqu'à récemment, devoir obligatoirement s'accompagner d'effets favorables et délétères (Blain *et al.*, 2000).



**Figure. 3:** mécanisme d'action des NSAIDs (Jean-François, 2001).

### **1.3.3. Effets indésirables des anti-inflammatoires**

Ce sont des complications qui peuvent survenir lors de la prise du médicament, sachant que les effets secondaires induits varient selon les individus. Lors de la prise de NSAIDs, ont été signalés :

- Des troubles digestifs : nausées, gastralgies, vomissements, diarrhée, hémorragie digestive, plus rarement un ulcère gastro-duodéal, perforation et hémorragie digestive, colites, rectites.
- Des phénomènes allergiques : prurit, éruptions cutanées, œdème de Quincke, crise d'asthme, voire choc, des troubles neuro-psychiques : vertiges, céphalées, acouphènes, asthénie.
- Des troubles diverses : œdèmes, hypertension artérielle (HTA), élévation des transaminases, syndrome néphrotique.

Les anti-inflammatoires stéroïdiens sont efficaces, mais ne sont pas dénués d'effets secondaires. Les principaux sont des réactions cutanées comme une peau qui peut se fragiliser avec l'apparition de vergetures, d'une sécheresse de la peau, de difficultés pour cicatriser, mais également une prise de poids, un risque plus élevé d'infections, du fait de la diminution de l'immunité, des troubles de la vision (voire une cataracte après une prise au long cours pendant plusieurs mois ou années), l'apparition ou l'aggravation d'un état diabétique, des troubles digestifs (ulcères notamment, l'apparition ou l'augmentation d'une hypertension artérielle, une fragilisation des os (ostéoporose) et des décompensations psychiatriques (hyperexcitation puis dépression), etc. En raison des violentes réactions que peuvent entraîner les anti-inflammatoires stéroïdiens, ils doivent être prescrits par un médecin.



### 1.3.4. Les anti-inflammatoires d'origine végétale

L'incorporation et l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement de plusieurs réactions inflammatoires, en particulier le rhumatisme, sont des pratiques communes dans la médecine traditionnelle. Aujourd'hui c'est un fait remarquable que les substances anti-inflammatoires d'origine végétale présentent un intérêt grandissant car elles offrent des avantages par rapport aux anti-inflammatoires classiques, comme par exemple l'absence d'effets secondaires. Parmi les espèces végétales utilisées en médecine traditionnelles et récemment étudiées nous trouvons les plantes suivantes (Tableau 2):

**Tableau 2 :** Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-inflammatoires (Barnes, 1998).

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Nom commun	Utilisation
Zingiber officinale	Zingiberaceae	Rhizome	Gingembre	arthrose, migraine, douleurs rhumatismales
Helleborus orientalis	Ranunculaceae	Racines	Lenten-rose	Cédèmes, douleurs rhumatismales
Urtica dioica	Urticaceae	Feuilles, Racines	Ortie	Rhinite allergique, eczéma goutte, douleurs rhumatismales
Curcuma longa	Zingiberaceae	Rhizome	Curcuma	Douleurs rhumatismales, lupus systémique, psoriasis, infections rénales
Nerium oleander L	Apocynaceae	Fleurs	Laurier rose	Douleurs, maux de tête
Harpagophytum procumbens	Pédaliacées	Tubercule	Griffe du diable	Arthrose, lombalgie, névralgie, maux de tête, fièvre
Rhododendron ponticum L.	Ericaceae	Feuilles	Rhododendron pontique	Cédèmes, états grippaux, mal de dents
Juglans regia L.	Juglandaceae	Feuilles, fruits	Noyer commun	Douleurs rhumatismales, fièvre, eczéma. Malaria
Oenothera biennis	Onagraceae	Graines	Onagre bisannuelle	Douleurs rhumatismales,

## 2. Système immunitaire

Comprendre l'immunomodulation, exige une compréhension des interactions complexes au sein du système immunitaire, sur lequel elle est dépendante. Par conséquent, un résumé du système immunitaire est donné ci-dessous.

Le système immunitaire est un réseau complexe formé d'organes, de tissus, de cellules spécialisées et de protéines qui, ensemble, tentent de protéger le corps humain contre les attaques des 'envahisseurs étrangers' susceptibles de causer des infections. Une déficience du système immunitaire peut se manifester d'un grand nombre de maladies telles que les infections, le vieillissement, les allergies, les troubles de divers organes ainsi qu'une série de maladies allant du cancer au sida (Cherng *et al.*, 2008). Ce système est constamment menacé par les invasions des agents pathogènes tels que les bactéries, les champignons, les virus, les parasites et les toxines, qui ciblent également et compromettent le système immunitaire.

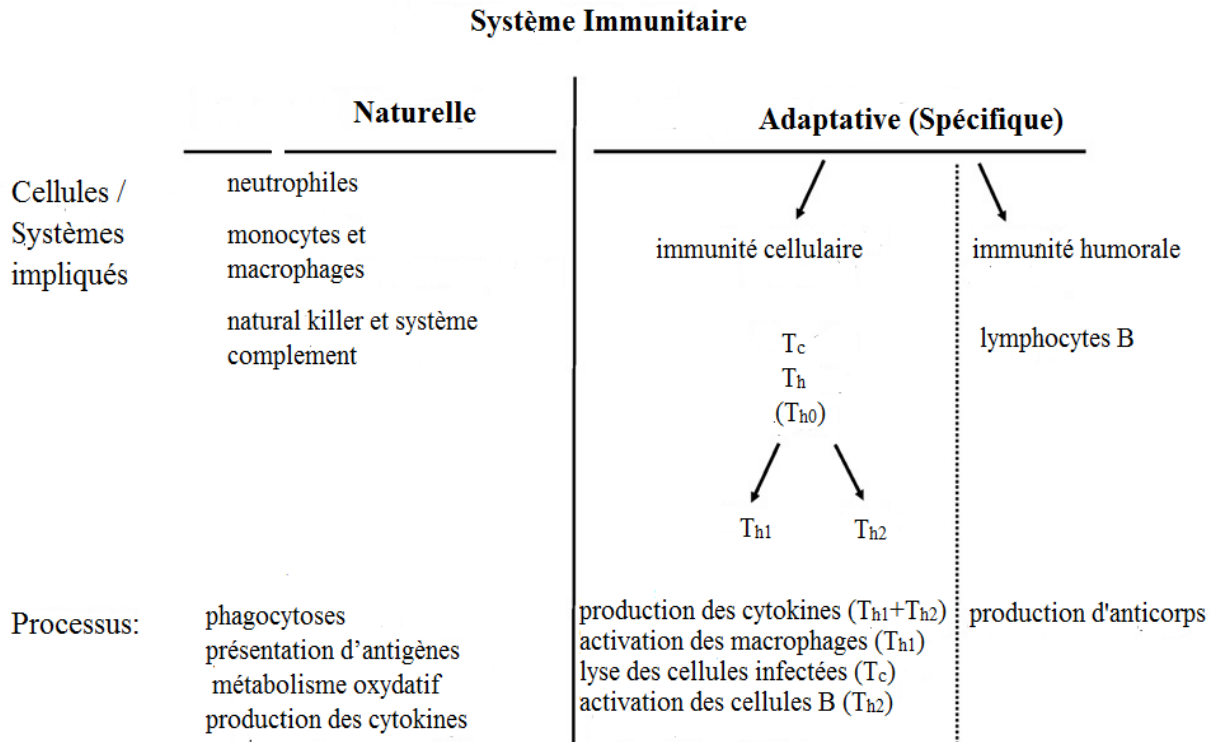
La réponse immune et la façon la plus efficace du système immunitaire pour contrecarrer et éliminer l'agent infectieux de l'organisme. Ceci est accompli par l'action mutuelle de l'immunité innée (rapide mais non spécifique) et adaptative ou acquise (rapide et très spécifique), (Volman *et al.*, 2008).

Le système immunitaire inné est constitué de barrière anatomique, de molécules secrétées ainsi que de composants cellulaires. Parmi les barrières mécaniques de l'anatomie on retrouve la peau, les épithéliums internes, le péristaltisme intestinal et les oscillations des cils broncho-pulmonaires. Le toutes constituent la première ligne de défense. L'épithélium agit comme une barrière physique à l'entrée des microbes et produit également un large éventail de facteurs

antimicrobiens. Leucocytes qui sont impliqués dans cette réponse sont des granulocytes (neutrophiles), les monocytes / macrophages, les cellules tueuses naturelles (NK) et le système de complément. Ces cellules jouent un rôle important dans la phagocytose des agents pathogènes, la production de radicaux libres (oxydative), la production de cytokines, et la présentation de l'antigène aux lymphocytes.

Contrairement à l'immunité rapide et non spécifique, la réponse immunitaire adaptative est plus lente, mais très spécifique. Cette réponse dépend de la production d'anticorps par les lymphocytes B dirigés contre des antigènes spécifiques présents sur les pathogènes (appelé réponse immunitaire humorale).elle implique aussi les lymphocytes T cytotoxique (T<sub>c</sub>) et les lymphocytes T auxiliaires (T<sub>h</sub>) pour l'attaque directe contre le photogène (réponse immunitaire à médiation cellulaire. Ces cellules sont responsables de la mémoire immunologique, suite aux contacts répétés avec le même antigène (Figure 4).

Lorsque les leucocytes du système immunitaire inné sont activé, ils secrètent les cytokines et présentent l'antigène aux lymphocytes B et T, ces derniers activent à leur tour le système immunitaire adaptatif. Cela représente l'interaction entre les deux systèmes, qui génère finalement une réponse immunitaire (Volman *et al.*, 2008).



**Figure. 4:** schéma simplifié du système immunitaire. T<sub>c</sub>, Lymphocytes T cytotoxiques; T<sub>h</sub>, Lymphocytes T auxiliaires (Volman *et al.*, 2008).

## 2.1. Leucocytes

Les leucocytes (globules blancs) constituent les principales cellules du système immunitaire qui assurent l'immunité innée et l'immunité spécifique adaptative. Ils sont mobiles avec des fonctions spécialisées. Le nombre de leucocytes dans le sang normal se situe entre 4.500 et 11.000 par millimètre cube. Il en existe plusieurs types, les granulocytes (ou polynucléaires), les lymphocytes et les monocytes et les cellules tueuses naturelles (Mossman et Coffman, 1989). les granulocytes sont classés en neutrophiles (50 à 70%), éosinophiles (1-4%), et basophiles (0,5%) (Kuby, 1994).

## 2.2. Macrophages

Les monocytes sont formés à partir de la moelle osseuse. Ils ont une demi vie de 24-100 heures et ne constituent que 2-3% des leucocytes circulants (Tanner *et al.*, 1984 ; Russo-Marie *et al.*, 1998). C'est au niveau du site inflammatoire que les monocytes se différencient en macrophages. Les macrophages servent de cellules présentant l'antigène et lorsqu'ils sont armés d'IgG spécifique ils agissent comme des cellules cytotoxiques (Shah *et al.*, 2002). Les macrophages sont impliqués dans la défense de l'organisme contre les microorganismes, intervient dans l'élimination des cellules mortes ou endommagées. Ils interviennent également dans la modulation de la réponse immunitaire et la synthèse des molécules biologiquement actives comme les composants du complément, les prostaglandines, les espèces réactives oxygénées, des cytokines (interféron) et des protéases neutres comme l'élastase (Tanner *et al.*, 1984). Les macrophages sont activés dans des sites inflammatoires. Ils sont aussi activés par les lipopolysaccharides bactérien, l'interféron, l'IL-12, IL-18, le rayonnement ultraviolet et l'ozone. Les macrophages activés peuvent efficacement détruire les microbes, les parasites et les cellules tumorales (Shah *et al.*, 2002). Grâce à TNF- $\alpha$  et d'IL-1, les macrophages contrôler la prolifération, la différenciation, et les fonctions effectrices des lymphocytes (Suigiura *et al.*, 2001).

## 2.3. Cellules NK

Les cellules NK représentent environ 2 % des lymphocytes périphériques circulants. Elles n'adhèrent pas et ne phagocytent pas, mais peuvent reconnaître par leur récepteur pour le fragment FC des immunoglobulines, différentes cellules cibles recouvertes d'anticorps. Ce sont des lymphocytes cytotoxiques capables d'induire, sans immunisation préalable, la lyse de cellules

cibles par deux voies distinctes : la cytotoxicité naturelle et la cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC).

## **2.4. Lymphocytes**

Les lymphocytes sont des petits globules blancs présents dans les organes lymphoïdes et dans le sang. Les lymphocytes constituent environ 25 à 50% des leucocytes du sang (Roitt *et al.*, 1998). Ils entrent dans la circulation par les voies lymphatiques. On les trouve en grand nombre dans les organes lymphoïdes secondaires. Selon l'origine et la différenciation, les lymphocytes sont distingués en deux types cellulaires : les lymphocytes T (T pour thymus) qui se différencient dans le thymus et les lymphocytes B (B pour Bone marrow) acquièrent leur maturation dans la moelle (Mosmann et Coffman, 1989).

### **a. Lymphocytes T**

Il existe deux grandes classes de lymphocytes T, Les lymphocytes de type CD4+ ou auxiliaires et les lymphocytes de type CD8+ ou cytotoxiques/suppressives. Lymphocytes T auxiliaires sont fonctionnellement subdivisés en deux types, Th<sub>1</sub> et Th<sub>2</sub> ( Karp, 1999). Les cellules T CD4+ contrôlent la production des anticorps par les lymphocytes B et produisent des facteurs agissant sur de nombreuses cellules dont les macrophages. Les cellules T CD8+ permettent d'éliminer les cellules infectées en produisant des cytokines telles que l'interféron et le TNF ou facteur de nécrose tumoral. Contrairement aux cellules T auxiliaires, les cellules suppressives Ts modulent les réponses immunitaires. la combinaison de cellules auxiliaires et supresseurs détermine le niveau de la réponse immunitaire à tout antigène spécifique (Levine *et al.*, 1998).

Les lymphocytes T sont connus pour être affectés par un certain nombre de composés, notamment les extraits de plantes qui stimulent leur prolifération et augmentent leur capacité de produire les cytokines. En générale, Lorsqu'un TCR et les molécules CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup> s'engagent avec une molécule du CMH présentant un peptide étranger, le complexe CD3 transduit trois types de signaux activateurs qui sont reliés entre eux et nécessaires pour stimuler le lymphocyte : (1) la phosphorylation de protéines membranaires et cytoplasmiques, (2) l'hydrolyse de phospholipides inositol de la membrane plasmique et (3) l'augmentation de la concentration du calcium cytoplasmique. Tous ces signaux stimulent la synthèse protéique ou la transcription de gènes par des cascades complexes. Ce procédé de signalisation de la membrane provoque finalement la prolifération cellulaire (Revillard, 2001). Il existe un grand nombre de ligands qui peuvent initier la division cellulaire. Cela comprend les mitogènes isolés à partir des plantes (PHA et la Con A), les produits bactériens tels que LPS et *S. aureus* Cowan I, les lymphocytes allogéniques, les cytokines (Fletcher *et al.*, 1992; Karp, 1999).

## **b. Lymphocytes B**

Les lymphocytes B ont une durée de vie relativement courte par rapport aux lymphocytes T. Les lymphocytes B, ou cellules B, sont des lymphocytes qui ont pour rôle de fabriquer des immunoglobulines appelées anticorps. Les cellules B matures expriment à leur surface des immunoglobulines IgM ou IgD, qui jouent le rôle de récepteurs spécifiques de l'antigène ou BCR (B Cell Receptor), mais aussi différents marqueurs de surface, dont les molécules HLA de classe I et de classe II. Lorsque les lymphocytes B sont activés, ils prolifèrent en présence d'IL-4 puis ils se transforment en lymphoblastes et effectuent une prolifération clonale en plasmocytes. Ces derniers secrètent des anticorps, des immunoglobulines (Ig) libres dont la spécificité est identique à celle des Ig de surface du lymphocyte B original.

## **2.5. Cytokines**

Les interactions entre leucocytes nécessitent tout d'abord une reconnaissance spécifique entre un récepteur T et une molécule d'histocompatibilité présentant un peptide antigénique. Cette reconnaissance spécifique entraîne un arrimage des deux cellules en cause. Enfin, suite à ce contact prolongé et renforcé par des molécules d'adhésion, il y a émission d'une interleukine qui induit chez la cellule receveuse, une prolifération. La fonction principale (mais pas nécessairement exclusive) des interleukines est donc le plus souvent mitogène. Les cytokines sont des glycoprotéines solubles sécrétées par certaines sous-populations de lymphocytes T et par les monocytes. Elles agissent à distance lors d'une réaction inflammatoire mais surtout permettent l'activation des cellules du système immunitaire (lymphocytes B, T, macrophages), des cellules responsables des réponses cytotoxiques et celles qui sont liées à l'hypersensibilité retardée.

L'interleukine-1 (IL-1) sécrétée par les monocytes/macrophages, est la première cytokine intervenant dans la maturation et l'activation des lymphocytes B et T après contact antigénique et contrôle l'induction des récepteurs de l'IL-2.

L'interleukine-2 (IL-2), appelée au départ TCGF (T cell growth factor) est un puissant stimulant de la prolifération des lymphocytes T. elle est produite par les lymphocytes t eux-mêmes dès le début de leur stimulation par un antigène.

## **3. Immunomodulation**

L'immunomodulation est un processus de modification de la réponse immunitaire, d'une manière positive ou négative, par l'administration d'un médicament ou d'une substance active. L'immunomodulation utilisant les plantes médicinales est d'un intérêt primordial dans le milieu



scientifique car elle pourrait fournir une alternative à la chimiothérapie conventionnelle pour une très large gamme de maladies (Ganju *et al.*, 2003). L'immunomodulant est une substance d'origine naturelle ou synthétique qui peut moduler les composantes du système immunitaire par une stimulation spécifique ou un effet suppresseur (Juyal et Singla, 2001). Les adjuvants naturels, les composés synthétiques et les molécules biologiques tels que des anticorps et les cytokines sont utilisées comme immunosuppresseur ou immunostimulants (Sagrawat et Khan, 2007).

### **3.1. Immunomodulateurs**

Le corps humain est constamment exposé à une série des facteurs de stress, qui affaiblissent la fonction de la réponse immunitaire générant l'immunosuppression. De plus, il n'existe aucun vaccin efficace contre certaines infections et maladies graves comme le VIH, le paludisme et la méningite (Commission européenne, 2008). Par conséquent, la stimulation non spécifique du système immunitaire est considérée comme très utile lorsque le système immunitaire de l'hôte est altéré. Les immunostimulants sont des médicaments ou des composés qui principalement conduisent à une activation non spécifique des mécanismes de défense immunologiques (Wagner *et al.*, 1999) et spécifique (Nagarathna *et al.*, 2013). Ces mécanismes sont liées à la fonction et l'efficacité des macrophages, système du complément, les granulocytes, les cellules Natural killer (NK), les lymphocytes et également à la production de molécules effectrices tels que les cytokines produites par les cellules activées (Jayathirtha et Mishra, 2004). Ces effets non spécifiques devraient fournir une protection contre les agents pathogènes.

D'autre part, les immunosuppresseurs sont utilisés dans des situations où la réponse immunitaire est nuisible, telles que les maladies auto-immunes, le rejet de greffe, les allergies immédiate et réactions immunitaires d'hypersensibilité de type retardé (DTH) (Pereira *et al.*,

1999; Juyal et Singla, 2001). Les deux types d'immunomodulation importants pour la régulation de la fonction immunologique normale.

### **3.2. Effet des plantes sur la réponse immunitaire**

Les premiers travaux sur l'effet immunostimulant des plantes ont été décrits par Wagner *et al.* (1999). Par la suite, plusieurs études menées *in vivo* sur des lectines végétales (Ganguly et Das, 1994), des polysaccharides végétaux (Luettig *et al.*, 1989; Laskova et Uteshev, 1992) et des saponines (Song et Hu, 2009) confirment l'immunostimulation des constituants des plantes injectés par voie intrapéritonéale. D'autres études *in vitro*, ont montré l'effet stimulant des fractions de poids moléculaire élevé, isolées à partir des polysaccharides de nombreuses plantes médicinales sur l'immunité innée (Stimpel *et al.*, 1984; Luttig *et al.*, 1989; Guo *et al.*, 2009). Les isoflavones, les indoles, les phytostérols, sesquiterpènes, des alcaloïdes, glucanes et tanins produits par la botanique, sont des immunomodulateurs potentiels (Patwardhan et Gautam, 2005). Il a également été observé que les dérivés de flavonoïdes présentent un effet remarquable sur le système immunitaire (Ferreira *et al.*, 2003).

### **3.3. Exemples d'immunomodulateurs naturels**

Les plantes médicinales utilisées dans la médecine traditionnelle ont attiré l'attention de beaucoup de chercheurs en raison de leur action sur le système immunitaire. Les exemples des plantes potentiellement immunomodulatrices sont ; *Aloe vera*, *Curcuma longa* et *Eclipta alba* (Juyal et Singla, 2001; Sahrawat et Khan, 2007).

*Aloe vera* (Aloeaceae) également connu sous le nom de Curacao aloe ou le guérisseur silencieux est largement utilisé dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés cicatrisantes et

ses effets immunomodulateurs (Choi et Chung, 2003). L'acémannane, un saccharide de cette plante active les macrophages, augmente la sécrétion des cytokines et stimule la production des lymphocytes T cytotoxiques (Choi et Chung, 2003). Deux dérivés de dihydrocoumarine présentent une activité immunomodulatrice en augmentant l'activité phagocytaire et en stimulant la production d'anions superoxydes dans les macrophages péritonéaux des rats (Zhang *et al.*, 2009).

*Curcuma longa* (le curcuma) appartient à la famille des Zingiberaceae. La curcumine, un composant de *C. longa*, module la croissance et les réponses cellulaires de différents types cellulaires du système immunitaire (Gupta et Ghosh, 1999). Il inhibe la prolifération induite par les phytohémagglutinines (PHA) sur les cellules mononucléaires du sang périphérique (PBMC) et supprime également la production de l'interleukine-2 (IL-2) et l'expression du NF-κB. Il est suggéré que la curcumine module à la fois la prolifération et l'activation des cellules T (Yadav *et al.*, 2005)

La poudre de *Eclipta alba* (Asteraceae) également appelé (Bhringraj), séchée a une large gamme d'utilisations dans la médecine traditionnelle. Une étude menée par Jayathirtha et Mishra (2004) a montré la capacité d'*E. alba* pour induire une activité immunomodulatrice chez des souris albinos en augmentant de manière significative l'indice phagocytaire, le titre d'anticorps et le nombre de globules blancs dans le sang.

Les substances naturelles présentant une activité immunostimulante potentielle peuvent être classées selon leur poids moléculaire en deux catégories; les immunostimulants de haut poids moléculaire et les immunostimulants de faible poids moléculaire. Les terpénoïdes, les composés

phénoliques, et les alcaloïdes dominant parmi les composés de faible poids moléculaire, les polysaccharides dominant parmi les composés de poids moléculaire élevé (Wagner, 1999).

### 3.3.1. Alcaloïdes

Parmi les substances chimiques présentes dans les plantes médicinales, les alcaloïdes sont considérés comme une classe d'une importance majeure dans le développement de nouveaux médicaments, car ils possèdent une grande variété de structures chimiques et ont été identifiés comme responsables des propriétés pharmacologiques des plantes médicinales. Les alcaloïdes ont été connus pour améliorer la réponse immunitaire et, plus récemment, un grand nombre d'alcaloïdes sont étudiés pour leurs propriétés immunostimulantes. Les alcaloïdes oxindoles trouvés dans l'écorce et les racines d'*Uncaria tomentosa* sont connus pour stimuler le système immunitaire. Six de ces alcaloïdes ont été rapportés pour augmenter la fonction immunitaire de 50% avec des quantités relativement faibles (Wagner, 1999). Cela a conduit à son utilisation dans le monde entier en tant que traitement d'appoint pour le cancer et le SIDA, ainsi que d'autres maladies qui ont un impact négatif sur le système immunitaire. Les alcaloïdes oxindoles ont également été montré pour améliorer considérablement la capacité des phagocytes (Wagner *et al.*, 1985b). Juliflorine, un antimicrobien isolé de *Prosopis juliflora* a été étudié et démontré posséder une certaine activité immunostimulante.

### 3.3.2. Terpénoïdes

Plusieurs terpénoïdes sont présentés comme des substances possédants une activité anti-arthritique ou anti-inflammatoire et leurs activités biologiques semblent être médiées par des processus immunologiques. Les terpénoïdes présentent un double effet sur le système immunitaire; l'amélioration de la production d'anticorps et l'inhibition de la réponse des

lymphocytes T. Ces activités peuvent être dues à la présence de lactones sesquiterpéniques, helenalin et dihydrohélénaline (Hall *et al.*, 1979).

### 3.3.3. Lectines

Les lectines sont des sucres de liaison, des protéines ou glycoprotéines spécifiques des glucides, qui agglutinent les cellules ou précipitent les glycoconjugués. Les lectines ont été découvertes dans les plantes et ont donc été appelées phytohémagglutinines (PHA). Elles se lient essentiellement aux lymphocytes provoquant la mitose (Geppert, 1998). Par comparaison avec les polysaccharides bactériens, le nombre des polysaccharides isolés à partir de champignons et de plantes supérieures qui ont été étudiés par voie chimique et sur le plan pharmacologique en détail est relativement faible. Le lentinane, un polysaccharide de levure, isolé à partir de *Lentinus edodes*, est l'un des polysaccharides les mieux étudiés. Ce composé présente essentiellement une activité antitumorale en activant les lymphocytes T (Chihara *et al.*, 1970). Le pachymaran de *Poria cocos* montre une bonne activité immunomodulatrice (Narui *et al.*, 1980; Okawa *et al.*, 1982). Le vesiculogen de *Peziza vesiculosa* a été montrée comme étant un mitogène, activant principalement les cellules B.

### 3.3.4. Phénols et quinones

Parmi les composés phénoliques, le cleistanthin isolé à partir des lignanes de *Cleistanthus collinus* a été trouvé pour augmenter le nombre de granulocytes chez les rats, les chats et les singes (Rao et Nair, 1970). Une augmentation de l'indice de clearance est observée avec les catéchines et l'acide protocatéchique (Wagner *et al.*, 1985a). L'Ubiquinone Q7 et Q8 augmentent significativement la phagocytose des macrophages de souris à des concentrations de 100 µg / ml. Le test de clearance de carbone a révélé que l'ubiquinone Q7 à la dose de 30 mg / kg a augmenté

le taux de clearance par un facteur de 2 chez les animaux préalablement traités avec le cyclophosphamide (Wagner *et al.*, 1985b).

### 3.4. Mécanismes d'action des immunosuppresseurs

Les immunosuppresseurs sont donnés dans le but de prévenir le rejet d'organes transplantés ou de traiter des maladies comme la maladie de Crohn, la colite ulcéreuse, la neutropénie, la polyarthrite rhumatoïde et les troubles du tissu conjonctif. Ils ont de nombreux mécanismes différents, à travers lesquels ils exercent leur activité de suppression. Les mécanismes d'action de quelques médicaments sont discutés ci-dessous.

- Les médicaments immunocytotoxiques, comme les analogues de la purine, les analogues de la pyrimidine et le méthotrexate un antagoniste de l'acide folique, interfèrent avec la synthèse d'ADN.

- L'azathioprine est un imidazole de synthèse, transformé en 6-mercaptopurine (6-MP) puis en 6-thio-inosine monophosphate. Cet analogue des bases puriques peut être incorporé dans les acides nucléiques et produire des cassures chromosomiques. Il agit comme anti-métabolite pour inhiber de novo la synthèse d'acide nucléique. De plus, il a été suggéré que le résidu imidazole de l'azathioprine exerce une alkylation sur les groupements thiol des récepteurs membranaires des cellules T bloquant la reconnaissance de l'antigène (Chan *et al.*, 2007).

- Le cyclophosphamide (commercialisé sous le nom d'endoxan par les laboratoires Baxter) est une molécule lymphocytotoxiques. Il interfère avec la division cellulaire en modifiant la guanine afin que les erreurs d'appariement de bases se produisent. Ils peuvent également former des crosslinks interbrins empêchant la réplication et la transcription les deux brins.

- Les corticoïdes ont des effets anti-inflammatoires et immunosuppresseurs puissants au travers de leurs effets sur les lymphocytes T, B, les cellules dendritiques et endothéliales. Ils inhibent la synthèse de cytokines en inhibant la fixation nucléaire des facteurs de transcription AP-1 et NF- $\kappa$ B. Les corticoïdes sont lipophiles et peuvent traverser la membrane cellulaire pour s'associer à des récepteurs intracellulaires. Les complexes corticoïdes-récepteurs activés migrent dans le noyau et se fixent sur des séquences régulatrices de la transcription de gènes, soit pour les inhiber (Jun kinases), soit pour les activer (lipocortine, I- $\kappa$ B). Les complexes stéroïdes-récepteurs peuvent aussi s'associer à certains facteurs de transcription (AP-1) en provoquant leur inhibition. Les conséquences en seront la diminution de la synthèse des cytokines (IL-1, IL-6 et TNF $\alpha$ ) et les médiateurs lipidiques (prostaglandines, leucotriènes), (Kelso, 1984).

-Les inhibiteurs de la calcineurine, principalement la rapamycin et la cyclosporine, sont parmi les immunosuppresseurs les plus couramment utilisés. Leurs caractéristiques immunomodulatrices résident au niveau de leur capacité d'interaction avec la calcineurine. Cette protéine, connue également sous le nom de protéine phosphatase 2B (PP2B), a la capacité de réguler entre autres la synthèse de l'IL-2. Ainsi, en inhibant cette dernière, la croissance et la différenciation des lymphocytes T ne peuvent s'accomplir (Thomson et Comeron, 1981).

## **4. Hépatotoxicité et hépatoprotection**

### **4.1. Rôle du foie dans la détoxification**

Le foie est un organe très important. Il joue un rôle central dans la régulation de divers processus physiologiques de l'organisme. Il est impliqué dans plusieurs fonctions vitales, telles que le métabolisme, la sécrétion et le stockage. Il exerce une fonction centrale dans le

métabolisme des nutriments tels que les glucides, les protéines et les lipides et l'excrétion des déchets. Il a une grande capacité de désintoxiquer les substances toxiques et de synthétiser des molécules utiles (Shanmugasundaram et Venkataraman, 2006). En outre, il gère le métabolisme et l'excrétion des médicaments et des substances toxiques du corps. Il assure la protection contre les substances étrangères en les éliminant (Saleem *et al.*, 2010).

Les hépatocytes sont dotés d'un système de défense antioxydant très puissant constitué de Glutathion (GSH), acide ascorbique, vitamine E et des enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase, et le GPx pour se protéger contre le stress oxydatif, qui peut provoquer la destruction et la mort cellulaire (Kaplowitz et Tsukamoto, 1996).

Le foie est considéré comme la principale cible de la toxicité des xénobiotiques et des médicaments, car la plupart des produits chimiques et des médicaments ingérés par voie orale passent d'abord par le foie pour être métabolisés en intermédiaires. Un grand nombre de xénobiotiques sont signalés comme potentiellement hépatotoxiques (Ajith *et al.*, 2007). L'hépatocytes qui constituent la majorité de la structure du foie, sont très actifs dans le métabolisme des produits chimiques exogènes, ce qui est l'une des principales raisons pour lesquelles le foie est une cible pour les substances toxiques (Timbrell, 2001). Au cours de la détoxification des xénobiotiques, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont générées et provoquent le stress oxydatif (Kohen et Nyska, 2002), ce qui conduit à un dommage du tissu hépatique.

## **4.2. Hépatotoxicité**

L'hépatotoxicité est définie comme le pouvoir qu'a une substance (comme les médicaments) de provoquer des dommages au foie. La toxicité du foie se manifeste sous forme



d'inflammation (hépatite) ou encore de nécrose, dans les cas plus sévères. La stéatose hépatique survient lorsqu'il y a accumulation de gras dans le foie (Therrien, 2009).

#### 4.2.1. Mécanismes de l'hépatotoxicité

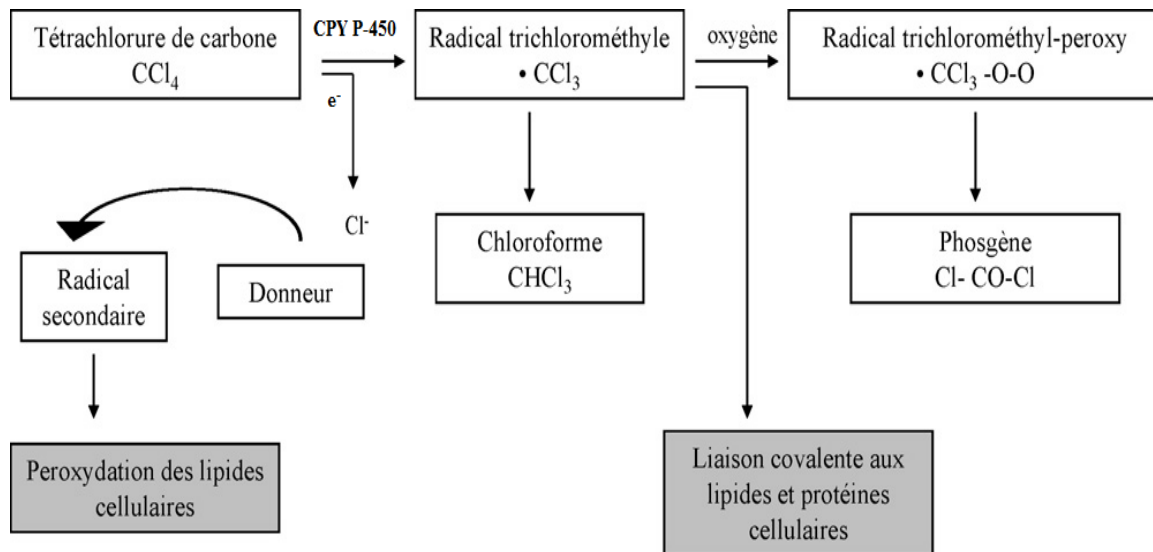
Les principaux mécanismes par lesquels les xénobiotiques peuvent être toxiques pour le foie sont la génération de métabolites toxiques par les cytochromes P450, le stress oxydant, la dysfonction mitochondriale et plus généralement la perturbation du métabolisme glucidolipidique. Parmi les facteurs augmentant le risque d'hépatotoxicité, l'obésité et la stéatohépatopathie associée semblent jouer un rôle important, au moins pour certains xénobiotiques. Certains xénobiotiques tels que l'alcool et certains médicaments (méthotrexate, tamoxifène) peuvent aggraver chroniquement la stéatose préexistante, ou accélérer la progression de la stéatose en stéatohépatite non-alcoolique (NASH). Les mécanismes d'aggravation de la stéatose semblent être variés : inhibition de la  $\beta$ -oxydation, réduction de la sortie des lipoprotéines de très basse densité (VLDL) et stimulation de la lipogenèse (Fromenty, 213). La progression accélérée de la stéatose en NASH pourrait faire intervenir une aggravation du stress oxydant, en particulier via un dysfonctionnement mitochondrial. D'autres xénobiotiques provoquent des hépatites aiguës plus sévères. C'est le cas par exemple du thioacétamide, du tétrachlorure de carbone et de médicaments (halothane, paracétamol), (Fromenty, 213; Michaut *et al.*, 2014) . Un mécanisme qui semble important dans cette situation est l'induction préexistante de l'activité du CYP2E1 hépatique fréquemment observée au cours de l'obésité (Michaut *et al.*, 2014; Aubert *et al.*, 2011). Un autre mécanisme pourrait être la réduction préexistante des stocks de glutathion et d'ATP liée à la présence d'une NASH (Fromenty, 2013).

##### 4.2.1.1. Induction des hépatites toxiques

C'est grâce à des agents chimiques que l'on a pu produire des lésions expérimentales du foie : la liste des substances toxiques utilisées en expérimentation est très longue : on peut citer à

titre d'exemple le chloroforme, l'éthionine, le sélénium, la thioacétamide et le benzène. Le plus emblématique d'entre eux est le tétrachlorure de carbone ( $\text{CCl}_4$ ), autrefois utilisé en sniff par certains toxicomanes. La molécule sniffée est transformée en métabolites hautement toxiques, inducteurs de radicaux libres. Le  $\text{CCl}_4$  est à l'origine d'une nécrose hépatocytaire centrolobulaire accompagnée d'ictère et de nécrose tubulaire rénale, généralement précédée de manifestations neurologiques transitoires (vertiges, troubles visuels, confusion) et digestives (douleurs abdominales, vomissements, diarrhées), (Ruprah *et al.*, 1985).

Le tétrachlorure de carbone est une molécule simple qui, lorsqu'elle est administrée, provoque une nécrose hépatique centrolobulaire (zone 3) et une stéatose hépatique. C'est un composé soluble dans les lipides et est par conséquent très bien réparti dans tout le corps, mais malgré cela, son effet toxique majeur est sur le foie, quelle que soit la voie d'administration. L'administration ou de l'exposition chronique du  $\text{CCl}_4$  provoque la cirrhose du foie, des tumeurs du foie, ainsi que des dommages du rein. La raison pour laquelle le foie est la cible principale est que la toxicité du tétrachlorure de carbone dépend de l'activation métabolique du cytochrome P450 (Figure 5), (Timbrel, 2009).



**Figure. 5:** Mécanisme d'hépatotoxicité de CCl<sub>4</sub>. Adopté de Timbrel (2009)

Le foie est un foyer inflammatoire majeur et les processus inflammatoires contribuent à un certain nombre d'événements pathologiques après l'exposition à divers hépatotoxines. Les cellules de Kupffer libèrent des médiateurs pro-inflammatoires, soit en réponse à une nécrose ou en réponse directe à une hépatotoxine activée ; ces médiateurs pro-inflammatoires sont soupçonnés d'aggraver la lésion hépatique induite par CCl<sub>4</sub> (Badger *et al.*, 1996). Bien que le tétrachlorure de carbone ait été pensé pour être résistant à l'attaque métabolique, il est à présent clair qu'il est métabolisé par les cytochromes P450.

L'activation métabolique de CCl<sub>4</sub> implique principalement les cytochromes P450 (Campo *et al.* 2008). La nécrose hépatique provoquée par CCl<sub>4</sub> est considérée comme étant bioactivée par les cytochromes P450, ce qui entraîne la formation de radicaux libres (trichlorométhyle) et les espèces réactives de l'oxygène (ROS), ce qui initie la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et l'endommagement de la membrane hépatocellulaire (McCay *et al.*, 1984). Ce

processus est suivi par la libération de médiateurs inflammatoires par les macrophages hépatiques activés, qui sont censés potentialiser l'atteinte hépatique induite par CCl<sub>4</sub> (Kim et al, 2009; Raabe *et al.*, 1998).

#### **4.2.1.2. Marqueurs enzymatiques**

En raison des multiples rôles du foie, la fonction hépatique peut être évaluée par plusieurs dosages biochimiques.

##### **a. Transaminases**

Enzymes qui accélèrent le transfert d'un groupement aminé d'un acide aminé sur un acide cétonique, l'augmentation de leur taux dans le sang est en effet révélatrice d'un certain nombre d'affections ; leur mesure permet donc d'orienter le diagnostic hépatique.

##### **- Alanine-aminotransférase**

La Sérum Glutamopyruvate Transférase (SGPT) ou Alanine-aminotransférase (ALAT) est surtout présente dans le foie et les reins et, en quantité plus faible, dans les muscles striés et les globules rouges. Son taux, normalement inférieur à 15 unités internationales par litre, augmente en cas de destruction des cellules du foie, surtout lors d'une hépatite virale, avant l'apparition de l'ictère, parfois de façon très importante. Ce taux augmente également, dans de moindres proportions, au cours d'autres maladies du foie (cancer, cirrhose, hépatite toxique, obstruction biliaire, etc.) et au cours de l'infarctus du myocarde (Yang *et al.*, 2009).

##### **- Aspartate-aminotransférase**

La Sérum Glutamooxaloacetate Transférase (SGOT) ou Aspartate-aminotransférase (ASAT) se trouve principalement dans les cellules des muscles striés, du foie et dans les globules

rouges. Son taux est normalement inférieur à 20 unités internationales par litre. Il augmente en cas de destruction des cellules, en particulier en cas d'infarctus du myocarde (l'importance de l'augmentation étant alors proportionnelle à celle de la lésion) et de myopathie. En cas de destruction des cellules du foie, le taux sanguin d'ASAT augmente moins que celui d'ALAT (Larousse Médical, 2012).

### **- Phosphatases alcalines**

Il s'agit d'un groupe d'enzymes dont le rôle est de catalyser le dédoublement des esters phosphoriques et dont l'action optimale se fait à un pH alcalin. Ces enzymes ont été retrouvées dans de nombreux tissus.. Les phosphatases alcalines sériques s'élèvent en cas de cholestase, atteignant des valeurs comprises entre 2 et 4 fois la limite supérieure de la normale. Cette élévation est due à une production accrue de phosphatases alcalines par l'hépatocyte soumis à la cholestase. L'augmentation des phosphatases alcalines sériques peut être due, non pas à une affection hépatique ou biliaire, mais à une affection osseuse. Ces enzymes sont peu spécifiques compte tenu de l'existence de nombreuses iso-enzymes au sein des tissus osseux, placentaire et rénal (Ozer *et al.*, 2008 ).

### **- Bilirubine totale**

Normalement, la bilirubine non conjuguée, liée à l'albumine est présente dans le plasma, provenant de la dégradation de l'hème par le système réticulo-endothélial. Sa concentration normale est de 9 à 12 mg/L. Captée par l'hépatocyte, elle est véhiculée par les protéines transporteuses jusqu'aux sites de conjugaison ; celle-ci fait intervenir le système UDPG-transférase (Alagille et Odievre, 1978). La bilirubine est excrétée au niveau du pôle biliaire de l'hépatocyte, dans les microcanalicules biliaires, puis diluée dans la bile et drainée par les voies

biliaires intra puis extra-hépatiques. L'hyperbilirubinémie peut donc relever de plusieurs mécanismes : une hyperbilirubinémie non conjuguée peut être due à un excès de production (hémolyse), à un déficit du transport ou plus souvent à la glucurono-conjugaison intra-hépatocytaire (déficit néonatal transitoire ou déficit congénital). Une hyperbilirubinémie de type conjugué est liée à un trouble de l'excrétion ou du drainage biliaire alors qu'une hyperbilirubinémie de type mixte peut être le fait de perturbations complexe de l'hépatocyte. Une rétention biliaire pure peut comporter une hyperbilirubinémie non conjuguée, liée seulement à la saturation des mécanismes de transport et de conjugaison intra-hépatocytaire. A l'inverse, la bilirubinémie peut être anormalement basse, inférieure à 8 mg/L, chez des sujets recevant des inducteurs du système de transport et de conjugaison de la bilirubine, présentant une augmentation de la masse fonctionnelle hépatique ou du débit sanguin hépatique (Alagille et Odievre, 1978).

#### **4.4.2. Hépatoprotection par les plantes**

La maladie hépatique chronique représente l'un des problèmes les plus importants de santé mondiale, avec une cirrhose du foie et des lésions hépatiques d'origine médicamenteuse qui représente la neuvième cause de décès dans les pays occidentaux et en voie de développement (Saleem *et al.*, 2010). Il est bien connu que les médicaments synthétiques disponibles pour traiter les troubles du foie peuvent causer des dommages au foie (Chen *et al.*, 2011). Par conséquent, les médicaments à base de plantes sont devenus de plus en plus populaires, et leur utilisation est largement répandue. L'effet hépatoprotecteur des plantes médicinales a été signalé dans un certain nombre d'études. La consommation de plantes médicinales protège contre les dommages causés au foie par l'inhibition des activités plasmatiques de l'ASAT, ALAT, phosphatase alcaline, bilirubine et de l'albumine, et entraîne une progression histologique de la cholestase, la

stéatose et la cirrhose du foie des souris intoxiquées avec du tétrachlorure de carbone (Sharma, 2010)

Les plantes hépatoprotectrices contiennent une variété de constituants chimiques tels que des phénols, coumarines, monoterpènes, glycosides, alcaloïdes et xanthines (Bhawna et Kumar, 2009). La Glycyrrhizine, un médicament hépatoprotecteur populaire, est connu pour prévenir le développement du carcinome hépatocellulaire. Un certain nombre de plantes sont disponibles pour le traitement des maladies du foie (Rai, 1994; Schuppan *et al.*, 1999). Autour de cent soixante-dix phytoconstituants isolés à partir de cent dix des plantes appartenant à cinquante-cinq familles ont été signalés posséder une activité hépatoprotective (Girish *et al.*, 2009). En Inde, plus de 93 plantes médicinales sont utilisées dans différentes combinaisons dans les préparations de quarante formulations brevetées (Sharma *et al.*, 1991).

## 5. Activité antioxydante

L'oxygène se distingue des autres éléments par la présence de deux électrons non appariés (biradical). Cette propriété limite sa capacité à interagir avec les molécules organiques à moins d'être activé. La réduction univalente de la molécule d'oxygène conduit à la production d'intermédiaires réactifs tels que des radicaux libres, comme l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) et le radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ) et d'autres entités non radicalaires de l'oxygène comme l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) et le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Ces produits issus de la réduction de l'oxygène sont appelés espèces réactives de l'oxygène (Reactive oxygen Species : ROS) (Tableau 3).

**Tableau 3:** Les différents types des espèces réactives (Fontaine, 2009).

<b>Espèces radicalaires</b>	<b>Symbole</b>	<b>Espèces non radicalaires</b>	<b>Symbole</b>
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet-}$	Peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$
Radical hydroxyle	$OH^{\bullet}$	Peroxyde organique	$ROOH$
Radical peroxyde	$ROO^{\bullet}$	Acide hypochlorique	$HOCl$
Radical alkoxyde	$RO^{\bullet}$	Oxygène singulet	$O_2$
Monoxyde d'azote	$NO^{\bullet}$	Peroxynitrite	$ONOO^-$

En conditions physiologiques, une partie de l'oxygène de la respiration qui arrive aux tissus est transformée au niveau de la mitochondrie en ROS : toutes les cellules photosynthétiques et les cellules respiratoires en produisent. Ainsi, chez les animaux, le métabolisme aérobie est la première source de production de ROS (Winston et Di Giulio, 1991). On estime ainsi entre 0,4 à 4 % la part de l'oxygène du métabolisme oxydatif qui donne naissance à des espèces réactives de l'oxygène. Les ROS sont dotées de propriétés oxydantes qui les amènent à réagir, dans l'environnement où elles sont produites, avec toute une série de substrats biologiques (lipides, protéines, ADN, sucres,...) et sont à l'origine des dégâts cellulaires importants tels que la cassure et la mutation de l'ADN (Imlay et Linn, 1988), la peroxydation lipidique membranaire (Fridovich, 1998), l'inactivation des protéines et des enzymes, l'oxydation des sucres ou encore l'oxydation des protéines (Lesser, 2006). Pour se protéger contre les effets toxiques de l'oxygène, les organismes disposent de systèmes permettant de réguler la production et l'accumulation des ROS (Lesser, 2006).



Dans certaines conditions, il apparaît un déséquilibre provoqué par une production exagérée de ROS ou par une diminution des systèmes de défense (enzymatiques et non enzymatiques), ou encore par une association de ces deux phénomènes. Un tel déséquilibre entre les systèmes producteurs de ROS et les systèmes de défense caractérise l'état de stress oxydant et s'accompagne par l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule.

Certaines molécules antioxydantes de petite taille (glutathion, acide urique, bilirubine, glucose, vitamines A, C, E, ubiquinone, caroténoïdes, flavonoïdes) agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables. Ce type d'antioxydant est appelé piègeur (scavenger). La molécule piègeuse sera ensuite régénérée ou détruite par des systèmes de détoxification. La plus importante de ces molécules est le glutathion réduit. Ce dernier, comme les autres piègeurs de faible poids moléculaire, est considéré comme la première ligne de défense contre les attaques radicalaires. Le glutathion et les thiols en général, sont d'excellents réducteurs, donneurs d'hydrogène et de puissants «piégeurs» de radicaux, réagissant directement avec le peroxyde d'hydrogène, le radical superoxyde, le radical hydroxyle et le monoxyde d'azote (Halliwell et Gutteridge, 1999). Il est également un substrat essentiel pour l'enzyme antioxydante le glutathion peroxydase. Ainsi, le glutathion réduit (GSH), une fois oxydé, forme un radical thiol qui réagit avec une deuxième molécule pour former un pont disulfure (GSSG). Le ratio GSSG/GSH (ou GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un indicateur du degré de stress oxydant.

Une autre stratégie, de nature enzymatique, consiste à détruire directement les superoxydes ou les peroxydes. Elle implique notamment les superoxydes dismutases (SOD) qui transforment les anions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Le peroxyde d'hydrogène issu de la dismutation de l'anion superoxyde *via* l'action de la SOD est converti en eau et en oxygène

moléculaire par les catalases (CAT) ou les glutathions peroxydases (GPx). D'autres enzymes telles que les myeloperoxydase, ou peroxinectines des Crustacés sont également impliquées dans l'élimination du peroxyde d'hydrogène et la formation d'acide hypochlorique (Holmblad et Söderhäll, 1999).

## **6. Activité analgésique**

### **6.1. Notion de physiologie de la douleur**

La douleur est une sensation désagréable qui prend naissance par stimulation des terminaisons nerveuses suivie de leur intégration psychique: c'est une douleur nociceptive. La douleur nociceptive peut être superficielle (cutanée, somatique) consciente ou parfaitement localisée ou profonde (viscérale) mettant en cause le système nerveux autonome. Selon les physiologistes, la douleur est un phénomène pathologique résultant de l'activation des récepteurs nociceptifs par une variété de stimuli douloureux. Le stimulus douloureux est causé par la stimulation de récepteurs, les nocicepteurs, puis il est transmis par les voies de la douleur jusqu'au cortex cérébral, provoquant ainsi la perception de la douleur (Besson, 1990).

### **6.2. Différents types de nocicepteurs**

Cinq types de nocicepteurs sont signalés (Mann, 2007):

**Nocicepteurs mécaniques** : Répondent aux stimuli de pressions excessives ou déformations mécaniques, ainsi qu'aux ruptures de la surface de la peau (coupures, incisions)

**Nocicepteurs thermiques** : Ils sont sensibles aux températures nocives chaudes et froides. On ne sait toujours pas à ce jour comment le niveau de température nocif est déterminé.

**Nocicepteurs chimiques :** Les nocicepteurs chimiques sont sensibles à une large variété de molécules. Parmi les stimulants externes on peut noter la capsaïcine, l'acoleine et les toxines d'araignées. Les nocicepteurs peuvent également détecter des stimulants internes comme certains ligands endogènes, quelques acides gras qui proviennent des changements dans les tissus internes.

**Nocicepteurs polymodaux :** Nocicepteurs sensibles à plusieurs types de stimulations.

**Nocicepteurs silencieux ou endormis :** Ces récepteurs sont sensibles à l'inflammation des tissus aux alentours de la lésion. Ils ne répondent pas directement aux stimuli nocifs (chimiques, thermiques ou mécaniques) mais plutôt au résultat d'une lésion, c'est pour cette raison qu'on les appelle silencieux ou endormis.

### **6.3. Gestion de la douleur**

Les médicaments analgésiques standards utilisés dans la gestion et le traitement de la douleur sont réparties en trois catégories, à savoir; opioïdes, analgésiques non opioïdes et les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (Portenoy, 2000; Rossiter, 2012).

#### **6.3.1. Analgésiques opioïdes**

Un opioïde est une substance opiacée psychotrope de synthèse ou peptidique dont les effets sont similaires à ceux de la morphine sans y être chimiquement apparentés. Les analgésiques opioïdes peuvent être classés comme des opioïdes à faible efficacité, haute efficacité et opioïdes à efficacité intermédiaire, et sont utilisés pour le soulagement de la douleur légère, modérée ou chronique sévère (Rang *et al*, 2012; Rossiter, 2012).

Parmi les opioïdes à faible efficacité, la codéine utilisée pour soulager la douleur légère à modérée, et dextropropoxyphène qui a été retiré du marché en raison d'un risque accru à des événements cardiovasculaires indésirables. Les opioïdes à haute efficacité sont représentés par la morphine, un analgésique opioïde précieux utilisé pour soulager les douleurs sévères et la méthadone qui a une longue durée d'action (Samf, 2012).

Les substances morphiniques agissent comme des agonistes en inhibant la transmission des influx nociceptifs par la corne dorsale, supprimant ensuite les réflexes spinaux nociceptifs. Cela se produit sur les récepteurs opiacés dans le système nerveux central et d'autres tissus de liaison (McCarver, 2001). Les récepteurs opioïdes sont largement distribués dans le système limbique, le thalamus, le striatum, hypothalamus, le mésencéphale et la moelle épinière (Rang *et al.*, 2012).

### **6.3.2. Analgésiques non morphiniques**

Les analgésiques non morphiniques forment une classe hétérogène de médicaments symptomatiques induisant une sédation des douleurs (antalgie) sans mettre en jeu les récepteurs opioïdes. Ils se caractérisent par leur activité quasi élective dans les douleurs par excès de nociception, par leur bonne tolérance (à condition d'éviter les traitements prolongés), et l'absence d'effet toxicomanogène (Bannwarth., 1996).

Les analgésiques non morphiniques agissent en réduisant considérablement la synthèse des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique par blocage de l'activité de la cyclo-oxygénase.

l'acide acétylsalicylique permet la prévention de la sensibilisation des terminaisons nerveuses nociceptives aux substances algogéniques, produisant ainsi une activité analgésique (Webster et Jordan, 1989; Rang *et al.*, 2012).

## 6.4. Les analgésiques d'origine végétale

Dans le domaine de l'analgésie et le contrôle de la douleur, les plantes médicinales et leurs extraits sont devenus une alternative efficace pour contrecarrer les effets secondaires potentiels et la faible efficacité des médicaments chimiques. Des exemples de ces plantes sont présentés dans le tableau 4.

**Tableau 4 :** Quelques plantes médicinales à activité analgésique

Nom scientifique	Famille	Parties utilisées	Références
<i>Salvia hydrangea</i>	Lamiaceae	Feuilles, fruits	Haj Hashemi <i>et al.</i> , 2000
<i>Balbisia calycina</i>	Ledocarpaceae	Parties aériennes	Mino <i>et al.</i> , <i>et al.</i> , 2002
<i>Pentatropis capensis</i>	Chelicerata	Plante entier	Chandrasekaran et suseela, 2011
<i>Solanum melongena</i>	Solanaceae	Fruits	Dashti Rahmatabadi <i>et al.</i> , 2009

## 7. *Capparis spinosa*

*Capparis spinosa* L., est une plante de la famille des Capparidaceae communément appelée le câprier, el Kabbar en Algérie. C'est un petit arbuste épineux, prostré, largement répandu dans le bassin méditerranéen, et dans les milieux secs le long du littoral d'Europe, d'Afrique du nord sur le partout du bassin méditerranéen jusqu'au sud de l'Asie et dans

Australie. Le câprier est traditionnellement employé pour des raisons pharmacologiques, comme il est utilisé en cuisine méditerranéenne dans diverses préparations (Ozenda, 1991).

## 7.1. Classification botanique

La classification botanique de *Capparis spinosa* L. est présentée dans le tableau 5.

**Tableau 5:** Classification botanique de *Capparis spinosa* L.

Règne	Planta
Sous règne	Tetracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous Classe	Dilleniidae
Ordre	Capparales
Genre	<i>Capparis</i>
Famille	Capparidaceae
Espèce	<i>Capparis spinosa</i>

C'est un arbuste qui mesure 50 à 80 cm en hauteur et 75 cm à 1 m en largeur. Il présente un tronc court avec plusieurs rameaux caractérisés par un aspect ascendant, une couleur verte ou rougeâtre selon les variétés et la présence d'épines stipulaires. Les feuilles ont généralement des formes ovales à arrondies avec une grande variabilité entre les espèces portant sur la longueur du pétiole ainsi que sur la largeur et la forme du limbe. L'apparition des boutons floraux est continue, de sorte que toutes les étapes transitoires de développement, à partir de bourgeons aux fruits, peuvent être observées simultanément. Les fleurs sont de 5-7 cm de diamètre, axillaire et

solitaire avec des sépales et les pétales blancs violacés. Le fruit (caberberry) est ellipsoïde, avec un péricarpe mince. Les éclats de fruits à maturité donnent des graines dans une chaire pourpre pâle. Les graines sont réniforme de 3-4 mm de diamètre (Saadaoui *et al.*, 2007)

## 7.2. Composition chimique de la plante

Plusieurs études phytochimiques ont montré que *Capparis spinosa* comporte un amalgame de composés actifs dans ses diverses parties. Il a été montré que les bourgeons floraux du câprier renferment les flavonoïdes suivants : la quercétine, la rutine, la quercétine-3-rutinosides, la quercétine-7-O-glucorhamnoside, le kaempférole-3-rutinosides, le kaempférole 3-O-rhamnosyl-rutinoside (Inocencio *et al.*, 2000; Satyanarayana *et al.*, 2008). La partie aérienne de la plante contient aussi la quercétine 3-O-glucoside, la quercétine 3-O-glucoside-7-O-rhamnoside, la quercétine 3-O-[6''- $\alpha$ -L-rhamnosyl-6''- $\beta$ -D-glucosyl]- $\beta$ -D-glucoside et la quercétine-7-O-D-glucopyranoside- $\beta$ -L-rhamnopyranoside (Satyanarayana *et al.*, 2008). Le câprier est également riche en acides hydroxycinnamiques y compris l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide cinnamique (Panicoa *et al.*, 2005 ; Satyanarayana *et al.*, 2008). Des substances homologues aux composés polyphénoliques en particulier : le cappaprenole-12, le cappaprenole-13 et le cappaprenole-14 ont été isolés de la plante (Satyanarayana *et al.*, 2008).

Les alcaloïdes sont aussi présents dans le câprier, ils sont distribués principalement dans les racines et les graines (Panicoa *et al.*, 2005 ; Satyanarayana *et al.*, 2008). La teneur élevée en alcaloïdes a été trouvée dans les racines de la plante où la stachydrine représente 87,43 % des alcaloïdes totaux. Trois alcaloïdes spermidines (la capparispine, la capparispine 26-O- $\beta$ -D-glucoside et la cadabicine 26-O- $\beta$ -D-glucoside hydrochloride) ont été identifiés dans les racines

de la plante (Fu *et al.*, 2008). La cadacine, un nouvel alcaloïde a été isolée du câprier (Satyanarayana *et al.*, 2008).

Romeo *et al.* (2007) ont identifiés environ 145 composés volatiles dans le câprier. Les aldéhydes (22.2 %) et les esters (21 %) représentent les classes chimiques les plus abondantes dans la plante. Les feuilles du câprier renferment principalement les isothiocyanates, les n-alkanes, les terpenoïdes, les phenyl propanoïdes, les aldéhydes, et les acides gras. Les principaux composants de l'extrait volatile de la plante sont le thymol (26.4 %), l'isothiocyanate d'isopropyle (11%), les 2-hexenal (10.2%) et l'isothiocyanate butylate (6.3 %). Les composés volatils des fruits mûrs et des racines de la plante sont présentés principalement par le méthyle isothiocyanate, l'isopropyle isothiocyanate et le sec-butyl isothiocyanate (Satyanarayana *et al.*, 2008).

Le glucocapperine (90%) représente le glucosinolate majeure des bourgeons floraux du câprier (Panicoa *et al.*, 2005). D'autres glucosinolates comme la sinigrine, la glucoiberine et la glucocleomine ont été également isolées à partir des graines et des feuilles de la plante. En outre, les mêmes auteurs ont rapporté que les indoles glucosinates comme le glucobrassicine, le neoglucobrassicine et le 4-methoxyglucobrassicine sont présents dans les racines de la plante (Satyanarayana *et al.*, 2008). Des triterpenoïdes ( $\alpha$ -amyrin), des stérols, des saponines et de la vitamine C ont été détectées dans la plante (Tesoriere *et al.*, 2007 ; Satyanarayana *et al.*, 2008).

La composition en caroténoïde ( $\beta$ -carotène, la lutéine, la néoxanthine et la violaxanthine) et en tocophérols est distincte dans les feuilles, les bourgeons et des fleurs de *Capparis spinosa*, (Tlili *et al.*, 2009).



De plus, les câpres contiennent quelques composés minéraux tels que le sodium, le potassium, le phosphore, l'aluminium, le magnésium et le fer (Rahnavard et Razavi, 2016). Les graines du câprier contiennent aussi des protéines, des lipides et des fibres (Tlili *et al.*, 2010).

### **7.3. Usage traditionnel du câprier**

Le câprier est utilisé depuis l'antiquité dans plusieurs pays dans la cuisine et en médecine folklorique. Les bédouins bouillaient les feuilles coupées, ou en poudre, dans l'eau et inhalent les vapeurs pour le mal de tête. Les Libanais, considèrent les racines comme un remède du malaria. Les Iraniens, quant à eux, l'emploient pour la fièvre et le rhumatisme intermittents. La population Algérienne, bouillent la plante entière dans l'huile et l'utilisent en tant qu'hydragogue (Shahina, 1994). Les fleurs pourraient servir comme un stimulant pour augmenter l'érection et apaiser les douleurs. Les fruits ont été utilisés par le grec ancien pour traiter les convulsions (Tlili *et al.*, 2011). Les câpres et les feuilles sont généralement utilisées en cuisine méditerranéenne comme épice, apéritive avec les olives et le fromage ou comme complément à la viande, aux salades, aux pâtes, et à d'autres nourritures. Les câpres sont connues dans différents pays méditerranéens pour leurs propriétés curatives, expectorantes, diurétiques, anti-hypertensives, cataplasmiques et toniques (Satyanarayana *et al.*, 2008). L'écorce des racines a un pouvoir analgésique, laxatif, astringent, diurétique, emménagogue et vermifuge. Il est employé aussi dans le traitement du rhumatisme, le scorbut, la splénomégalie et le mal de dents. Les feuilles sont utilisées dans le cas de la goutte. Les tiges sont employées pour la dysenterie. Le câprier est un stimulant de la faim et de la soif, et de ce fait, il stimule l'appétit (Duke *et al.*, 2003). Les câpres ont été suggérées pour l'athérosclérose et la sciatique, particulièrement en Afrique du Nord (Duke *et al.*, 2003). Les boutons floraux et les racines sont employés en tant que désinfectants rénaux, diurétique, tonique et pour l'artériosclérose et en tant que compresses pour les yeux (Batanouny *et al.*, 1999).

#### 7.4. Activités biologiques du câprier

Les bourgeons de fleurs et de feuilles de *Capparis spinosa* ont été étudiés pour leurs composés phénoliques totaux, la rutine, tocophérols, caroténoïdes et le contenu en vitamine C et en corrélation avec ses utilisations médicinales (Tlili *et al.*, 2010). Le câprier est doué de plusieurs activités biologiques. Il est connu comme un agent analgésique, antirhumatismale, il est aussi impliqué dans le traitement de la goutte. Panico *et al.* (2005) ont montré que l'extrait méthanolique des bourgeons floraux du câprier représente un effet protecteur sur les chondrocytes via leur activité inhibitrice sur la production des prostaglandines, le monoxyde d'azote et des espèces réactives de l'oxygène qui provoquent la biodégradation du cartilage. Satyanarayana *et al.* (2008) ont rapporté que le câprier possède un effet anti-inflammatoire, du fait que, le capparénole-13 isolé à partir du câprier a inhibé considérablement l'œdème de l'oreille des rats induit par la carragénine. Trombetta *et al.* (2005) ont rapporté que l'extrait méthanolique des bourgeons floraux présente un effet antihistaminique et antiallergique.

Les substances naturelles extraites du câprier sont également d'importants agents antioxydants. En effet, l'extrait méthanolique des bourgeons floraux cru de la plante a montré une activité antioxydante dans divers modèles *in vitro*, d'où il est suggéré leur utilisation potentielle dans les conditions pathologiques du stress oxydant (Tesoriere *et al.*, 2007). En outre, le même extrait *in vitro*, a montré une forte activité antioxydante et un grand pouvoir antiradicalaire et même une application locale de cet extrait protège la peau contre les érythèmes provoqués par les rayons UV (Bonina *et al.*, 2002).

L'extrait aqueux de la partie aérienne de la plante est utilisé pour le traitement des douleurs hépatiques (Handa *et al.*, 1986). En effet, cet extrait est largement utilisé pour déterminer

l'activité antihépatotoxique de différents constituants de la plante. L'acide benzoïque p-méthyl, isolé de la fraction méthanolique de l'extrait aqueux a montré une activité antihépatotoxique significative (Gadgoli et Mishra, 1995).

L'extrait aqueux de la plante a révélé, *in vivo*, une activité anti-hyperglycémiant sans affecter la concentration sanguine de l'insuline. En effet, l'administration orale de l'extrait aqueux de la plante à raison de 20 mg/kg pendant 14 jours, a produit une diminution significative du taux de glucose sanguin chez les rats diabétiques. Le taux du glucose sanguin a été presque normalisé après 2 semaines d'administration orale et d'une façon quotidienne de 20 mg/kg de l'extrait aqueux de câprier. En plus, ce traitement provoque ainsi une diminution de taux plasmatique des triglycérides après 1 à 2 semaines et du cholestérol après 4 à 7 jours (Eddouks *et al.*, 2005; Lemhadri *et al.*, 2007). Une protéine purifiée des graines de *Capparis spinosa*, possède un effet anti- proliférateur des cellules HepG2 (hépatome), des cellules HT29 (cancer du côlon) et des MCF-7 (cancer du sein), (Lam et Ng, 2008). Zhou *et al.* (2011) ont montré un effet inhibiteur du NF- $\kappa$ B par un biflavonoïde extrait des fruits de *Capparis spinosa*

La câpre a également montré une activité antimicrobienne. Des travaux récents ont montrées que l'extrait de *Capparis spinosa* possède une activité importante contre le *Plasmodium falciparum* (Arena *et al.*, 2008 ; Tlili *et al.*, 2009).

L'extrait méthanolique du bourgeon floral de *Capparis spinosa* peut être très utile dans le traitement d'infections de l'Herpès simplex de type II chez les patients immunodéprimés puisqu'il est doté de propriété antivirales et immunomodulatrices (Arena *et al.*, 2008). L'administration de doses répétées par voie orale des extraits aqueux de *Capparis spinosa* a évoqué un puissant effet antihyperglycémiant et anti- obésité (Lemhadri *et al.*, 2007). Enfin, l'extrait éthanolique d'écorce

de racine a révélé des effets hépatoprotecteurs dose-dépendants contre les lésions provoquées par le CCl<sub>4</sub> (Aghel *et al.*, 2007). Les travaux de Arrar *et al.* (2013) et Benzidane *et al.* (2013) ont montré une activité antioxydante et bronchorelaxante des extraits de *Capparis spinosa*.

## **Matériels et méthodes**

## 1. Matériels

### 1.1. Matériel végétal

La plante *Capparis spinosa* a été récoltée entre le mois de mai et juillet 2014 dans la région de Béni-Aziz, Sétif au nord-est de l'Algérie. L'identification a été faite par Pr. Laouer H (Université de Sétif-1, Sétif, Algérie). Les feuilles et les fruits (Figure 6) sont bien nettoyés et séchés à l'ombre et à température ambiante.



**Figure. 6:** *Capparis spinosa*. A : Feuilles, B : Fruits

### 1.2. Animaux

Des souris mâles, N.M.R.I de l'Institut Pasteur d'Algerie 25 et 30 g de poids ont été utilisés dans l'étude *in vivo*, ces animaux ont été placés dans des cages où ils ont accès libre à l'eau et à l'alimentation qui a été fournie par l'Office National des Aliments de Bétails (ONAB) d'El Kseur (Bejaia). Les souris sont soumises pendant 8 jours à une période d'adaptation sous des conditions

de lumière et de température contrôlées (12 heures d'éclairage et Température d'environ 25°C) et enfin sont pesées, marquées, et soumises à jeun pendant une nuit avant leur utilisation.

### **1.3. Sang humain**

Les échantillons de sang proviennent de sujets volontaires non-fumeurs (n = 5). Les prélèvements sont réalisés au niveau de la veine du pli du coude. Le sang est collecté dans des tubes avec un anticoagulant (héparine de lithium). Ces échantillons sont utilisés pour l'isolement immédiat des lymphocytes.

## **2. Méthodes**

### **2.1 Préparation des extraits**

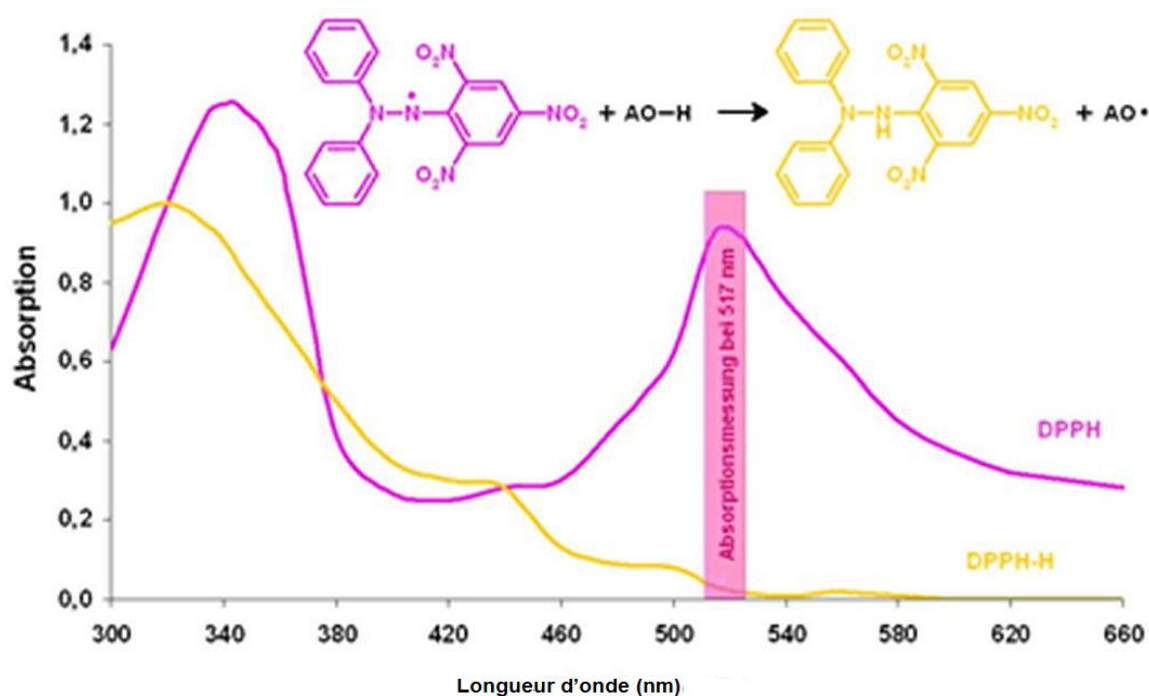
Les parties aériennes de la plante (fruits et feuilles) préalablement broyées en poudre sont mises en contact avec le mélange méthanol/eau (85%) volume /kg. Le mélange est soumis à une agitation pendant une semaine à température ambiante. Il est filtré sur la laine de verre, puis sur verre fritté N° 03 pour obtenir le premier filtrat. L'extraction est répétée une deuxième fois pour 5 jours où le précipité est complété à 1 litre par le méthanol 85% pour obtenir après filtration un deuxième filtrat qui est mélangé avec le premier. L'extrait est soumis à une évaporation à 40 °C utilisant un rotavapor Büchi (Allemagne) puis séché à l'air libre pour obtenir l'extrait brut (méthanolique) (Arrar *et al.*, 2013).

### **2.2. Évaluation de l'activité antioxydante *in vitro***

Deux tests différents ont été utilisés pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de *Capparis spinosa* à savoir, le test de DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) et le test du blanchissement de  $\beta$ -carotène.

### 2.2.1. Test au DPPH

L'activité anti-radicalaire des différents extraits de *Capparis spinosa* est déterminée en utilisant le DPPH comme un radical libre relativement stable selon le protocole décrit par Boumerfeg *et al.* (2009). Dans ce test, les antioxydants réduisent le diphényl picryl-hydrazyl (DPPH) ayant une couleur violette en un composé jaune (figure 7). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.



**Figure. 7:** Graphique montrant le changement de couleur de DPPH du violet au jaune quand il est exposé à une substance antioxydante (Pérez et Aguilar, 2013)

Cinquante (50)  $\mu\text{l}$  de chacune des différentes concentrations des extraits ont été incubés avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH à 0.004%. Après une période d'incubation de 30 minutes, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées. Les résultats obtenus pour chaque extrait



testé ont été exprimés par rapport à ceux obtenus pour le BTH pris comme antioxydant de référence. L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ d'activité anti-radicalaire} = [(A_{517} \text{ contrôle} - A_{517} \text{ échantillon}) / A_{517} \text{ contrôle}] \times 100$$

La concentration inhibitrice de 50% de l'activité du DPPH (IC<sub>50</sub>) exprimée en µg/ml de chaque extrait est calculée et comparée avec celle du BHT.

### **2.2.2. Test de β-carotène/acide linoléique**

L'activité antioxydante dans ce test, est réalisée selon la méthode décrite par Miller en 1971 et modifiée par Aslan *et al.* (2006). Brièvement, une émulsion de β-carotène/acide linoléique a été préparée par la solubilisation de 0.5 mg de β-carotène dans 1000 µl de chloroforme. Un volume de 25 µl d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40 sont additionnés. Le chloroforme est ensuite évaporé et 100 ml d'eau saturé en oxygène ont été ajoutés avec une agitation vigoureuse de l'émulsion résultante. Un volume de 2500 µl de l'émulsion précédente est ajouté à 350 µl de l'extrait à analyser (2 mg/ml). L'antioxydant standard (BHT) est utilisé comme un contrôle positif, alors que le contrôle négatif est réalisé par le solvant de solubilisation des extraits. La décoloration du β-carotène est suivie à 490 nm à des intervalles de temps réguliers pendant 48 heures. Le pourcentage de l'activité antioxydante relative des extraits (AA%) est calculé selon l'équation suivante :  $AA\% = (A_{\text{échantillon}} / A_{\text{BHT}}) \times 100$

## **2.3. Activité immunomodulatrice**

### **2.3.1 Isolation des lymphocytes humains sur Ficoll-hypaque**

Un volume de 20 ml du sang humain est obtenu à partir de quatre donneurs volontaires en bonne santé. L'échantillon de sang est dilué avec le même volume d'une solution saline

tamponnée au phosphate (PBS) contenant l'éthylèneglycol-bis ( $\beta$ -aminoéthyléther) -N,N,N',N'-tétraacétique (EGTA, 1 mM), (Potjo *et al.*, 2010). Les cellules périphériques mononuclées du sang (PBMC), y compris les lymphocytes T, sont isolées à partir du sang en utilisant l'Histopaque-1077 (Sigma) comme gradient de centrifugation différentielle. En bref, l'échantillon de sang dilué est déposé en couche soigneusement sur l'Histopaque-1077. Le mélange est centrifugé à 400 g pendant 35 min à 20°C. Ensuite, les lymphocytes sont transférés et lavés deux fois avec trois volumes de PBS-EGTA. Après lavage, la concentration cellulaire est ajustée à  $10^6$  cellules  $\text{ml}^{-1}$  dans le milieu de culture Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Sigma) auquel est ajoutés du sérum bovin fœtal (FBS, Sigma) 10% (v/v), de la pénicilline (100 U/ml) et de la streptomycine (100 mg/ml). La viabilité cellulaire est contrôlée en utilisant le bleu de trypan à 0,4 % (colorant permettant de distinguer les cellules vivantes).

### 2.3.2. Comptage des cellules

La détermination du nombre cellulaire est une étape nécessaire qui précède chaque expérience. La méthode du bleu de trypan a été utilisée pour faire le dénombrement des cellules. Cette méthode permet de distinguer entre les cellules vivantes qui apparaissent claires entourées d'un halo bleu, et les cellules mortes qui apparaissent totalement bleues. Pratiquement, un volume de 10  $\mu\text{l}$  de la suspension cellulaire est mélangé avec 10  $\mu\text{l}$  de la solution du bleu de trypan 0,4 %. La solution obtenue est incubée pendant 5 minutes à température ambiante. Puis, les 2 chambres de la cellule de Thoma sont remplies et les cellules sont comptées à l'aide d'un microscope sous un objectif x10. Le nombre de cellules est déterminé selon la formule suivante:

$$\text{Nombre de cellules/ml} = \text{Nombre de cellules par carré} \times \text{le facteur de dilution} \times 10^4$$

### 2.3.3 Test de Prolifération des lymphocytes

Pendant l'essai de la prolifération, la concanavaline A (Con A, Sigma), mitogène spécifique des cellules T est utilisée à une concentration finale de 10 µg/ml. Les cultures sont réalisées en quadruples, dans des plaques de microtitration de 96 puits à fond plat et incubées 72 heures à 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>. Pour déterminer l'effet des extraits de *Capparis spinosa*, 100 µl de lymphocytes (10<sup>6</sup> cells/ml) additionnés de Con A (10 µg/ml) sont mis en culture en présence de l'extrait à différentes concentrations (100, 200, 400 µg/ml). A la fin de l'incubation, la prolifération des cellules est déterminée par la méthode au MTT [3 (4,5 diméthylthiazol 2 yl) 2,5-diphényl tétrazolium bromure, Sigma], (Mosmann, 1983). Ce test d'évaluation de la prolifération cellulaire est basé sur la capacité des cellules vivantes à réduire le MTT, de couleur jaune, en son métabolite le bleu de formazan (de couleur violette). Le nombre de cellules vivantes après 72 h d'incubation en présence ou non des composés à tester ou de produits de référence est directement proportionnel à l'intensité de la coloration violette mesurée.

En bref, après 72 h d'incubation, les surnageants de tous les puits sont retirés et remplacés par 100 µl de DMEM et 10 µl de MTT (5 mg/ml); après 4 h d'incubation (37°C, 5% de CO<sub>2</sub>), 90 µl de milieu sont retirés et remplacés par 100 µl d'isopropanol contenant de l'HCl 0,04 M, pour lyser les cellules et solubiliser les cristaux de formazan. Après 2 h d'agitation, la plaque est lue au lecteur de microplaques (Thermo Fisher Scientific), à 570 nm contre une longueur d'onde de 630 nm de référence.

### 2.3.4. ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)

Une partie du surnageant de la culture cellulaire est utilisée pour doser l'IL-2 selon le protocole d'ELIA utilisant un kit eBioscience (Inc. San Diego, USA). Le principe est basé sur

l'utilisation de deux anticorps : un anticorps monoclonal anti-IL-2 et un polyclonal conjugué à la biotine. Une courbe d'étalonnage est préparée à partir du standard fourni par le kit de dosage. Les résultats sont exprimés en pg/ml. Les plaques d'ELISA à 96 puits ont été préalablement revêtues pendant une nuit avec l'anticorps de capture (anti-IL2). Après blocage des sites avec plusieurs lavages, les échantillons sont ajoutés pour l'incubation pendant 2 h. Après lavage des puits, l'anticorps de détection (anti-IL2) biotinylé et conjugué à l'avidine couplée à la peroxydase horseradish pendant 1 heure à température ambiante.

La solution révélatrice contenant le substrat pour l'enzyme (tetraméthyle benzidine) est ensuite ajoutée pour l'incubation, suivie de l'addition de solution d'arrêt. L'absorbance a été lue après environ 30 minutes avec un lecteur de plaque ELISA à 450 nm.

### **2.3.5. Préparation des globules rouges de mouton**

Le sang du mouton est prélevé de la veine jugulaire externe de mouton dans l'abattoir local de la ville de Sétif. Il est mélangé dans la solution d'Alsèver et gardé à 4°C puis placé dans un tube à centrifugation. La solution d'Alsèver (glucose 2,05 g, chlorure de sodium 0,42 g, citrate de sodium 0,80 g, acide citrique 0,55 g, eau distillée qsp 100 ml) est une solution saline isotonique, équilibré à pH 6,1, habituellement utilisée comme agent de conservation ou anticoagulant dans le sang. Elle permet le stockage du sang pour une durée au réfrigérateur jusqu'à dix semaines (Alsever et Ainslie, 1941). Le PBS est ajouté de manière à remplir presque complètement le tube, mélangé et centrifugé à 2500 t/min. Le surnageant est aspiré, et les globules rouges obtenus sont lavés deux fois par le PBS avec centrifugation à chaque fois. Les globules rouges sont amenés à une concentration de  $5 \times 10^9$  cells/ml dans le PBS, adéquates pour l'immunisation des souris (Ghule *et al.*, 2006).

### 2.3.6. Évaluation de la réponse humorale (production des anti-corps)

La réponse immunitaire anti SRBC a été évaluée par le test l'hémagglutination (HA) comme suit (Van der Zijpp et Leenstra, 1980). Les animaux sont divisés en quatre groupes pour chaque extrait (fruits et feuille), chaque groupe contenant six souris. Les souris sont immunisées par voie intrapéritonéale (ip) avec  $5 \times 10^9$  SRBC au jour 0. Différentes concentrations de l'extrait (25, 50 et 100 mg/kg) sont injectées par voie intrapéritonéale pour les trois groupes concernés au jour -2, -1, 0, 1 et 2. Une solution saline normale NaCl a été administrée au quatrième groupe comme contrôle aux mêmes jours. Les échantillons de sang sont prélevés chez les souris par ponction rétro-orbital au jour 8 et étaient centrifugé à 2500 rpm pendant 10 min pour séparer le sérum. Après l'inactivation du sérum par la chaleur à  $56^\circ\text{C}$  pendant 30 min, une étape de dilution en série (en 25  $\mu\text{l}$  d'aliquote) est réalisée avec le PBS en utilisant des plaques de microtitrage. En bref, 25  $\mu\text{l}$  du sérum des souris, dilué deux fois par le PBS dans des microplaques, est additionnée par 25  $\mu\text{l}$  de 1% (v/v) de la suspension SRBC (Sheep Red Blood Cells). Les plaques sont incubées pendant 1heure à  $37^\circ\text{C}$ . Le titre des anticorps (qui est l'inverse de la dilution) est enregistré comme le dernier puits montrant une hémagglutination visible.

### 2.3.7. Hypersensibilité retardée induite par les globules rouges du mouton

Cette étude est réalisée selon la méthode d'Amirghofran *et al*, 2010 avec quelque modification. L'hypersensibilité retardée est induite chez des souris en utilisant comme antigène les globules rouges du mouton (SRBC) préparé au laboratoire.

Les souris sont divisées en trois groupes pour chaque extrait méthanolique (fruits et feuilles). Chaque groupe contenant six souris. Différentes concentrations de l'extrait (50, 100 et 200 mg/kg) sont injectées par voie intrapéritonéale dans les trois groupes concernées aux jours

-2,- 1, 0, 1 et -2. La solution de NaCl est injectée au quatrième groupe, comme contrôle, le même jour. Les animaux traités ont été immunisés par voie sous-cutanée en injectant des globules rouges de mouton ( $5 \times 10^9$  GRM) au jour 0. Par la suite, Les souris sont challengées par une injection de suspension de GRM dans le coussinet de la patte droite arrière au jour 7. L'épaisseur du tampon du pied, mesurée par un pied à coulisse (Mitutoyo, Japon) après 24 h pour chaque souris, a été prise comme une mesure de l'hypersensibilité de type retardé (DTH).

### 2.3.8. Clearance de l'encre de Chine

L'activité phagocytaire *in vivo* du système réticulo-endothélial est déterminée par le test de clearance du carbone (Xu *et al.*, 1982). Les extraits méthanoliques de feuilles et de fruits (50, 100 et 200 mg/kg) sont administrés par voie orale à chaque groupe d'animaux pendant 5 jours. Après la dernière injection (jour 5), l'encre de Chine est injectée aux animaux par voie intraveineuse en vue de tester le pouvoir de clearance. Ce test est réalisé suivant la technique décrite par Sarker *et al.* (2000), Chao et Lee (2001) et Li *et al.* (2001).

L'encre de Chine est centrifugée à 2000 g pendant 30 min pour éliminer les particules. Le surnageant est récupéré dans un tube stérile et laissé incubé dans un bain marie à 40°C pendant toute la durée de l'expérience. Les souris sont injectées par voie intraveineuse dans la veine alaire à raison de 1 ml/kg de poids corporel. Des prélèvements sanguins de 50 µl sont effectués 0 min et à 15 min après l'injection de l'encre de Chine. Le sang prélevé est transféré directement dans des tubes contenant 4 ml de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à 0,1 %. Après centrifugation à 850 g pendant 10 min, le surnageant est récupéré et l'absorbance est déterminée à 675 nm avec un spectrophotomètre.

L'indice phagocytaire K est calculé en utilisant l'équation suivante:

$$K = (\text{Log } A_1 - \text{Log } A_2) / 15, \text{ où } A_1 \text{ et } A_2 \text{ sont les absorbances à 0 et 15 min, respectivement.}$$

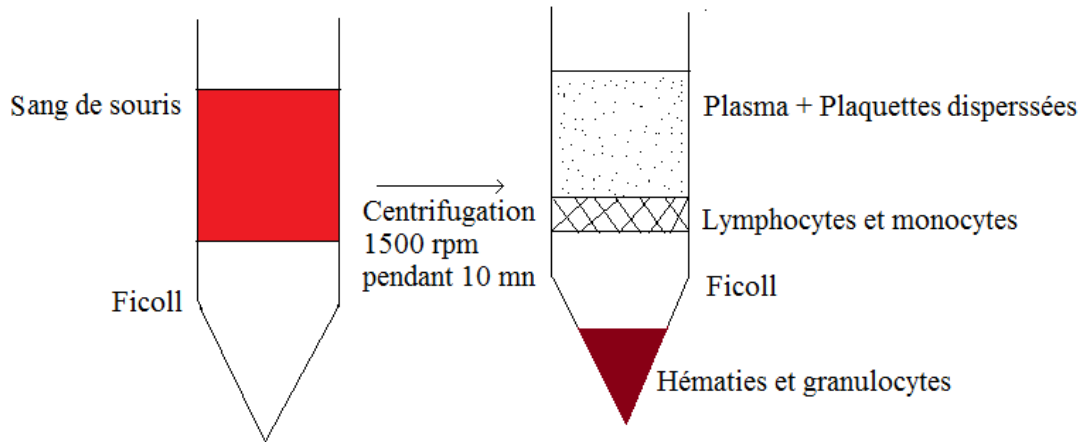
### **2.3.9. Myélosuppression induite par le cyclophosphamide**

Lors de la myélosuppression induite par le cyclophosphamide, les souris sont divisées en 8 groupes de 5. Le groupe I (groupe témoin) et le groupe II (groupe cyclophosphamide) ont reçu le véhicule pendant une période de 13 jours. Les animaux traités ; groupe III, IV et V reçoivent par gavage l'extrait de fruits (50, 100 et 200 mg/kg, respectivement) pendant 13 jours. Les groupes VI, VII et VIII reçoivent l'extrait de feuilles (50, 100 et 200 mg / kg, pendant 13 jours. L'immunosuppresseur de référence, cyclophosphamide, a été administré aux groupes II et VIII à raison de (30 mg / kg, ip), 1h après le traitement, le 11<sup>ème</sup>, 12<sup>ème</sup> et 13<sup>ème</sup> jour. Les échantillons de sang ont été prélevés le 14<sup>ème</sup> jour de l'expérience, et le total des globules blancs (GB) est déterminé avec un hémocytomètre (Bafna et Mishra, 2004).

### **2.3.10. Evaluation des lymphocytes T par la technique de rosette**

Le principe de Kaplan et Clark (1974) a été adoptée pour cette étude. Cinq groupes de 5 souris mâles (25 et 30 g) sont utilisés dans cette étude. Le premier groupe (contrôle) a reçu une solution saline normale (10 ml / kg p.o.). Le groupe 2 et 3 ont reçu des doses progressives de l'extrait de feuilles (200 et 400 mg / kg p.o.), respectivement pendant 7 jours. Les groupes 4 et 5 ont reçu l'extrait de fruits (200 et 400 mg / kg p.o.), respectivement pendant 7 jours. Le 8<sup>ème</sup> jour, le sang est recueilli à partir des plexus orbitaux des souris dans des tubes contenant 0,25 ml de solution d'Alsever stérilisée à l'autoclave pendant 20 min à 10 Lb de pression. Un volume de 1ml de PBS (pH 7,5) est ajouté pour diluer le sang. Afin de séparer les lymphocytes, 0,5 ml d'Histopaque-1077 est mis dans des nouveaux tubes. Le sang dilué (1ml), prélevé avec une pipette Pasteur est soigneusement déposé en couche au dessus de l'Histopaque-1077. Après centrifugation pendant 10 min à 1500 rpm, la couche supérieure est aspirée et éliminée. La couche intermédiaire contenant les lymphocytes est récupérée dans des tubes à centrifuger de 15 ml. Pour laver la couche cellulaire, 5 ml de PBS sont ajoutés. La suspension cellulaire est ensuite

centrifugée pendant 10 min à 1500 rpm. Le surnageant est éliminé en inversant les tube jusqu'à la dernière goutte sur un papier absorbant. Le culot sédimenté est mis en suspension avec 0,5 ml du milieu de culture DMEM/ sérum (5 %). Une suspension de SRBC à 0,5 % (0,5 ml) est ajouté à la suspension leucocytaire ; le mélange est placé 15 mn au bain-marie à 37°C, centrifugé 5 min à 1000 rpm et laissé une nuit à 4°C. Le nombre des lymphocytes formant les rosettes et qui ne forment pas de rosettes est enregistré microscopiquement dans le champ de vue x40 de grossissement. Le pourcentage de lymphocytes T est ensuite calculé en divisant le nombre de lymphocytes en rosettes par le nombre total de lymphocytes (rosettes et non rosettes).



**Figure. 8:** isolement des lymphocytes du sang de souris par centrifugation sur Ficoll-Hypaque.

## 2.4. Activité anti-inflammatoire *in vivo*

### 2.4.1. Inflammation aiguë induite par la carragénine chez les souris

La méthode de l'œdème de la patte de souris (Winter *et al.*, 1962) est utilisée pour l'évaluation de l'effet anti-inflammatoire des extraits. L'injection de la carragénine sous le coussinet plantaire de la patte postérieure de la souris entraîne l'apparition d'un œdème de la région métatarsienne. L'intensité de cet œdème, qui atteint son maximum de développement



en 5 heures, est évaluée grâce à l'augmentation du volume de la patte (par rapport au volume initial). L'administration préventive par voie orale d'un produit anti-inflammatoire réduit le développement de l'œdème.

Les souris pesées et réparties en six groupes de six, ont été mises à jeun 16 h avant l'expérimentation. Les extraits sont administrés par gavage, pendant trois jours successifs de la manière suivante :

- Groupe témoin négatif (contrôle) : recevait uniquement de l'eau distillée.
- Groupe témoin positif (référence) : recevait de l'indométacine (10 mg/kg).
- Groupe 1 : traité par la solution d'extrait de feuilles à 200 mg/kg du poids corporel.
- Groupe 2 : traité par la solution d'extrait feuilles à 400 mg/kg du poids corporel.
- Groupe 3 : traité par la solution d'extrait fruits à 200 mg/kg du poids corporel.
- Groupe 4 : traité par la solution d'extrait fruits à 400 mg/kg pour chaque souris.

Au troisième jour, une heure après le gavage. Chaque groupe d'animaux a reçu par injection sous-plantaire de 20 µl de solution saline à la patte gauche et 20 µl de carrageenane 1% (p/v), (Sigma-Aldrich) dans une solution saline à la patte droite (Juhás *et al.*, 2009 ). L'épaisseur de l'œdème est déterminés à l'aide d'un pied à coulisse à affichage électronique (Mastercraft, Canada) immédiatement avant l'injection sous-plantaire, et 1, 2, 3, 4, 5, 6 h après. L'augmentation du volume de la patte (gonflement) a été calculée par la soustraction de l'épaisseur de la patte gauche (solution saline) de l'épaisseur de la patte droite (carrageenane).

L'activité anti-inflammatoire a été calculée en pourcentage d'inhibition de l'œdème chez les animaux traités avec l'extrait testé ou l'indométacine par rapport au groupe contrôle non traité. Le pourcentage (%) de l'inhibition de l'œdème est calculé selon la formule :

Pourcentage (%) d'inhibition =  $100 (T_0 - T_t) / T_0$

Tt = épaisseur de la patte du groupe traité à un temps donné (t).

T0 = épaisseur de la patte du groupe témoin au même moment.

#### **2.4.2. Effet anti-hémolytique**

Le test de l'inhibition de l'hémolyse des globules rouge est réalisé avec la méthode de Abe *et al.* (1991) avec quelques modifications.

##### **2.4.2.1. Préparation des hématies**

Les érythrocytes du sang humains entier (10 ml) recueillis et transférés dans des tubes de centrifugation. Les tubes sont centrifugés pendant 10 minutes à 2200 t/min et lavés 3 fois avec un volume égal de PBS. Les globules rouges sont diluées à 10 % (v/v) dans du PBS à température ambiante.

##### **2.4.2.2. Hémolyse induit par la chaleur**

Un volume de 50 µl de la suspension érythrocytaire est ajouté à 5 ml de solution isotonique contenant de l'extrait méthanolique de fruits (200 µg/ml et 400 µg/ml) ou de feuilles (200 µg/ml et 400 µg/ml). Le témoin négatif est préparé dans les mêmes conditions expérimentales. Il est composé de 50 µl de suspension érythrocytaire et 5 ml de solution isotonique (véhicule), en absence d'extrait. L'acétylsalicylique 100 µg/ml est utilisé comme substance de référence. Les tubes préparés pour chaque concentration sont incubés pendant 20 min à 54°C dans un bain marie. À la fin de l'incubation, le mélange réactionnel est centrifugé pendant 3 min à 1300 g et l'absorbance du surnageant est mesurée par spectrophotométrie à 540

nm en utilisant un spectrophotomètre AquaMate. Le pourcentage L'inhibition de l'hémolyse est calculé selon la relation.

$$\% \text{ de l'inhibition de l'hémolyse} = 100 [(A_1 - A_2) / (A_1)]$$

A<sub>1</sub>: Absorbance de l'échantillon contrôle chauffé a 54 C°, A<sub>2</sub>: Absorbance de l'échantillon/standard chauffé a 54 C°

#### **2.4.2.3. Hémolyse induit par l'hypotonicité**

Ce test est effectué selon la méthode décrite par (Shinde *et al.*, 1999) avec quelques modifications. La solution hypotonique (eau distillée; 5 ml) contenant de l'extrait méthanolique de fruits (200 µg/ml et 400 µg/ml) ou de feuilles (200 µg/ml et 400 µg/ml), est préparée (pour chaque dose) dans des tubes de centrifugation. Les tubes contrôles contenaient 5 ml d'eau distillée ou d'acétylsalicylique (0.5mg/5 ml). Les globules rouges (50 µl) sont ajoutés à chaque tube. Après une agitation douce, les mélanges sont incubés pendant 1 h à température ambiante. Après incubation, le mélange réactionnel est centrifugé pendant 3 min à 1300 g et l'absorbance du surnageant est mesurée à 540 nm en utilisant un spectrophotomètre AquaMate.

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est calculé selon la relation suivante :

$$\% \text{ de l'inhibition de l'hémolyse} = 100 [(A_1 - A_2) / (A_1)]$$

A<sub>1</sub>: Absorbance de l'échantillon contrôle, A<sub>2</sub>: Absorbance de l'échantillon traité/standard

#### **2.4.2.4. Inhibition de la dénaturation de l'albumine**

Le mélange réactionnel (2 ml) est composé de 1 ml de la solution d'essai contenant l'extraits méthanolique (100 à 400 µg / ml) et de 1 ml de solution aqueuse d'albumine bovine

(1%). Le témoin sans extrait est préparé avec un volume identique. L'acide acétylsalicylique est utilisé comme référence. Les tubes sont incubés à 37°C pendant 20 min. La dénaturation est induite en maintenant le mélange réactionnel à 58°C dans un bain-marie pendant 20 min. Après refroidissement, la turbidité mesurée par spectrophotométrie à 660 nm (Mizushima et Kobayashi, 1968; Elias et Rao, 1988). Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation est calculé par rapport au témoin (contrôle) par la relation suivante.

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 \times (A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{contrôle}}$$

## 2.5. Activité analgésique

### 2.5.1. Test de torsion

Les souris de 27 à 30 g réparties en groupes de six ont été maintenues à jeun pendant 18 h avant le début de l'expérience. L'extrait méthanolique de fruits ou de feuilles à la dose de 100 et 200 mg/kg, l'acide acétylsalicylique (100 mg/kg) et l'eau distillée à raison de 0,5 ml pour 20 g de poids corporel ont été administrés, respectivement aux souris. Une heure après le traitement, une injection de 10 µl/g d'une solution à 0,6 % d'acide acétique dans l'eau a été faite dans le péritoine de chaque souris, Le syndrome douloureux se caractérise par des mouvements d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale.

Après un temps de latence de 5 minutes, le nombre de torsions au cours des 20 minutes suivantes pour chaque souris est compté (Dongmo *et al.*, 2005). L'activité antalgique est exprimée en pourcentage d'inhibition de la douleur pour chaque groupe traité par les différentes doses de l'extrait, l'acide acétylsalicylique et le véhicule. La moyenne des groupes traités par les extraits et l'acide acétylsalicylique a été comparée avec celle du groupe témoin, traité par l'eau

distillée. Le pourcentage d'inhibition de la douleur est calculé selon la formule suivant la méthode de Siegmund *et al.* (1957) :

$$\% \text{ Inhibition} = 100 (\text{NCt}-\text{NCs})/\text{NCs}$$

NCt= Nombre de crampes de lots témoin, NCs=-nombre de crampes de lots traité

### **2.5.2. Test d'immersion de la patte des souris**

La méthode utilisée est celle décrite par Gbenou (2011) avec quelques modifications. Les souris sont réparties en 6 lots de 5 souris chacun. Le sulfate de morphine en poudre est administrée par voie sous cutané aux souris du lot de référence à raison de 5 mg/kg de poids corporel. Un deuxième lot reçoit de l'eau physiologique (NaCl 0,9%) par gavage à raison de 0,2 ml/20g de PC et constitue notre lot témoin. Les extraits méthanoliques de fruits ou de feuilles sont administrées aux autres lots de souris à raison de 100, 200 mg/kg de PC. L'extrait de *C.spinosa*, et le sulfate de morphine sont dilués dans de l'eau physiologique. Une heure après l'administration, la patte droite de chaque animal est placée dans de l'eau chaude maintenue à 50°C. Le temps que met l'animal pour retirer sa patte est mesuré et est considéré comme temps de réaction.

### **2.6. Activité hépatoprotectrice *in vivo***

Les souris sont regroupées en groupes de sept, mis au gavage quotidien pendant six jours par une solution physiologique, l'extrait des feuilles ou de fruits de *Capparis spinosa* comme suit :

- groupe 1 ou témoin T1 a reçu un volume de 0,3 ml de NaCl 0,9% par gavage.

- groupe 2 ou témoins T2 positif est intoxiqué par CCl<sub>4</sub> + un volume de 0.3 ml de NaCl 0.9% par gavage.
- groupes 3 et 6 intoxiqués par le CCl<sub>4</sub> et traités par l'extrait des feuilles de *Capparis spinosa* avec des doses de 200 et 400 mg/kg, respectivement.
- groupes 5 et 4 intoxiqués par le CCl<sub>4</sub> et traités par l'extrait de fruits de *Capparis spinosa* avec les doses de 200 et 400 mg/kg, respectivement.
- groupe 7 intoxiqué par le CCl<sub>4</sub> et traité par le silymarine comme médicament de référence à la dose de 50 mg/ml.

Une dose unique de CCl<sub>4</sub> (1 ml/kg) préparé dans l'huile d'olive extra vierge est effectuée 2 h après l'application du dernier gavage. Après 24 h de l'injection, toutes les souris ont été sacrifiées, le sang est récupéré dans des tubes héparinés. Après dissection le foie est repris dans des tubes contenant du formol (10%).

Le sang est soumis à une centrifugation à 3000 rpm pendant 10 minutes pour l'obtention du sérum. Les tests biochimiques ont été réalisés au niveau du Laboratoire Central du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Sétif à l'aide d'un automate de type Technicon, RA-1000. Les paramètres dosés étaient : Aspartate aminotransférase (ASAT), Alanine amino-transférase (ALAT), phosphatase Alcaline (PAL) et bilirubine totale.

Des coupes histologiques hépatiques ont été effectuées au CHU (service de pathologie anatomique). Le foie est fixé dans le formol tamponné à 10%, à une température ambiante immédiatement après le prélèvement. L'échantillon est déshydraté à l'aide d'un appareil automatique permettant le passage automatiques et progressif dans 7 bains : eau, alcool, 3 xylène,

2 paraffine. La pièce est alors plongée dans un bain de paraffine liquide puis incubée dans un bloc de paraffine. Les coupes minces (5  $\mu\text{m}$  en moyenne) sont obtenues grâce à un microtome, puis étalées sur des lames porte-objet, dépliées et fixées sur la lame par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée. La coloration des lames a été faite par un système hématoxyline/éosine. Enfin, les coupes sont observées au microscope optique équipé d'un appareil photographique.

## **2.7. Analyses statistique**

L'étude statistique a été réalisée par les logiciels statistiques Graph Pad Prism 5 et par Excel. Les résultats sont représentés sous la forme de moyenne  $\pm$  écart type et les différences ont été considérées significatives à  $P \leq 0,05$ . Des comparaisons de groupe ont été exécutées par l'analyse de variance ANOVA. La différence significative entre le groupe contrôle et les groupes expérimentaux a été évaluée par le test Dunnet.

## Résultats et discussion



## 1. Activité antioxydante *in vitro*

Les antioxydants sont des substances extrêmement importantes qui possèdent la capacité de protéger le corps contre les dommages causés par le stress induit par des radicaux libres oxydatifs. L'activité antioxydante des différents extraits a été étudiée dans le but d'évaluer leur potentiel pharmacologique. La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits de *Capparis spinosa* est réalisée par le piégeage du radical libre DPPH et le blanchissement du  $\beta$ -carotène.

### 1.1. Effet scavenger du radical DPPH

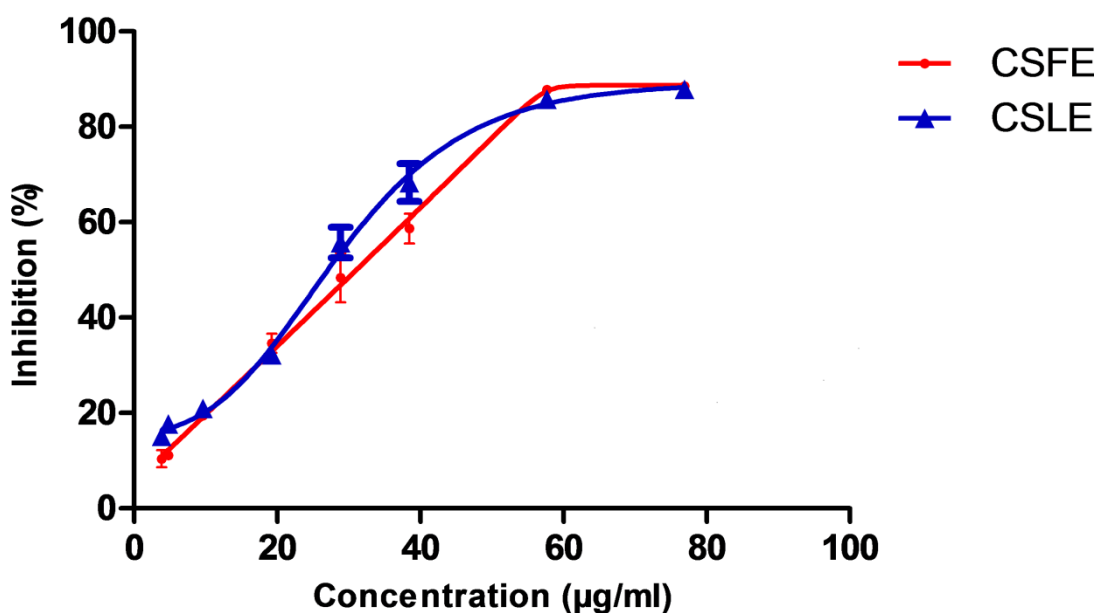
Le DPPH<sup>\*</sup> est un radical synthétique stable de couleur violette foncée. C'est le radical le plus utilisé dans l'analyse de l'activité antiradicalaire des substances bioactives contenus dans les extraits des plantes médicinales (Kubola et Siriamornpun, 2008). Il est caractérisé par sa stabilité et son absorbance maximale à 517 nm, ce qui permet d'évaluer l'activité antiradicalaire en mesurant toute diminution de l'absorbance (Locatelli *et al.*, 2010). En présence de composés antiradicalaires capables de donner un électron ou un atome d'hydrogène, le radical DPPH est réduit en un composé non radicalaire (DPPH-H) de couleur jaune pâle. De ce fait, la couleur va virer du violet au jaune et l'absorbance diminue (Kubola et Siriamornpun, 2008).

L'activité antioxydante de l'extrait de *Capparis spinosa* est évaluée en suivant la diminution de l'absorbance et donc la réduction du DPPH. Le BTH, utilisé comme témoin positif a révélé une activité anti-radicalaire d'une IC<sub>50</sub> de 87.2  $\mu$ g/ml. Les pourcentages de réduction en fonctions des concentrations sont représentés sur la figure 9. Les deux extraits méthanoliques des fruits et des feuilles, ont montré une activité antiradicalaire importante avec une IC<sub>50</sub> de 31.15 et 28.80  $\mu$ g/ml, respectivement. Cet effet obtenu est bien meilleur que celui produit par le BHT. Les

concentrations d'inhibition à 50% (IC<sub>50</sub>) relativement faibles reflètent la présence des composés qui peuvent réduire le radical DPPH.

Les résultats de ce travail sont en accord avec ceux de Arrar *et al.* (2013) sur l'effet piégeur de l'extrait méthanolique de feuilles (IC<sub>50</sub> = 24 µg/ml). De même, Bonina *et al.* (2002) ont montré que l'extrait méthanolique lyophilisé de *C. spinosa* a présenté une IC<sub>50</sub> = 34 µg/ml. Cependant, l'extrait de fruits de la présente étude montre un effet piégeur meilleur que celui obtenu par Arrar *et al.* (2013), (IC<sub>50</sub> = 180 µg/ml).

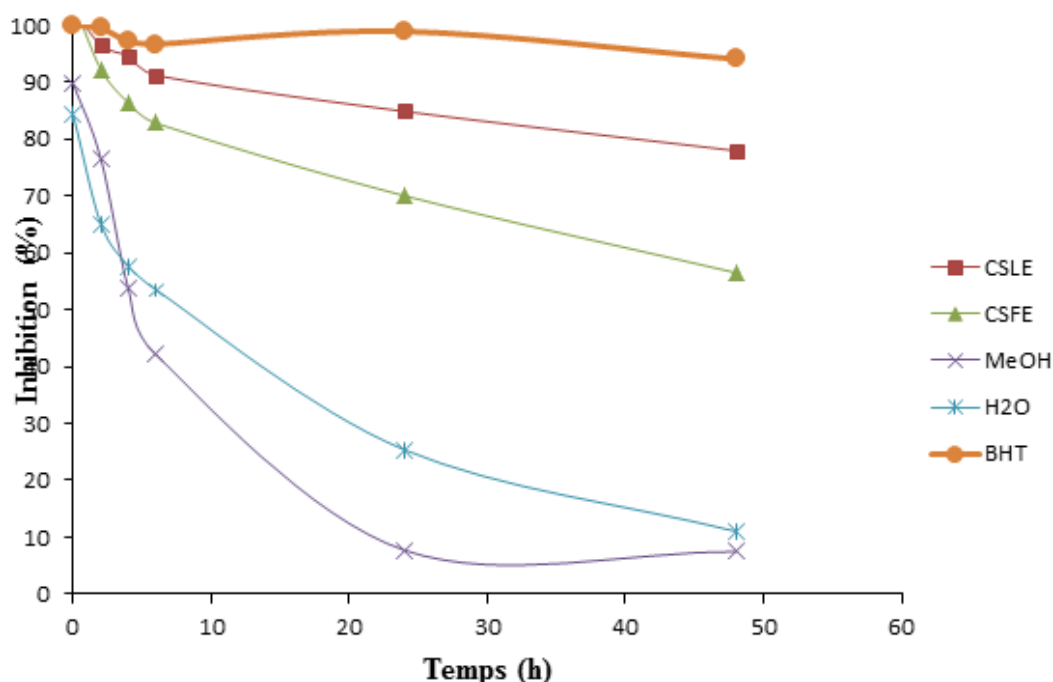
Les extraits CSLE (extrait de feuilles) et le CSFE (extrait de fruits) sont riches en composés phénoliques et que ces derniers sont dotés d'une grande activité antioxydante, l'effet des extraits obtenus avec ce test serait probablement dû à ces molécules. En effet, plusieurs études ont montré la richesse de *C. spinosa* en polyphénol notamment les extraits méthanoliques des parties aériennes (Bonina *et al.*, 2002; Tlili *et al.*, 2011; Arrar *et al.*, 2013; Meddour *et al.*, 2013). Il est par ailleurs connu que les polyphénols auraient des propriétés scavenger envers différents types de radicaux, ce qui leur confère une grande capacité antioxydante. Surveswaran *et al.* (2007) ont rapporté que l'activité antiradicalaire des extraits des plantes dépend de la quantité de composés polyphénoliques. En effet, plusieurs études ont rapporté que l'activité antioxydante de la plupart des plantes ayant des propriétés thérapeutiques peut être due à la présence de substances naturelles essentiellement les composés phénoliques (Atroz, 2009; Rached *et al.*, 2010; Baghiani *et al.*, 2012).



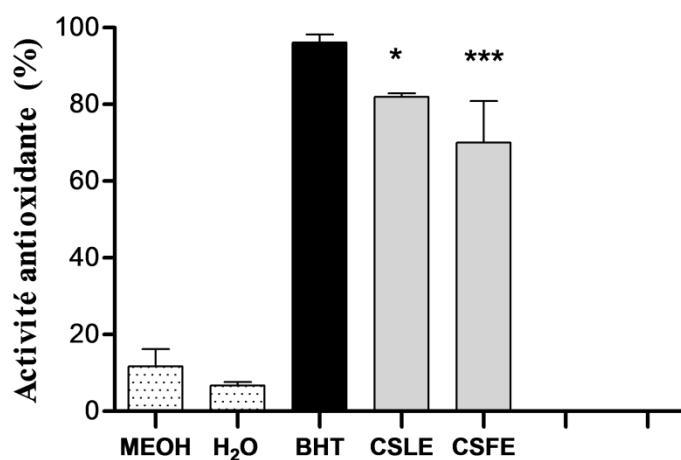
**Figure. 9:** Activité antiradicalaire des extraits des *Capparis spinosa* des extraits méthanoliques de fruits (CSFE) et de feuilles (CSLE). Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SEM.

## 1.2. Test du blanchissement du $\beta$ -carotène

La capacité antioxydante des extraits étudiés a été également évaluée par le système  $\beta$ -carotène/acide linoléique. Les radicaux libres provenant de l'oxydation de l'acide linoléique attaquent le  $\beta$ -carotène et induisent sa décoloration. La présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement de la  $\beta$ -carotène (Naidu *et al.*, 2011). La cinétique de blanchissement du  $\beta$ -carotène en absence et en présence des extraits de *Capparis spinosa* sont représentés sur les Figures 10 et 11.



**Figure. 10:** L'activité antioxydante exprimée en % d'inhibition e la peroxydation de l'acide linoléique en absence et en présence des extraits de *Capparis spinosa* et du BHT, MeOH, H<sub>2</sub>O. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de trois essais.



**Figure. 11:** Pourcentage d'inhibition du blanchissement de  $\beta$ -carotène après 24 heures par les extraits de *Capparis spinosa*, le BHT et les contrôles négatifs. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD (n = 3) ; \* p < 0.05 \*\*\* p < 0.001, comparées avec BHT.

Les résultats ont montré que le pourcentage d'inhibition de chaque extrait diminue progressivement pour atteindre des valeurs plus ou moins basses. Cette diminution est plus rapide par rapport à celle du BHT. En présence du contrôle positif (BHT), les absorbances de la solution de  $\beta$ -carotène restent stables durant toute la période d'incubation (100% d'activité antioxydante). Alors que les contrôles négatifs ne montrent qu'une très faible activité antioxydante qui ne dépasse pas 6.7% et 11.7% pour le H<sub>2</sub>O et MeOH, respectivement, après 24 heures d'incubation. Les différents extraits de *Capparis spinosa* ont montrés une activité antioxydante remarquable. Le CSLE montre la plus grande activité inhibitrice avec une AA estimé à 84.88%, mais cette valeur d'activité reste significativement inférieure ( $p \leq 0.05$ ) à celle du contrôle positif (BHT) qui représente 100% d'activité inhibitrice. Le CSFE montre une AA estimée à 70.04%.

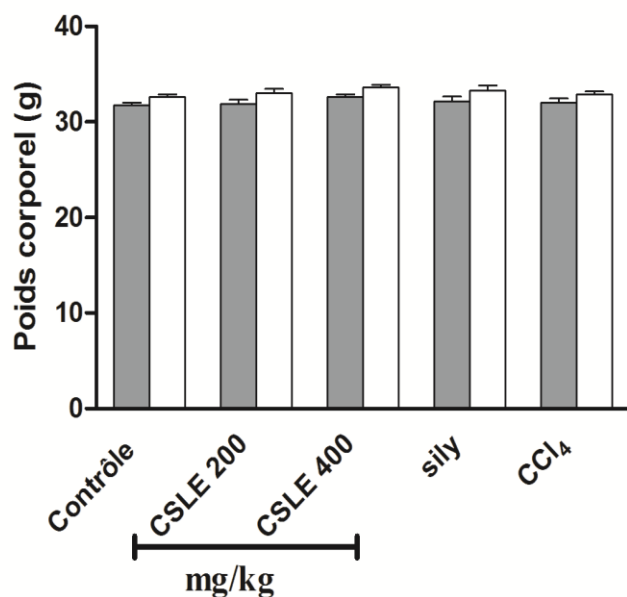
L'extrait de feuilles, plus riches en polyphénols (Arrar *et al.*, 2013) a montré une meilleure activité antiradicalaire. Deba *et al.*, (2008) suggèrent que l'activité antioxydante des polyphénols extraits des plantes réside dans le fait qu'ils ont la capacité de donner des atomes d'hydrogène aux radicaux libres (hydroperoxydes du milieu réactionnel) issus de l'oxydation de l'acide linoléique et, par conséquent, stoppent l'attaque de ces radicaux au  $\beta$ -carotène.

## 2. Effet hépatoprotecteur

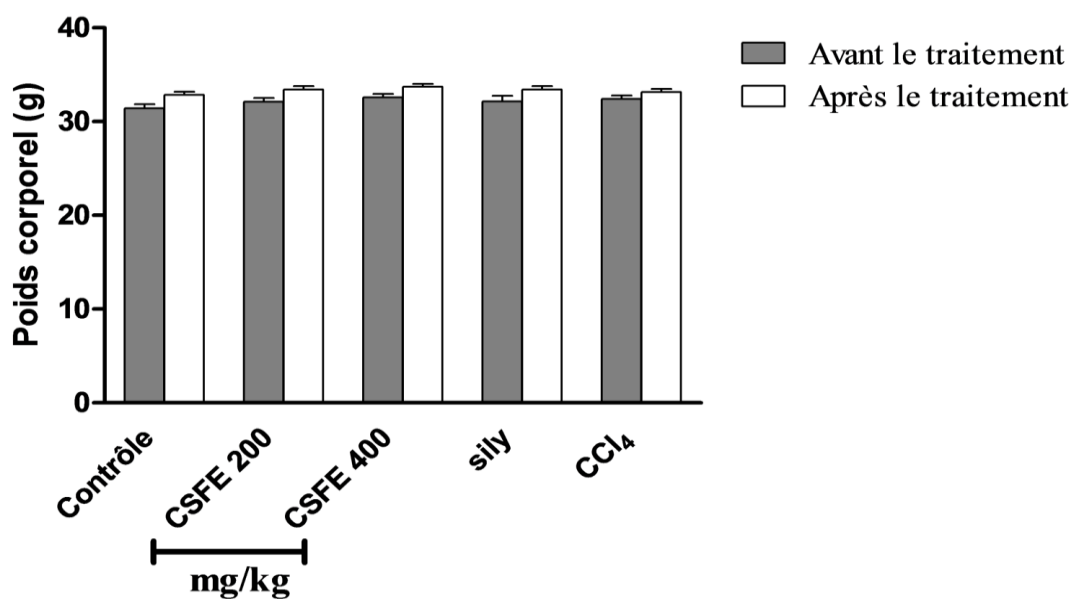
Les lésions provoquées expérimentalement chez les animaux dans le cas de la présente étude est une conséquence de la toxicité du tétrachlorure de carbone ( $\text{CCl}_4$ ). Ces changements induits par le  $\text{CCl}_4$  sont comparables à celle de l'hépatite virale aiguë (Rubinstein, 1962). La métabolisation hépatique du tétrachlorure de carbone ( $\text{CCl}_4$ ) commence par sa transformation en ses métabolites primaires (trichlorométhyl et trichlorométhylperoxyde) grâce à la cytochrome  $\text{P}_{450}$  oxydase hépatique, principal système enzymatique responsable des réactions d'oxydoréduction des xénobiotiques au niveau du foie. Le trichlorométhylperoxyde est un radical libre hautement réactif qui va initier une lipoperoxydation des acides gras polyinsaturés des membranes des hépatocytes. Une conséquence de cette activité radicalaire est la désagrégation des membranes des hépatocytes et libération des enzymes entre autres les transaminases (ASAT et ALAT) et la phosphatase alcaline (ALP) qui vont se déverser dans le milieu extracellulaire (plasma sanguin), entraînant une élévation significative des marqueurs sériques enzymatiques et de la bilirubine directe. Les aminotransférases (ALAT, ASAT), ALP et de la bilirubine sont parmi les biomarqueurs sériques de la fonction hépatique, leur augmentation dans le sérum indique la présence des lésions hépatiques (David *et al.*, 2014).

### 2.1 Effet de *C. Spinosa* sur le poids corporel et le poids relatif du foie

La comparaisant de la masse corporelle de chaque lot de souris (témoin, intoxiqué par le  $\text{CCl}_4$ , traité avec 200 ou 400 mg/ml puis intoxiqué et traité avec le silymarine puis intoxiqué) avant et après le traitement par le CSLE et le CSFE, n'a révélée aucun changements significatifs dans les poids des animaux (Figure 12 et 13).



**Figure. 12:** Effet de l'extrait de feuilles de *C. Spinosa* (CSLE) sur le poids corporel des souris. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM (n = 6). Sily : Silymarine.

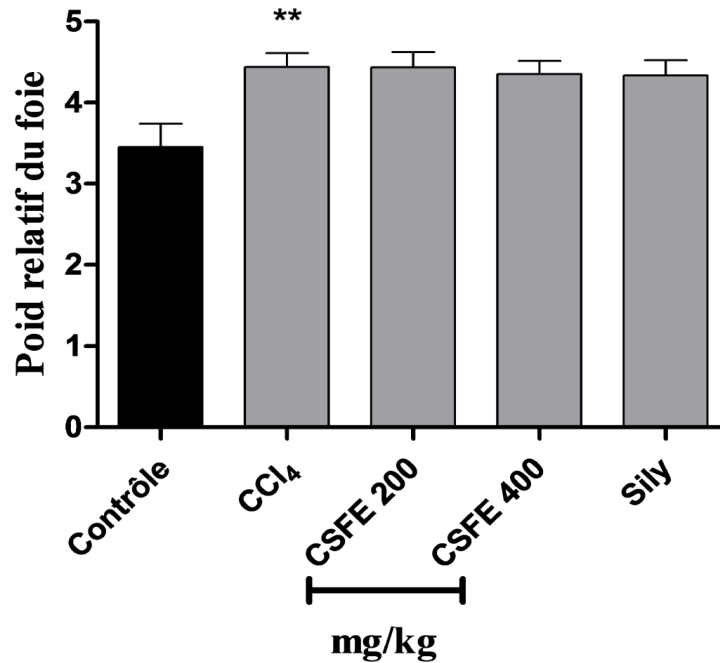


**Figure. 13:** Effet de l'extrait de fruits de *C. Spinosa* (CSFE) sur le poids corporel des souris. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM (n = 6). Sily : Silymarine.

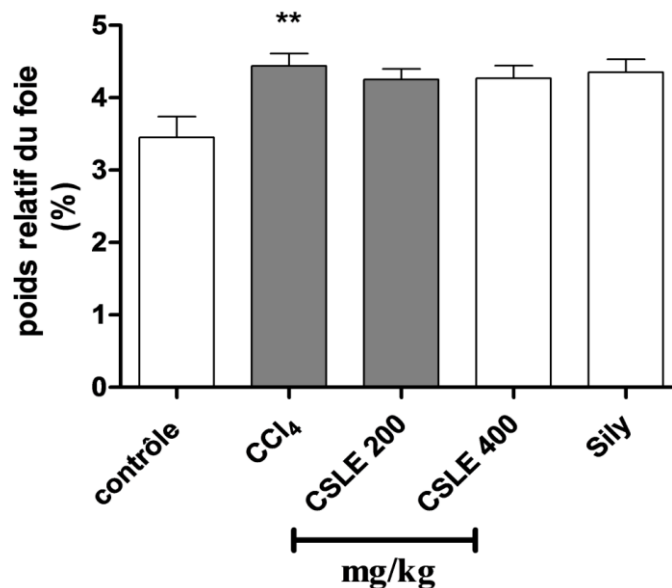
Le poids relatif du foie des souris traités avec le tétrachlorure de carbone (lot intoxiqué) est augmenté de manière significative, par rapport au témoin ( $p < 0,01$ ). Cette augmentation n'est pas inversée ou empêchée par le prétraitement avec l'extrait de feuilles/fruits aux doses de 200 et 400 mg/kg ni avec le silymarine à la dose (50 mg/kg), (Figure 14 et 15).

L'administration du  $\text{CCl}_4$  (30%, 1 ml / kg) aux souris, n'a pas ni causé la mort des animaux et ni affecté les propriétés physiques (poids du corps et le comportement général). L'augmentation significative dans le poids du foie, après traitement avec du  $\text{CCl}_4$  est dû à l'infiltration des acides gras et des glycérols dans les hépatocytes *via* leur membranes cellulaires endommagés. Cette anomalie du foie est un phénomène signalé suite à l'agression par le  $\text{CCl}_4$  (Huang *et al.*, 2012).





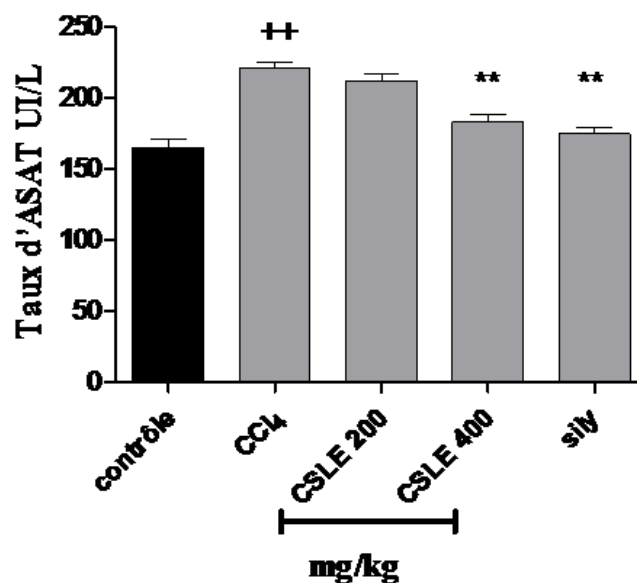
**Figure. 14:** Effet du prétraitement de l'extrait de fruits sur le poids relatif du foie des souris intoxiqué par le CCl<sub>4</sub>. Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± SEM (n = 6). Les Animaux sont traités avec l'extrait ou la Silymarine (Sily) pendant 5 jours avant le traitement avec CCl<sub>4</sub>. \*\* p<0.01 différence significatif par rapport au groupe contrôle.



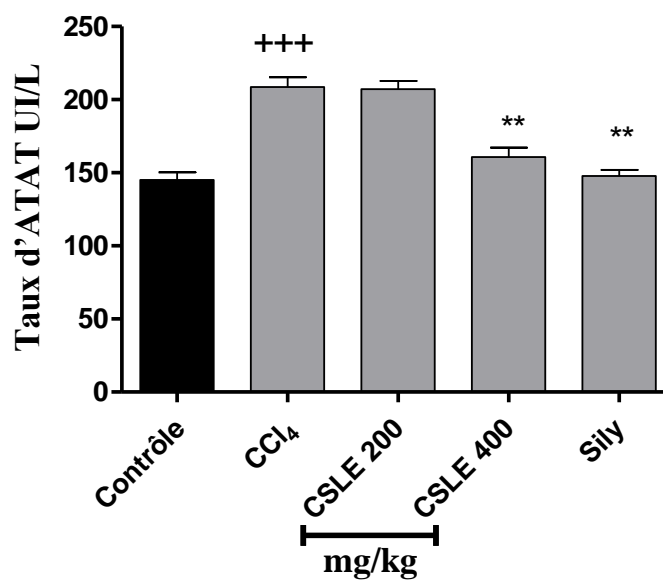
**Figure. 15:** effet du prétraitement de l'extrait de feuilles sur le poids relatif du foie des souris intoxiqué par le CCl<sub>4</sub>. Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± SEM (n = 5). Animaux ont été traités avec l'extrait ou le silymarine (Sily) pendant 5 jours avant le traitement par le CCl<sub>4</sub>. \*\* p<0.01 différence significatif par rapport au groupe contrôle.

## **2.2. Effet des extraits méthanolique sur les paramètres biochimiques**

L'effet du prétraitement par l'extrait méthanolique des feuilles du câprier et du silymarine (50mg/kg/p.o) sur les souris intoxiqués par le CCl<sub>4</sub> (1 ml/kg) est présenté dans les figures 16, 17 et le tableau 8. L'administration d'une simple dose de CCl<sub>4</sub> (lot intoxiqué) a augmenté de manière significative les niveaux d'ASAT : 212 UI/L ( $p < 0,01$ ) et d'ALAT : 208,67 UI/L ( $p < 0,01$ ), par rapport au lot témoin non traité. Le prétraitement avec les doses différentes de l'extrait méthanolique et du silymarine réduit de façon significative les paramètres élevées; ASAT, ALAT par rapport au groupe intoxiqué. L'extrait méthanolique utilisé à la concentration de 400 mg/kg a enregistré des taux respectifs de 183 UI/L et 160,8 UI/L. Cette diminution aboutit à des valeurs proches de celles du groupe témoin (contrôle négatif). La lésion hépatique induite par le CCl<sub>4</sub> a provoquée également une augmentation dans le niveau basal de la bilirubine et de la phosphatase alcalin (PAL). Cependant, le prétraitement avec l'extrait (400 mg/kg) et le silymarine a montré une protection significative contre les lésions provoquées par l'agent toxique. Cette protection est traduite par une baisse significative du taux de l'enzyme PAL et de la bilirubine. Les valeurs affichées sont respectivement 73,57 UI/L et 0,42 mg/dl pour l'extrait de feuilles et 70,16 UI/L et 0.38 mg/dl pour le produit de référence.



**Figure. 16:** Effet de l'extrait de feuilles sur le niveau de l'ASAT des souris traitées avec CCl<sub>4</sub>. Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n = 6). ++ p < 0,01 par rapport au témoin normal; \*\* p < 0,01, par rapport au contrôle CCl<sub>4</sub>. Sily : Silymarine.



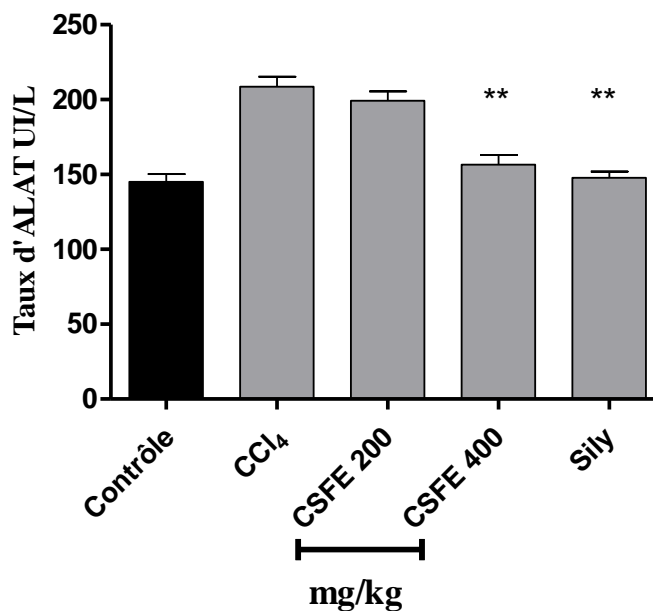
**Figure. 17:** Effet de l'extrait de feuilles sur le niveau de l'ALAT des souris traitées avec CCl<sub>4</sub>. Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n = 5). ++ p < 0,01 par rapport au témoin normal; \*\* p < 0,01, par rapport au contrôle CCl<sub>4</sub>.

**Tableau 6:** Effet des extraits de feuilles et de fruits du *capparis spinosa* sur les paramètres biochimiques des différents groupes intoxiqué par CCl<sub>4</sub>.

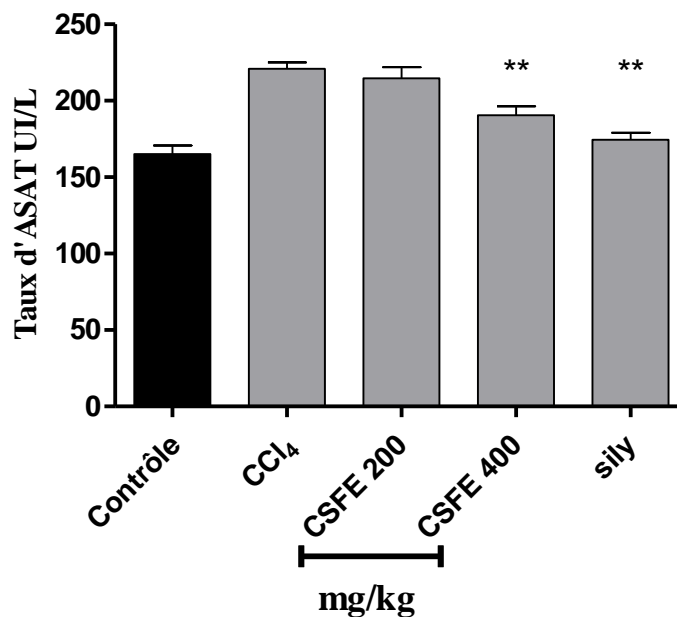
Groupes	ASAT (UI/L)	ALAT (UI/L)	ALP (UI/L)	Bilirubine Totale (mg/dl)
Normal saline	150,1 ± 1,981	134 ± 2,42	61,86 ± 4,32	0,35 ± 0,02
CCl <sub>4</sub>	221 ± 2,43	208 ± 3,13	167,9 ± 3,2	2,12 ± 0,11
Extrait de feuilles 200 mg/kg + CCl <sub>4</sub>	211,8 ± 2,78	195 ± 2,86	159,1 ± 2,89	1,96 ± 0,04
Extrait de feuilles 400 mg/ml + CCl <sub>4</sub>	183 ± 1,66**	160,8 ± 3,29**	73,57 ± 2,36**	0,42 ± 0,02**
Extrait de fruits 200 mg/kg + CCl <sub>4</sub>	214,9 ± 3,52	189,3 ± 2,78	162,1 ± 2,65	1,99 ± 0,07
Extrait de fruits 400 mg/ml + CCl <sub>4</sub>	190,7 ± 2,97**	154,3 ± 2,81**	79,86 ± 3,58**	0,48 ± 0,03**
Sylimarine 50 mg/ml + CCl <sub>4</sub>	174,5 ± 4,49**	147,8 ± 4,17**	70,16 ± 1,55**	0,38 ± 0,05**

Les comparaisons sont effectuées par rapport au groupe contrôle positif (CCl<sub>4</sub>). \*\*: p ≤ 0,01.

L'effet de l'extrait des fruits sur les transaminases sériques, la phosphatase alcaline et la bilirubine suite au dommage du foie des souris provoqué par le tétrachlorure de carbone est présenté dans le tableau 8 et les figures 18,19. Le gavage par le tétrachlorure de carbone (1 ml / kg) produit une augmentation significative (P < 0,01) des marqueurs biochimiques sériques ALAT, ASAT, PAL et de la bilirubine et (p < 0,01) dans le groupe des souris contrôle positif. L'administration de 400 mg/kg d'extrait de fruits ou 50 mg/kg de silymarine réduit les taux de l'ALAT, de l'ASAT, de la PAL (p < 0,01) et le taux de la bilirubine.



**Figure. 18:** Effet de l'extrait de fruits sur le niveau de l'ALAT des souris traitées avec CCl<sub>4</sub>. Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n = 6). ++ p < 0,01 par rapport au témoin normal; \*\* p < 0,01, par rapport ou contrôle CCl<sub>4</sub>. Sily : Silymarine.



**Figure. 19:** Effet de de l'extrait de fruits sur le niveau de l'ASAT des souris traitées avec CCl<sub>4</sub>. Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n = 6). ++ p < 0,01 par rapport au témoin normal; \*\* p < 0,01, par rapport ou contrôle CCl<sub>4</sub>. Sily : Silymarine.

Le prétraitement par le *Capparis spinosa* sur les souris intoxiquées par le CCl<sub>4</sub> a réduit significativement les taux élevés d'ALAT, ASAT, ALP et de la bilirubine avec  $p < 0,01$ . Les niveaux diminués de enzymes sériques peuvent être attribués à l'effet stabilisant des constituants phytochimiques et aux divers substances actives sur la membrane plasmique des hépatocytes (Ranawat *et al.*, 2010). Les taux de bilirubine est lié à la fonction des cellules hépatiques (Kannan *et al.*, 2013). Une concentration élevée de la bilirubine dans le sérum est une indication du taux de la dégradation des érythrocytes due à des lésions hépatiques lors d'un traitement avec l'hépatotoxine (CCl<sub>4</sub>), (Singh *et al.*, 1998). Le prétraitement par *C. spinosa* a restauré le taux de la bilirubine vers des valeurs proches à la normale indiquant ainsi l'effet hépatoprotecteur de la plante. Cet effet s'est avéré comparable à celui de la silymarine. Les résultats suggèrent que le système antioxydant déséquilibrée dans le foie par du tétrachlorure de carbone est restauré par l'effet protecteur des extraits méthanoliques de la plante.

De nombreuses études ont montré que l'effet hépatoprotecteur d'extraits de plantes peut être liée à sa capacité antioxydante de piéger les espèces réactives de l'oxygène (Naik et Panda, 2007; Tsai *et al.*, 2009). Les aliments riches en polyphénols et en flavonoïdes présentent des effets bénéfiques à l'égard de la santé humaine (Francesco *et al.*, 2011). Parmi les plantes contenant des antioxydants naturels, *Capparis spinosa* a suscité un intérêt particulier en raison de sa teneur élevée en composés biologiquement actifs. Il a été considéré à jouer un rôle antioxydant important dans la prévention des dommages oxydatifs (Ben Mansour *et al.*, 2014).

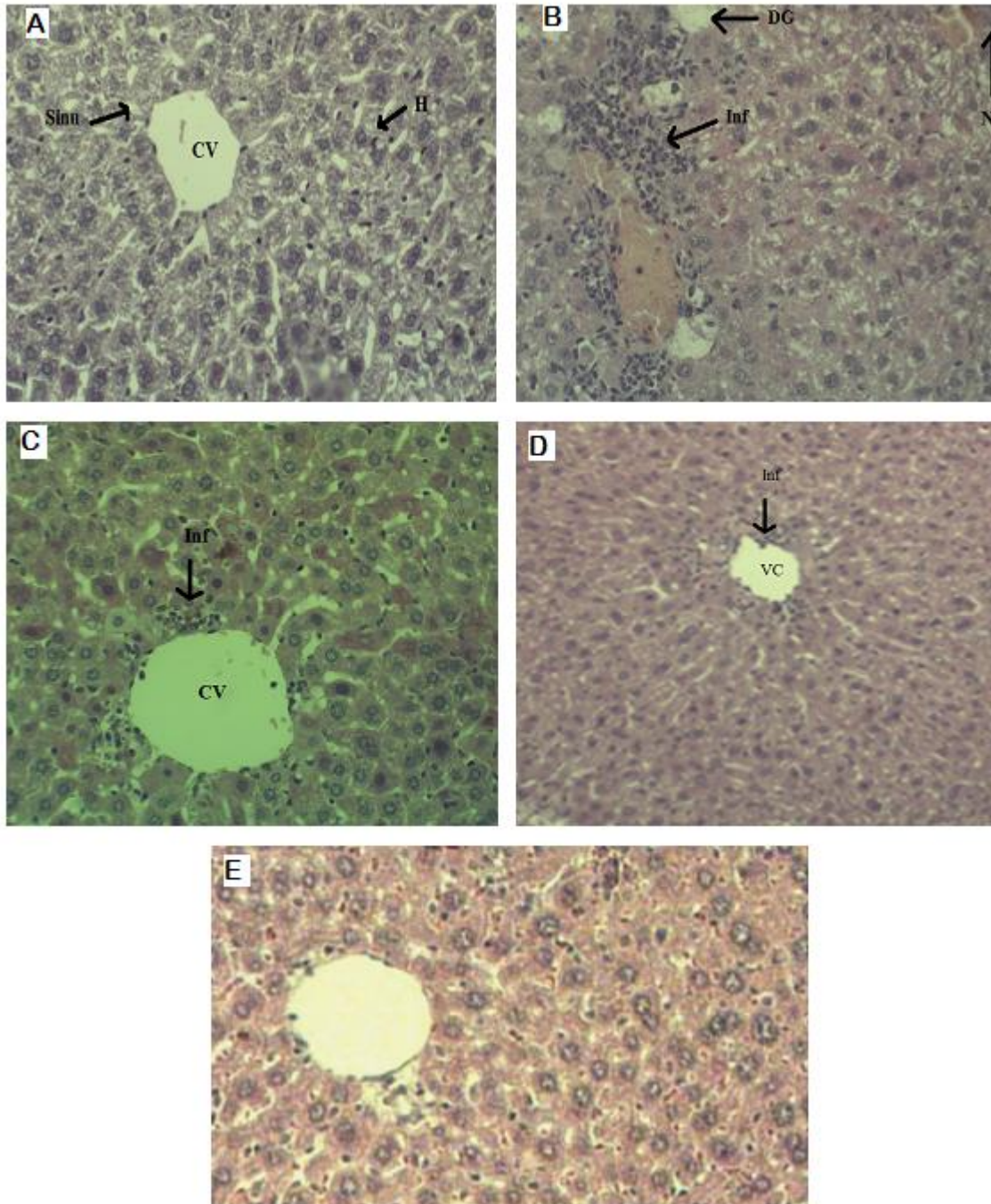
### **2.3 Histologie**

L'analyse histopathologie du groupe témoin normal présente une histologie normale du foie. Les sections de foie de ce groupe présentent des cellules hépatiques normales, des veines

centrales visibles et des sinusoides minces (Figure 20A). En revanche, l'intoxication par le tétrachlorure de carbone (1 ml/kg) a causés un foyer très marqué d'infiltration mononucléaire dans le parenchyme hépatique, sinusoides et autour de la veine centrale, avec une désorganisation de la structure hépatique (Figure 20B).

Le Prétraitements avec l'extrait de feuilles à la concentration (400 mg / kg de poids corporel) a montré des cellules normales du foie, une veine centrale et sinusoides avec un foyer peu marqué d'infiltration mononucléaires sans nécrose (Figure 20C). De même, le prétraitement avec la section de foie de 400 mg / kg de l'extrait de fruits (CSFE) montre une protection peu marquée avec des cellules hépatiques très proche des normales, à l'exception de la présence d'un foyer d'infiltration mononucléaire minimale à la périphérie (Figure 20D). Le traitement avec un médicament classique (silymarine) a également montré une architecture hépatique normale (Figure 20E). Contrairement à la protection fournie par l'extrait méthanolique de feuilles et de fruits contre l'intoxication par le CCl<sub>4</sub>, le prétraitement avec les deux extraits à raison de 200 mg/kg ne montre aucun signe de protection.

Les études histologiques confirment l'effet hépatoprotecteur de l'extrait de fruits et l'extrait de feuilles de *Capparis spinosa*. Par conséquent, les deux extraits pourraient être des agents prometteurs contre les lésions hépatiques.



**Figure. 20 :** Effet de l'extrait méthanolique de *Capparis spinosa* sur la structure histologique du foie chez les souris traitées par le  $\text{CCl}_4$ . A : lot souris normales, B : Lot  $\text{CCl}_4$ , C : Lot 400 mg/kg de CSLE+  $\text{CCl}_4$ , D : Lot 400 mg/kg de CSFE+  $\text{CCl}_4$  , E : Lot silymarine+  $\text{CCl}_4$ . DG: Dégénérescence graisseuse du foie; Inf: inflammation par les granulocytes; N: Nécrose. Grossissent  $\times 40$ .

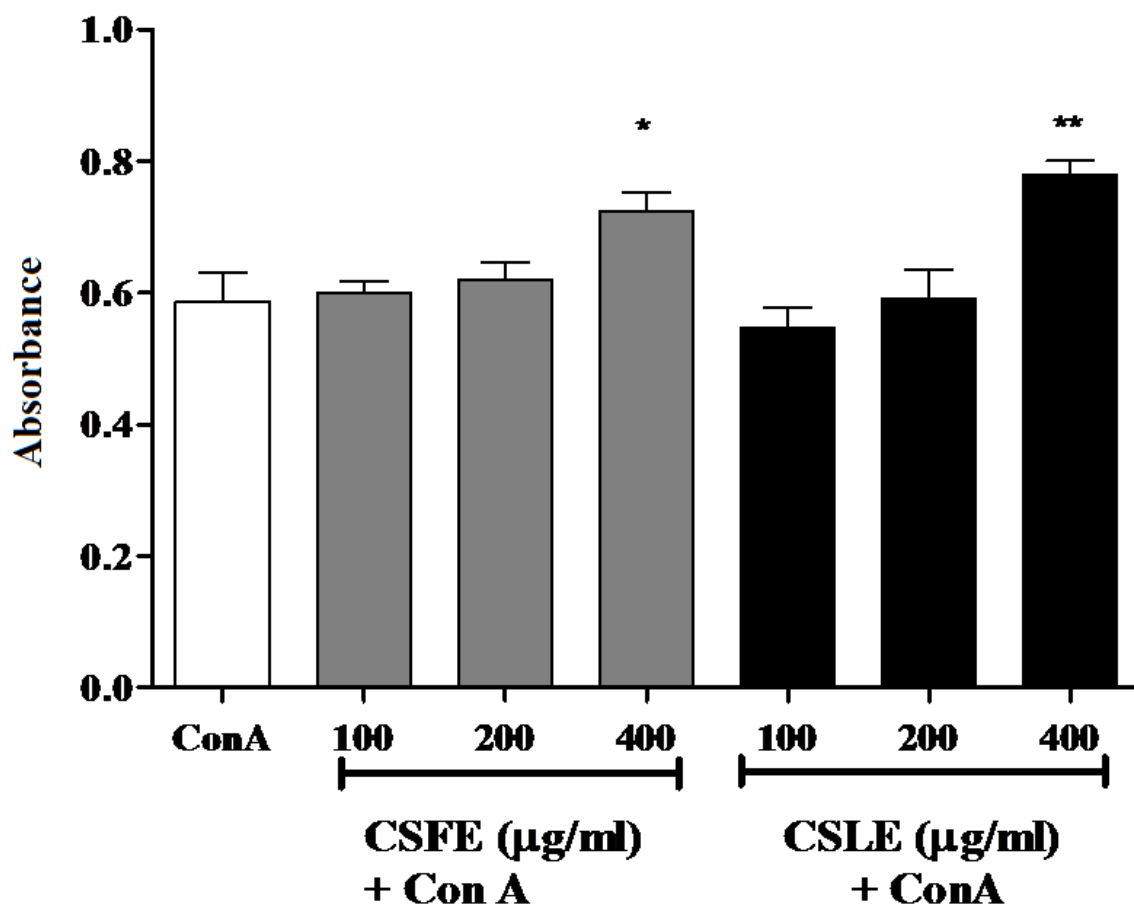


### 3. Activité immunomodulatrice

L'immunomodulation est un processus qui altère le système immunitaire d'un organisme en interférant avec ses fonctions. Les résultats de cette interférence peuvent produire soit un effet immunostimulateur qui assure l'amélioration des réactions immunes en impliquant la stimulation du système spécifique et/ou non spécifique, soit un effet immunosuppresseur impliqué principalement pour réduire la résistance contre les infections, le stress et il peut se produire à cause d'un facteur environnemental ou chimiothérapeutique (Neha et Mishra, 2011).

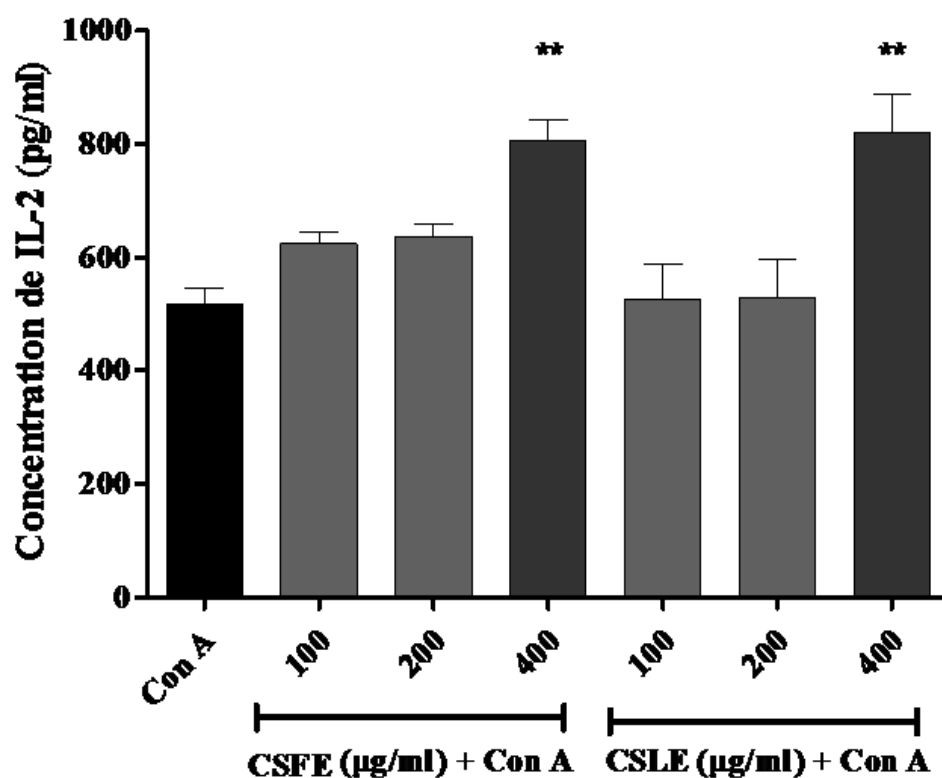
#### 3.1 Effet immunomodulateur *in vitro*

L'effet immunomodulateur des extraits méthanoliques de fruits et feuilles de *Capparis spinosa* est évalué sur les lymphocytes T en présence de Con A (10 pg / ml). Les résultats présentés dans la figure 21 montrent que la dose de 400 µg/ml, à la fois pour l'extrait de fruits (A = 0,72), (p <0,05) et pour l'extrait de feuilles (A = 0,78), (p <0,01), augmente significativement la prolifération des lymphocytes par rapport au contrôle (concanavaline sans extrait, A = 0,58).



**Figure. 21:** Prolifération des lymphocytes par les extraits méthanoliques de fruits et de feuilles de *Capparis spinosa* en présence de Con A (10µg/ml). Les cellules sont incubées pendant 72h à 37°C et à 5% de CO<sub>2</sub>. La détermination de la prolifération lymphocytaire est réalisée par la méthode du MTT. Les résultats sont exprimés en moyenne ± SD de quatre expériences indépendantes. \*p<0.05 et \*\* p<0.01 sont comparés au contrôle Con A (10 µg/ml).

L'évaluation de l'IL-2 est effectuée afin de confirmer l'efficacité des extraits de la plante sur la prolifération et l'activation des lymphocytes. La figure 22 montre qu'en présence de l'agent mitogène (Con A), les deux extraits méthanoliques (fruits et feuilles) à la dose de 400 µg /ml, induisent une stimulation significative de la production de l'IL-2 par les lymphocytes (806 et 820.6 pg/ml, respectivement).



**Figure. 22 :** Effets de l'extrait de feuilles et de fruits de *Capparis spinosa* sur la production d'IL-2 par les lymphocytes in vitro. Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  SEM. Les incubations sont réalisées en triples chez quatre (4) sujets volontaires. \*\*P < 0.01 en comparant avec le contrôle Concanavaline A (10µg/ml).

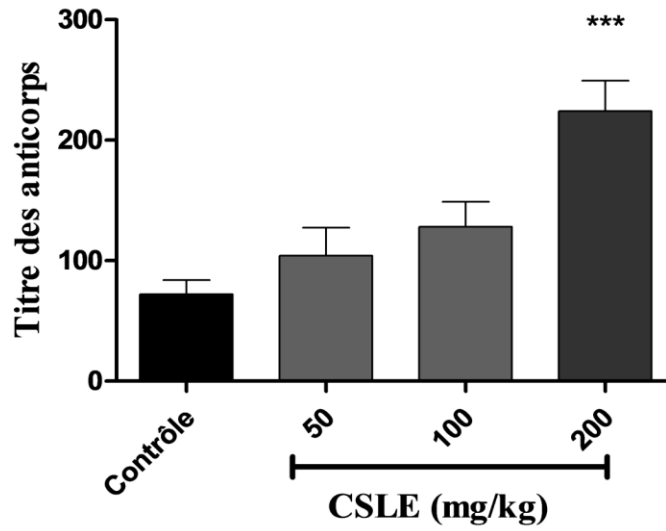
L'objectif principal de la présente étude était d'explorer le potentiel immunomodulateur des extraits méthanoliques, feuilles et fruits, de *Capparis spinosa*. La prolifération *in vitro* des lymphocytes T humains est réalisée en présence du Con A (mitogène polyclonale des lymphocytes T), et mesurée par le test au MTT. Les résultats ont démontré que les deux parties de la plante ont présenté un effet immunostimulant sur les lymphocytes humains. L'interaction des cellules T avec la Con A déclenche une cascade d'événements biochimiques, y compris l'expression génique qui induit les cellules T au repos d'entrer dans le cycle cellulaire et démarréeser la prolifération et la différenciation (Licastro *et al.*, 1883). Ce processus est suivi par la production d'IL-2 qui est un facteur important de maturation et de croissance des lymphocytes T. La quantification d'IL-2 indique que la stimulation de la prolifération des lymphocytes T par leurs mitogène, est associée à une production importante de cette cytokine. Dans cette étude, les extraits de *C. spinosa* augmentent significativement la sécrétion d'IL-2 ( $p < 0.01$ ). Le mécanisme par lequel la prolifération des lymphocytes est modulée par les extraits de plantes n'est pas encore élucidé. Les résultats des tests *in vitro*, sont en accord avec ceux obtenus pour les bourgeons de la même plante. L'incubation, *in vitro*, des cellules périphériques mononucléaires du sang humain (PBMC) traitées avec l'extrait méthanolique de *C. spinosa* a montré un effet immunostimulant contre l'infection par le virus herpès simplex type 1 (Arena *et al.*, 2008).

## 3.2 Effet immunomodulateur *in vivo*

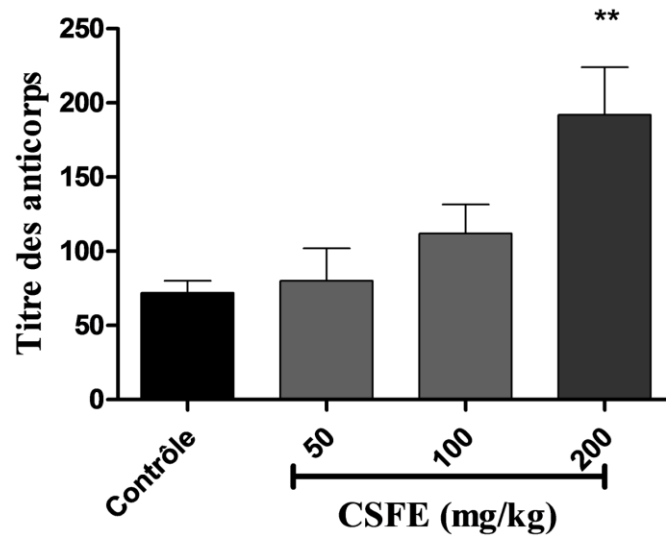
### 3.2.1 Effet sur la réponse humorale

Le titre des anticorps dirigés contre des globules rouges des moutons (SRBC) déterminé par hémagglutination (HA) est utilisé pour évaluer la réponse immunitaire humorale. Les résultats (Figure 23 et 24) ont montré que les deux extraits de la plante augmentent significativement le titre des anticorps chez les souris traités avec 200 mg/ml de l'extrait de fruits (190,2,  $p < 0.05$ ) et de feuilles (224,  $p < 0.01$ ) en comparaisant avec le titre du groupe contrôle (72) .

Dans ce système, lorsque les lymphocytes B se lient à l'antigène étranger, ils se multiplient par mitose, puis se transforment et se différencient en cellules sécrétrices d'anticorps. Ces anticorps sont impliqués dans les mécanismes d'élimination de l'antigène à savoir; l'activation du complément, l'opsonisation, la neutralisation des toxines, etc. (Miller *et al.*, 1991). L'augmentation remarquable dans le titre d'anticorps circulants anti-SRBC peut être expliquée par l'activation des macrophages, des lymphocytes T et/ou des lymphocytes B impliquées dans la synthèse d'anticorps (Benacerraf, 1978).



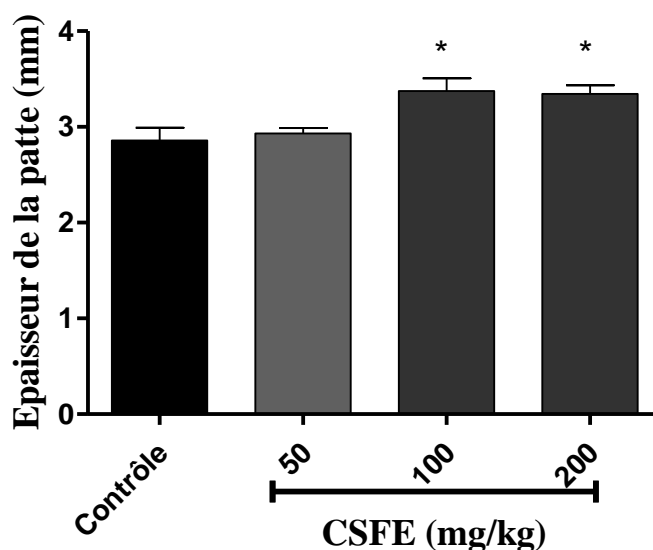
**Figure. 23 :** Effet de l'extrait méthanolique de feuilles de *Capparis spinosa* sur les SRBC des moutons. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM (n = 6). \*\*\* P < 0,001



**Figure. 24 :** Effet de l'extrait méthanolique de fruits de *Capparis spinosa* sur les SRBC des moutons. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM (n = 6). \*\* P < 0,01

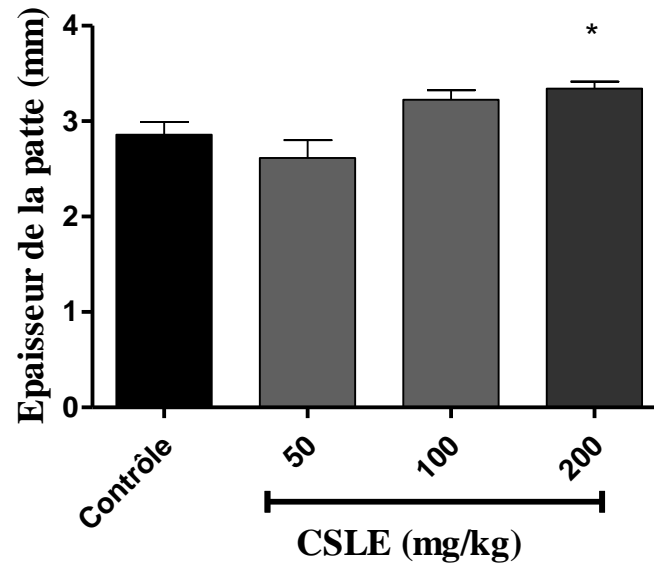
### 3.2.2. Effet de *C. spinosa* sur la réponse d'hypersensibilité retardée (DTH)

Dans cette étude, les extraits méthanoliques de fruits et de feuilles de *Capparis spinosa* sont étudiés pour leurs effets possibles sur la réponse d'hypersensibilité retardée (DTH). L'administration intrapéritonéale de l'extrait méthanolique de fruits ou de feuilles aux doses de 100 et 200 mg/kg pendant 5 jours augmente significativement l'hypersensibilité retardée (DTH) chez les souris immunisées. L'épaisseur de la patte des souris traitée par les fruits du câprier (100 et 200 mg/kg) augmente à 3,37 et 3,34 mm ( $p < 0,05$ ), respectivement par rapport au contrôle 2,8 mm (Figure 25). L'épaisseur de la patte des souris traitée par les feuilles du câprier (200 mg/kg) augmente à 3,34 mm ( $p < 0,05$ ), en comparant avec le contrôle 2,86 mm (Figure 26).



**Figure. 25 :** Effet de l'extrait méthanolique de fruits de *Capparis spinosa* sur l'hypersensibilité de type retardé (DTH) des souris immunisées par les globules rouges des moutons (SRBC). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM ( $n = 6$ ).

\*  $P < 0,05$



**Figure. 26:** Effet de l'extrait méthanolique de feuilles de *Capparis spinosa* sur l'hypersensibilité de type retardé (DTH) des souris immunisées par les globules rouges des moutons (SRBC). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM (n = 6). \* P <0,05.

La réaction d'hypersensibilité retardée est une réaction immuno-inflammatoire, dans laquelle les macrophages et les cellules Th<sub>1</sub> sont les principaux acteurs. Dans la phase de sensibilisation après le contact initial avec l'antigène (SRBC), les cellules Th prolifèrent et se différencient en cellules Th<sub>1</sub>. Après une seconde exposition par l'antigène (phase effectrice), les lymphocytes Th<sub>1</sub> secrètent différentes cytokines et chimiokines. Ces facteurs attirent et activent les macrophages et d'autres cellules inflammatoires non spécifiques dans la région enflammée (Wood, 2006). Les macrophages activés sont plus efficaces pour présenter l'antigène, perpétuant ainsi la réponse DTH, et fonctionnent comme des cellules effectrices primaires dans cette réaction (Owen *et al.*, 2013) Par conséquent, une augmentation de la réaction DTH chez des



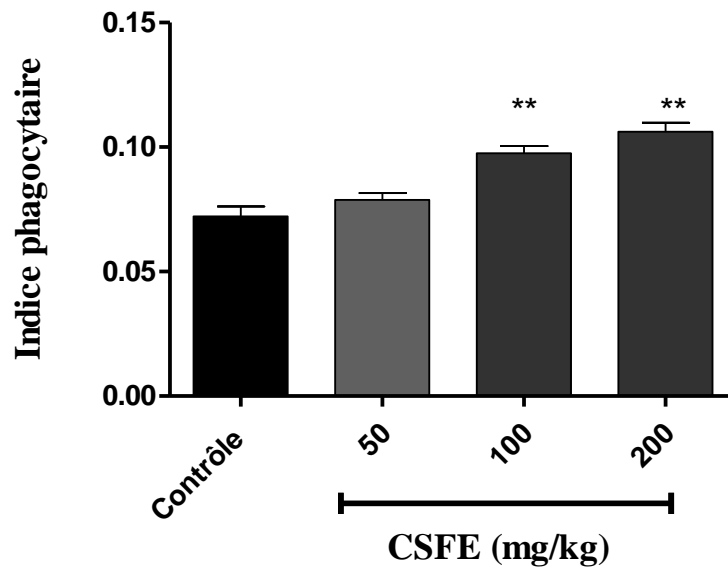
souris en réponse l'antigène (SRBC) T-dépendante a révélé un effet stimulateur des extraits méthanoliques de *Capparis spinosa* sur les lymphocytes T.

### 3.2.3 Test de Clearance de carbone

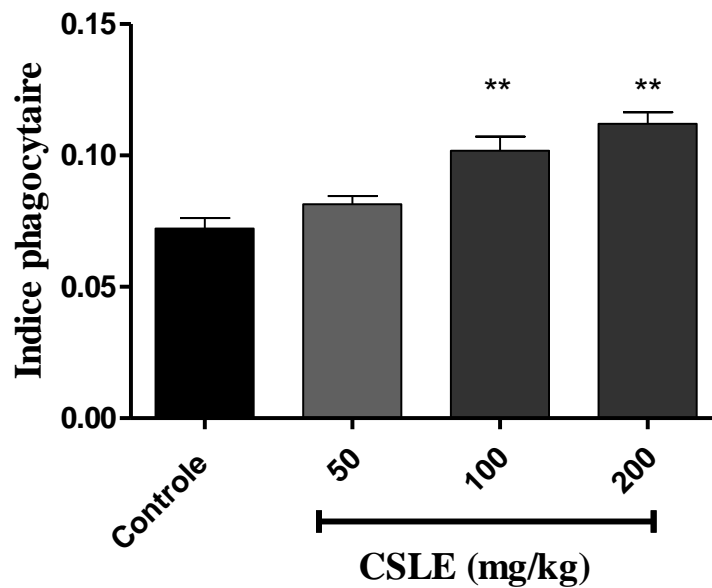
Ce test immunitaire consiste à injecter en intraveineuse une quantité bien définie d'encre de Chine en fonction du poids vif de l'animal et en suivant la clearance de cette substance. La vitesse de la clearance des particules de carbone est directement proportionnelle avec la capacité phagocytaire du sujet. Les injections intraveineuses réalisées avec l'encre de Chine sont suivies d'un changement rapide de la couleur des souris, ce changement couvre la totalité du corps; ensuite la couleur revient à la normale après quelques minutes.

Les résultats de l'effet de *Capparis spinosa* sur la clearance et l'élimination des particules de carbone de la circulation sanguine chez les souris sont illustrés dans les figures 27 et 28. Les deux extraits de la plante aux doses 100 et 200 mg/kg ont montré une augmentation significative de la clearance du carbone dans le sang d'une manière dépendante de la dose, 0,097 et 0,106 ( $p < 0,01$ ), respectivement, pour les fruits et 0,102 et 0,112 ( $p < 0,01$ ), respectivement, pour les feuilles en comparaisant avec le contrôle (0.072).

Les macrophages jouent un rôle important dans la réponse immunitaire non spécifique (innée). Le test de clearance de carbone a été effectué pour évaluer l'effet des extraits sur le système réticulo-endothélial. Ce système est très consistant en phagocytes. Les cellules de ce système, notamment les macrophages jouent un rôle essentiel dans le dégagement des particules étrangères de la circulation sanguine (Mustafa, 2012). La fonction de la phagocytose consiste en la suppression des micro-organismes, des corps étrangers et des cellules mortes et blessées.



**Figure. 27:** Effet de l'extrait de fruits de *Capparis spinosa* sur l'activité phagocytaire par le test de clearance de carbone. Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± SEM (n=6). \*\* P < 0,01



**Figure. 28:** Effet de l'extrait de feuilles de *Capparis spinosa* sur l'activité phagocytaire par le test de clearance de carbone. Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± SEM (n=6). \*\* P < 0,01

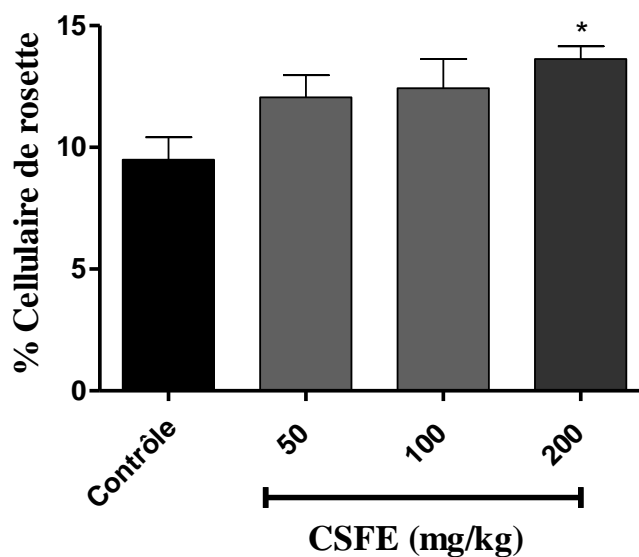
L'augmentation de l'indice de la clearance de carbone par CSFE et CSLE reflète l'amélioration de la fonction phagocytaire des macrophages mononucléés et de l'immunité non spécifique (Sudha *et al.*, 2010). Lorsque les particules de carbone sont injectées par voie intraveineuse, le taux de la clearance de carbone par les macrophages dans le sang est gouverné par une équation exponentielle. Cela semble être la façon générale dans laquelle les particules sont éliminées du sang (Gokhale *et al.*, 2003).

Les travaux antérieurs et le criblage phytochimique des extraits alcooliques de *Capparis spinosa* ont montré la présence d'alcaloïdes, des glycosides, des glucides, des tanins, des résines phénoliques, des flavonoïdes et des triterpénoïdes alors que l'extrait aqueux a montré la présence de stéroïdes, les glycosides, les glucides, les flavonoïdes et les saponines (Mustafa, 2012; Harsha *et al.*, 2013). Également, des travaux ont indiqué que plusieurs types de flavonols stimulent la prolifération des leucocytes du sang humain périphériques et augmentent l'activité des cellules T auxiliaires, l'interleukine 2 et macrophages et ils sont de ce fait utiles dans le traitement de plusieurs maladies provoquées par un dysfonctionnement immunitaire (Kawakita *et al.*, 2005). De plus, il a été démontré que les extraits méthanoliques de feuilles et de fruits ont des effets antioxydants très élevées en raison de leurs composants polyphénols en particulier les flavonoïdes (Arrar *et al.*, 2013).

#### **3.2.4 Evaluation des lymphocytes T par la technique de rosette**

Les groupes des souris traités par le *Capparis spinosa* ont montré une augmentation dans le nombre des cellules formant les rosettes. L'extrait de fruits aux doses progressives de 50, 100 et 200 mg/kg a montré un pourcentage de cellule en rosettes de 12,06%, 12,44% et 13,64%

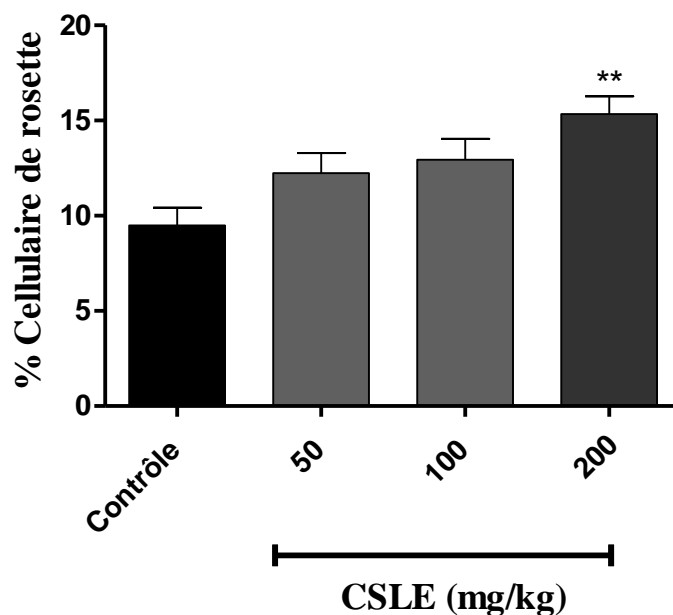
respectivement, tandis que celui du groupe traité avec la solution saline présente un pourcentage de 9,49 % (Figure 29). Cette augmentation est significative ( $p < 0,05$ ) à la dose de 200 mg/kg.



**Figure. 29** : Effet de l'extrait méthanolique de fruits de *Capparis spinosa* sur le taux des lymphocytes formant des rosettes avec les globules rouges des moutons. Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  SEM (n=6). \*\* P < 0,05

De son côté, l'extrait de feuilles aux doses progressives de 50, 100 et 200 mg/kg a montré un pourcentage de cellule en rosettes de 12,24%, 12,94% et 15,34%, respectivement (Figure 30). Cette augmentation est significative ( $p < 0,01$ ) à la dose de 200 mg / kg p.o. en comparaisant avec le groupe contrôle.

L'estimation des lymphocytes T par le test de rosette sur des souris traités pendant sept jour, renforce les résultats obtenus in vitro pour les lymphocytes T et l'interleukine 2 en montrant une augmentation significative dans le nombre de lymphocyte formant la rosette ( $p < 0,05$ ).



**Figure. 30** : Effet de l'extrait méthanolique de fruits de *Capparis spinosa* sur le taux des lymphocytes formant des rosettes avec les globules rouges des moutons. Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  SEM (n=6). \*\* P < 0,01

### 3.2.5 Effet de *C. spinosa* sur les souris traitées par la cyclophosphamide

L'Effet de l'extrait de fruits et de feuilles sur le nombre totale des leucocytes après une induction par la cyclophosphamide est indiqué dans le tableau 9. L'administration de la cyclophosphamide produit une diminution significative dans le nombre leucocytaire total. Une réduction significative du nombre total des leucocytes est observée chez les souris traitées uniquement avec le cyclophosphamide (groupe II) par rapport au groupe témoin (groupe I). Les doses (100 et 200 mg/kg) de l'extrait de fruits combinées à la cyclophosphamide ont montré une augmentation significative du nombre des globules blancs  $4,33 \pm 0,08$  ( $p < 0,01$ ) et  $4,19 \pm 0,08$  ( $p < 0,05$ ), respectivement. L'extrait de feuilles à la concentration 100 et 200 mg/kg, combinée à la cyclophosphamide augmente aussi le nombre des globules blancs de 3,64 mg/kg (groupe II) à 4,19 mg/kg ( $p < 0,05$ ) et 4,40 mg/kg ( $p < 0,05$ ), respectivement (Tableau 9).

**Tableau 7:** L'effet des extraits méthanoliques fruits et feuilles de *Capparis spinosa* sur les souris induites par la cyclophosphamide.

Groups (N = 6)	Traitement	Nombre total des globules blanc ((10 <sup>3</sup> /μl)
Group I	Control	4.1±0.33
Group II	CYP (30 mg/kg)	3.64±0.11*a
Group III	Extrait de Fruits 50 mg/kg	3.29±0.9
Group IV	Extrait de Fruits 100 mg/kg	4.33±0.08**b
Group V	Extrait de Fruits 200 mg/kg	4.19±0.08*b
Group VI	Extrait de feuilles 50 mg/kg	3.12±0.14
Group VII	Extrait de feuilles 100 mg/kg	4.19±0.12*b
Group VIII	Extrait de feuilles 200 mg/kg	4.40±0.24**b

CYP: cyclophosphamide. Les valeurs sont exprimées en 'a' en comparaison avec le contrôle et exprimé comme 'b' par rapport à CYP. l'analyse Statistique est effectuée par ANOVA suivi par le test de comparaisons multiples Dunnett. Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM \* = P <0,05, \*\* = p <0,01 et \* = p <groupe traité par le médicament 0.01.Test par rapport avec le cyclophosphamide.

L'activité immunomodulatrice de l'extrait méthanoliques de feuilles et de fruits de *Capparis spinosa* est également explorée en évaluant leurs effets sur la myélosuppression induit par cyclophosphamide chez les souris. Les résultats de cette étude ont révélé un effet atténuant sur la suppression de la moelle osseuse induite par le cyclophosphamide traduit par une augmentation des globules blancs total. Ceci indique l'éventuel effet de l'extrait de restaurer et renforcer le système immunitaire déplété par le cyclophosphamide (Shah *et al.*, 2008).

## 4. Activité anti-inflammatoire

### 4.1. Activité anti-inflammatoire *in vivo*

Dans le présent travail, l'effet anti-inflammatoire de *Capparis spinosa* est évalué sur un modèle de souris avec inflammation induite par le carragénine. Le pourcentage d'inhibition est estimé en comparaison avec un anti-inflammatoire de référence, l'indométacine. Les résultats présentés dans le Tableau 10 montrent les effets de l'extrait méthanolique de feuilles et de fleurs du *Capparis spinosa*, en fonction du temps, de l'œdème induit par la carragénine sur la patte de la souris. Après injection de la carragénine à 1% dans la patte arrière droite des souris témoins non traité, l'épaisseur de la patte passe de 0,72 mm à 0,79 après 3heures pour atteindre son maximum de 0,83 mm après 6 heures. Administré en préventif du produit de référence choisi, l'indométacine (10mg/kg, v.o.), réduit l'œdème de la carragénine de façon significative à partir de 1h. L'inhibition maximale est obtenue six heures après l'injection de l'agent inflammatoire, le pourcentage d'inhibition est de 66.66 %.

Les groupes traités par le CSLE et le CSFE ont montrés une diminution dans l'épaisseur de l'œdème comparée au groupe témoin. Cette réduction est très significative pour les doses 400 mg/kg des deux extraits à 3 et 6 h après l'injection de carragénine; soit un pourcentage de 45.56%; 60.7% respectivement pour le groupe traité par l'extrait de feuilles et 44.3%; 57.14% respectivement pour les souris traité par l'extrait de fruits. L'inhibition de l'œdème est légèrement importante pour l'extrait de feuilles que celle obtenue d'extrait de fruits. (Tableau 10 et 11).

**Tableau 8:** Effet d'extrait méthanolique de feuilles et de fruits de *Capparis spinosa* sur l'œdème de la patte (en mm) induit chez la souris par l'injection de la carragénine.

Traitements Des souris (n= 6)	Changement dans l'épaisseur de la patte (mm)		
	1h	3h	6h
Contrôle	0,72 ± 0.063	0.79 ± 0,064	0,84 ± 0,043
CSLE 200(mg/kg)	0,66 ± 0.054	0.70 ± 0,075	0,70 ± 0,032
400(mg/kg)	0,64 ± 0.033	0.43 ± 0,028**	0,33 ± 0,026***
CSFE 200(mg/kg)	0.67 ± 0.027	0.66 ± 0,105	0,72 ± 0,030
400(mg/kg)	0.63 ± 0.03	0.44 ± 0,057**	0,36 ± 0,053***
Indométacine 10(mg/kg)	0.51 ± 0.051*	0.37 ± 0,035***	0,28 ± 0,034***

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n=6). P<0,05 \*; P<0,01 \*\*; P<0,001 \*\*\*



**Tableau 9:** Effet d'extrait méthanolique des feuilles et des fruits de *Capparis spinosa* sur l'œdème induit chez la souris par l'injection de la carragénine (Pourcentage d'inhibition)

Traitement	Pourcentage d'inhibition (%)		
	1h	3h	6h
Contrôle	-	-	-
CSLE 200 (mg/kg)	8.33	11.39	16.6
400(mg/kg)	11.11	45.56**	60.7***
CSFE 200 (mg/kg)	6.94	16.45	14.28
400 (mg/kg)	12.5	44.3**	57.14***
Indométacine 10 (mg/kg)	33.33*	53.16***	66.66***

P<0,05 \*; P<0,01\*\*; P<0,001\*\*\*

L'induction de l'œdème par la carragénine dans la patte de la souris est un modèle animal bien établi pour évaluer l'effet anti-inflammatoire de produits naturels ainsi que des composés chimiques de synthèse. L'injection de la carragénine à la patte provoque une réponse inflammatoire bi-phasique dont la phase initiale qui dure environ 1h30 min après l'injection, se manifeste par la libération de la sérotonine, de l'histamine, de la bradykinine. La seconde phase qui intervient après est due à la biosynthèse des prostaglandines (Vinegar *et al.*, 1969). L'analyse de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de fruits ou de feuilles (200 mg/kg) et de a montré une réduction non significative de l'œdème chez les souris. A la doses de 400 mg/ml, les deux extraits ont montré une réduction et une inhibition significative ( $p < 0,05$  et  $p < 0,01$ , respectivement) de l'œdème dans les phases précoces et tardives de l'inflammation aiguë, maximale à 6 h; comparé au contrôle et à l'indométacine (10 mg/kg, vo). Ces résultats suggèrent

que les extraits méthanoliques de *Capparis spinosa* ont un effet anti-inflammatoire qui s'oppose à l'action des médiateurs endogènes pro-inflammatoires (sérotonine, histamine, bradykinine). Cette action s'exercerait davantage sur la cyclo-oxygénase, enzyme responsable de la synthèse des prostaglandines.

## **4.2 Activité anti-inflammatoire *in vitro* (Effet sur la stabilité de la membrane érythrocytaire)**

La stabilisation de membrane des globules rouges est employée comme modèle pour étudier l'activité anti-inflammatoire *in vitro* puisque la membrane d'érythrocytes est analogue à la membrane lysosomale (Gandhidasan *et al.*, 1991; Shenoy *et al.*, 2010) et sa stabilisation implique que l'extrait de plante peut bien stabiliser la membrane lysosomale. Cette stabilisation est importante pour limiter la réponse inflammation en empêchant la libération extracellulaire des constituants lysosomaux de neutrophiles activés, à savoir les enzymes bactéricides et les protéases, ce qui provoque le dommage et l'inflammation des tissus (Chou, 1997).

### **4.2.1 Hémolyse induite par la chaleur**

Dans cette étude, les deux extraits méthanoliques de fruits et de feuilles à la dose de 400 µg/ml protègent de manière significative la membrane érythrocytaire contre la lyse induite par la chaleur 28.4 % et 34.4 %, respectivement, en comparant avec le témoin (Tableau 12). Cette inhibition (protection), surtout pour l'extrait méthanolique de feuilles, est similaire à celle de l'acétylsalicylique à 100 µg/ml, qui offre une protection significative de la membrane des globules rouge contre l'effet hémolyse provoqué par la chaleur 35 % (Tableau 12).

**Tableau 10:** Effet de *C.spinosa* sur l'hémolyse induite par la chaleur des globules rouges humains.

Traitement	Concentration (µg/ml)	% d'inhibition de l'hémolyse
Contrôle	-	-
CSFE	100	6.2 ± 2.94
	200	5.77 ± 1.91
	400	28.4 ± 2.64**
CSLE	100	8.22 ± 3.02
	200	7.4 ± 2.13
	400	34.4 ± 4.54**
Acide acétylsalicylique	100	35.01 ± 3.73**

\*\* : P<0,01.

#### 4.2.2. Hémolyse induite par l'hypotonicité

Les résultats montrent que les deux extraits de *C. spinosa* à la concentration de 400 µg/ml, protègent significativement (p<0,001) la membrane érythrocytaire contre la lyse induite par une solution hypotonique; 58.8 % pour les fruits 72.4% pour et les feuilles (tableau). L'acétylsalicylique à 100 µg/ml) donne une protection significative (p < 0,001) contre les effets néfastes de la solution hypotonique. A la concentration de 400 µg/ml CSLE a montré un maximum de protection de 72,4 %, alors que, le standard à 100 µg / ml a montré une inhibition d'hémolyse de 70,4 % par comparaison au contrôle (Tableau 13).

**Tableau 11:** Effet de *C.spinosa* sur l'hémolyse des globules rouges humains induite par une solution hypotonique.

Traitement	Concentration (µg/ml)	% d'inhibition de l'hémolyse
Contrôle		–
CSFE	100	6.8 ± 1.32
	200	8.8 ± 2.13
	400	58.9 ± 4.7***
CSLE	100	9.6 ± 2.29
	200	11 ± 2.07
	400	72.8 ± 2.82***
Acide acétylsalicylique	100	70.4 ± 3.43***

\*\*\* : P<0,001 est considéré significatif par rapport au témoin.

La protection de la membrane des globule rouge contre de la lyse induite par la chaleur ou par une solution hypotonique a été prise comme une mesure de l'activité anti-inflammatoire des médicaments et des extraits de plantes médicinales (Mounissamy *et al.*, 2007). Les résultats ont montré que les extraits méthanoliques de *Capparis spinosa* protègent les membranes érythrocytaires contre la lyse induite par l'hypotonicité ainsi que par la chaleur. Cette activité anti-inflammatoire est comparable à celle de l'acide acétylsalicylique. Bien que, le mécanisme précis par lequel la membrane est stabilisée n'est pas encore élucidé, il a été montré que l'interaction des extraits de plantes avec des protéines membranaires peut induire une cytoprotection de la membrane des globules rouges contre la lyse induite par la chaleur. Les lyses induites par l'hypotonicité sont probablement provoquées par le rétrécissement des cellules dues

à une perte osmotique intracellulaire d'électrolyte et des composants fluides. L'inhibition de la lyse hypotonique implique clairement les processus qui empêcheraient la migration de ces composants intracellulaires en dehors de la cellule. Il a été démontré que la déformabilité de la cellule et les volumes d'érythrocytes sont en rapport étroit avec leur contenu intracellulaire de calcium (Shinde *et al.*, 1999). Ainsi, l'effet de stabilisation de la membrane par ces agents peut être due à l'altération de l'afflux de calcium dans les érythrocytes (Shinde *et al.*, 1999).

#### **4.5.2 Inhibition de la dénaturation de l'albumine**

Dans la présente étude, l'effet anti-inflammatoire in vitro de *Capparis spinosa* est évalué contre la dénaturation de l'albumine. Les résultats sont résumés dans le Tableau 14. Aux concentrations 200 et 400 µg/ml, l'extrait méthanolique de fruits incubé avec l'albumine a montré une inhibition significative de la dénaturation de l'albumine (41.59% et 51.78%, respectivement) alors que celui de feuilles a exercé une inhibition de 39.99% et 50.12%, respectivement. Pour les deux extraits, la protection de l'albumine à la dose 400 µg/ml est comparable avec celle du produit de référence (acide acétylsalicylique) qui présente un taux de protection de 64.85%.

**Tableau 12:** Effet de *Capparis spinosa* sur la dénaturation de l'albumine provoquée par la chaleur.

Traitement	Concentration (µg/ml)	% d'inhibition
Contrôle	-	-
CSFE	100	13.59 ± 2.2
	200	41.59 ± 8.23***
	400	51.78 ± 9.18***
CSLE	100	16.27 ± 6.48
	200	39.99 ± 5.75***
	400	50.12 ± 3.3***
Acide acétylsalicylique	100	64.85 ± 2.63***

Chaque valeur représente la moyenne de trois essais ± SEM. \*\*\* : P <0,001.

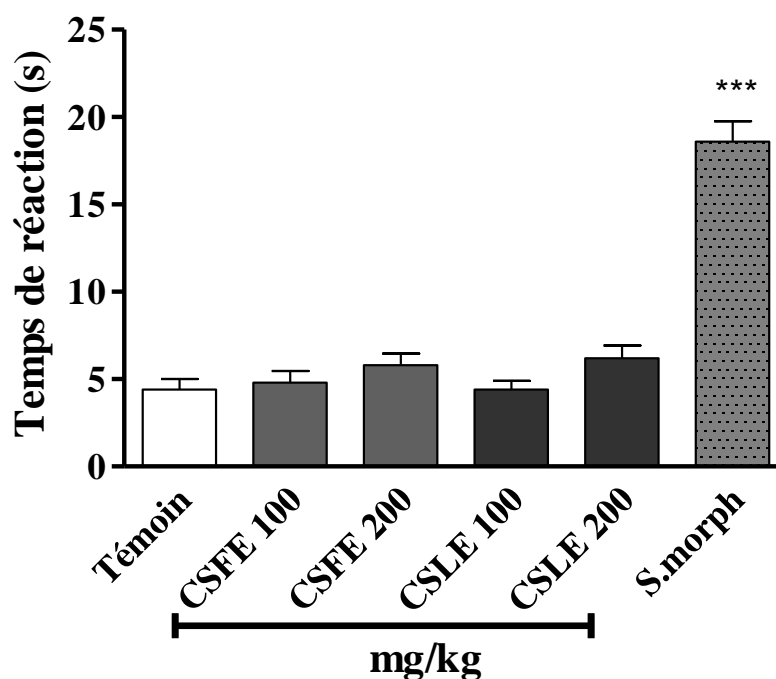
La dénaturation des protéines *in vivo* peut être la cause de la production d'auto-antigènes dans certaines maladies arthritiques. Par conséquent, elle est utilisée comme un marqueur pour les maladies inflammatoires et arthritiques (Rajendran et Lakshmi, 2008). Les Produits Naturel qui peuvent empêché la dénaturation des protéines serait donc utile pour le développement de la thérapie médicamenteuse anti-inflammatoire.

Dans la présente étude, le test de la dénaturation des protéines est choisie pour évaluer *in vitro* les propriétés anti-inflammatoires des extraits éthanoliques de *C. spinosa*. D'après les résultats obtenus (Tableau 14), les deux extraits méthanoliques de plante à la dose de 400 mg/kg ont inhibés significativement (p<0.01) la dénaturation de l'albumine provoquée par la chaleur avec des pourcentages comparables à celle de l'aspirine (Acide acétylsalicylique).

## 5. Activité antalgique

### 5.1. Effet analgésique central

L'effet de la morphine et des extraits méthanoliques de fruits et de feuilles sur la durée de séjour de la patte dans un milieu à température élevée sont représentés par la figure 31. Les deux extraits ne présentent pas d'activité antalgique centrale selon la méthode d'immersion de la patte. La validité de la méthode a été confirmée par l'effet analgésique centrale du médicament de référence le sulfate de morphine, qui protège les animaux *vis-à-vis* de la chaleur.



**Figure. 31:** Action analgésique centrale des extraits méthanoliques de fruits (CSFE) et de feuilles (CSLE) de *Capparis spinosa* (100 et 200 mg/kg) chez la souris. S.morph : sulfate de morphine.

## 5.2. Action analgésique périphérique

Les résultats du test de Koster sont regroupés dans le tableau 15, indiquant la moyenne du nombre de crampes dues à l'acide acétique enregistrées pendant 20 min, et le pourcentage de l'inhibition de les extraits méthanoliques de fruits et de feuilles de *Capparis spinosa* (100 et 200 mg/kg). A la dose de 100 mg/kg, les deux extraits montrent une légère activité analgésique quoique, significative pour l'extrait de feuilles. A plus fortes doses (200 mg/kg), les deux extraits montrent une action analgésique périphérique significative ( $p < 0,01$ ) malgré qu'encore plus faible que celle de la substance de référence (61,96 %).

**Tableau 13:** Activité antalgique de l'extrait méthanolique, fruits et feuille, de *C. spinosa* contre les torsions provoquées par l'acide acétique : «Writhing test»

Groupes	Doses	Nombre de crampes	% d'inhibition des crampes
Témoin	0.2 ml/20g	60.20 ± 1.85	-
CSFE	100 mg/kg	53.80 ± 1.98*	10.63
	200 mg/kg	36.21 ± 0.97**	39.85**
CSLE	100 mg/kg	56 ± 1.81	6.97
	200 mg/kg	32.60 ± 1.28**	45.84**
Acide acétylsalicylique	100 mg/kg	22.90 ± 1.24***	61.96***

Les valeurs représentent la moyenne ± SEM, (n=5) \*\*\* :  $p < 0,001$  ; \*\* :  $p < 0,01$  \* :  $p < 0,05$ .



Ces résultats indiquent que *C. spinosa* exerce un effet protecteur (analgésique) *vis-à-vis* de la douleur chimique. Ceci confirme les résultats obtenus par Liu *et al.* (2014). L'activité analgésique périphérique des deux extraits serait due à la présence des composés phénoliques et des alcaloïdes. Ces composés sont en effet connus, comme doués de propriétés analgésiques dans d'autres plantes médicinales comme *Jasminum amplexicaule* et *Elephantopus tomentosus* (Jia *et al.*, 2008; Yam *et al.*, 2009). Le mécanisme de l'action analgésique pourrait être basé sur l'inhibition des cyclo-oxygénases, les lipo-oxygénases et la production des deux prostaglandines (PGE2 et PGE2 $\alpha$ ) et médiateurs inflammatoires (Derardt *et al.*, 1980; Dou *et al.*, 2004; Chavan *et al.*, 2010). Les résultats de notre étude révèlent pour les extraits CSFE et CSLE un pouvoir analgésique périphérique de type aspirine à la dose de 200 mg/kg.

## **Conclusion et perspective**

## Conclusion et perspective

La médecine traditionnelle est très importante pour le traitement de nombreuses pathologies telles que le cancer, le diabète, l'hypertension, la contamination microbienne et virale, le SIDA, les allergies et autres. *Capparis spinosa* était couramment utilisée dans la médecine traditionnelle par de nombreuses cultures depuis les temps anciens, en particulier dans tous les pays du bassin méditerranéen pour traiter diverses pathologies.

L'étude phytochimique menée par plusieurs auteurs (Yang *et al.*, 2008; Zhou *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2010) sur la partie aérienne de la plante a montré que tous les groupes chimiques identifiés au niveau de l'extrait aqueux et méthanolique se retrouvent dans la préparation traditionnelle. La méthode d'extraction utilisée en médecine traditionnelle est donc du point de vue qualitatif aussi efficace que la méthode d'extraction par le méthanol. L'abondance en principes actifs confère à la plante des propriétés pharmacologiques remarquables, ce qui pourrait justifier ses multiples indications thérapeutiques et pour lesquelles elles sont utilisées dans la thérapie folklorique.

Ce travail visait l'évaluation de l'activité antioxydante, immunomodulatrice, hépatoprotectrice, anti-inflammatoire et analgésique des deux extraits méthanoliques de *Capparis spinosa* dans un but essentiel de valoriser leur potentiel thérapeutique.

L'effet antioxydant de CSFE et de CSLE estimé *in vitro* via l'utilisation de la méthode du piégeage du radical DPPH, de la décoloration du bêta-carotène a été significativement intéressant. L'activité antiradicalaire est dépendante du contenu en flavonoïdes et en polyphénols totaux des extraits.

L'activité immunomodulatrice explorée *in vitro* et *in vivo* par plusieurs tests biologiques montre que les deux extraits de la plante de *Capparis spinosa* possèdent une activité immunostimulante importante. De plus et à part les études réalisées par Arena *et al.* (2013) sur l'effet immunomodulateur des bourgeons lyophilisés du *Capparis spinosa*, les données obtenues dans la présente étude ont démontré l'activité immunomodulatrice de *Capparis spinosa* pour d'immunité à médiation humorale et à médiation cellulaire. L'effet stimulateur peut indiquer un potentiel thérapeutique pour le traitement des infections et des immunodéficiences.

L'effet hépatoprotecteur de CSFE et CSLE est évalué *in vitro* contre la toxicité hépatotoxique provoquée par le CCl<sub>4</sub> sur les souris. Le prétraitement par les extraits de la plante a considérablement protégé les hépatocytes des souris. En effet, les données biologiques et histologiques ont confirmés cet effet en comparant avec le groupe traité avec le Silymarine.

L'activité anti-inflammatoire des deux extraits était significative avec des valeurs comparables au médicament de référence. Ces résultats supportent son utilisation ethnopharmacologique. Finalement, Les extraits des fruits et des feuilles de cette espèce montraient une activité antalgique périphérique intéressante.

Toutefois, d'autres études restent nécessaires à savoir l'étude et l'identification des différentes fractions de l'extrait brut des feuilles et des fruits de *Capparis spinosa* pour bien approfondir les connaissances sur les différents flavonoïdes pourvus de ces activités biologiques et aussi pour cerner d'une manière plus fine les différentes actions possibles de ces composés et leur synergie.

En outre et comme il a été déjà mentionné dans la littérature, les études phytochimiques ont révélé clairement que les principaux constituants de cette plante sont les saccharides et

glycosides, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les terpénoïdes et les huiles volatiles, les acides gras, la vitamine C, la vitamine E et des stéroïdes. D'autres études portant sur la relation entre le principe actif pharmacologique, et l'activité sont encore nécessaires pour développer de nouvelles principes actifs complémentaires capables d'enrichir l'arsenal thérapeutique en particulier pour le traitement des maladies inflammatoires et immunitaires.

Le mécanisme par lequel les extraits de la plantes induisent l'immunomodulation est inconnu et nécessite des études plus approfondies si ceux-ci doivent être inclus dans la liste d'agents thérapeutiques. Les recherches futures devraient se concentrer sur le fractionnement des extraits en utilisant la chromatographie. Les fractions isolées peuvent ensuite être soumises à certaines des essais effectués dans cette étude ainsi que d'autres expériences. Cela donnerait une indication de l'activité de ces fractions partiellement ou entièrement purifiées par rapport aux fractions mères.

## **Références bibliographiques**

## Références Bibliographiques

- Abe H, Katada K, Orita M, Nishikibe M. (1991). Effects of Calcium Antagonists on the Erythrocyte Membrane. *J Pharm Pharmacol.* **43**: 22-26.
- Adeneye AA, Olagunju JA, Benebo AS, Elias SO, Adisa AO, Idowu BO, Oyedeji MO, Isioye EO, Braimoh OB, Oladejo OO, Alana EO. (2008). Nephroprotective effects of the aqueous root extract of *Harungana madagascariensis* (L) in acute and repeated dose acetaminophen renal injured rats. *Int. j. appl. res. nat. prod.* **1**: 6-14.
- Aghel N, Rashidi I, Mombeini A. (2007). Hepatoprotective activity of *Capparis spinosa* root bark against CCl<sub>4</sub> induced hepatic damage in mice. *Iran. J. Pharma. Res.* **6**: 285-290.
- Ajith TA, Hema U, Aswathy MS. (2007). *Zingiber officinale* Roscoe prevents acetaminophen-induced acute hepatotoxicity by enhancing hepatic antioxidant status. *Food. Chem. Toxicology.* **45**: 2267-2272.
- Alagille D, Odievre M, Gautier M, Dommergues JP. (1975). Hepatic ductular hypoplasia associated with characteristic facies, vertebral malformations, retarded physical, mental and sexual development and cardiac murmur. *J. Pediatr.* **86**: 63-71.
- Ali-Shtayeh MS, Abu-Ghdeib SI. (1999). Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses.* **42**: 665-672.
- Al-Said MS, Abdelsattar EA, Khalifa SI, El-Ferally FS. (1988). Isolation and identification of an anti-inflammatory principle from *Capparis spinosa*. *Pharmazie.* **43**: 640-641.
- Alsever JB, Ainslie RB. (1941). A new method for the preparation of dilute blood plasma and the operation of a complete transfusion service. *N Y State. J. Med.* **41**: 126-31.
- Amirghofran Z, Azadmehr A, Bahmani M, Javidnia K. (2008). Stimulatory Effects of *Euphorbia cheiradenia* on Cell Mediated Immunity and Humoral Antibody Synthesis. *Iran. J. Immunol.* **5**: 11-123.
- Amirghofran Z, Bahmani M, Azadmehr A, Javidnia K, Ramazani M, Ziaei A. (2010). Effect of *Salvia mirzayanii* on the immune system and induction of apoptosis in peripheral blood lymphocytes. *Nat. Prod. Res.* **24**: 500-508.

- Antia BS, Okokon JE, Nwidi LL, Jackson CL. (2006). Effects of subchronic Administration of ethanolic stem bark Extract of *Mammea Africana* Sabine on Hematological and Biochemical Parameters of Rats. *Afr. J. Biomed. Res.* **9**: 129-132.
- Arena A, Bisignano G, Pavone B, Tomaino A, Bonina FP, Saija A, *et al.* (2008). Antiviral and immunomodulatory effect of a lyophilized extract of *Capparis spinosa* L. buds. *Phytother Res.* **22**: 313–7.
- Arokiyaraj S, Perinbam K, Agastian P, Balaraju K. (2007). Immunosuppressive effect of medicinal plants of Kolli hills on mitogen stimulated proliferation of the human peripheral blood mononuclear cells in *In vitro*. *Indian J. Pharmacol.* **39**: 180-183.
- Arrar L, Benzidane N, Krache I, Charef N, Khennouf S, Baghiani A. (2013). Comparison between polyphenol contents and antioxidant activities of different parts of *Capparis spinosa* L. *Pharmacogn Commun.* **3**:70-4.
- Aslan A, Güllüce M, Sökmen M, Adigüzel A, Sahin F, Özkan H .(2006). Antioxidant and antimicrobial properties of lichens *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon miniatum*, *Everinia divaricata*, *Everinia prunastri* and *Neofuscella pulla*. *Pharmacological Biology.* **44**: 247-252.
- Atherton P. (1997). The essential *Aloe vera*. 2<sup>nd</sup> Ed. Mill Enterprises. Newport Pagnell. pp. 8-45
- Atrooz, OM. (2009). The antioxidant activity and polyphenolic contents of different plant seeds extracts. *Pakistan Journal of Biological Sciences.* **12**: 1063-1068.
- Bafna AR, Mishra SH. (2004). Immunomodulatory activity of methanol extract of flower-heads of *Sphaeranthus indicus* Linn. *Ars Pharm.* **45**: 281-91.
- Bannwarth B. (2005). Traitement anti-inflammatoires. Place de AINS classiques et des coxibs. *Encycl. Med. Chir. AKOS.* pp. 7-0905.
- Barnes PJ. (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clin. Sci.* **94**: 557–572.
- Barret B. (2003). Medicinal properties of Echinacea: a critical review. *Phytomedicine.* **10**: 66-86.
- Ben Mansour R, Jilani IBH, Bouaziz M, Gargouri B, Elloumi N, Attia H, Ghrabi-Gammar Z, Lassoued S. (2014). Phenolic contents and antioxidant activity of ethanolic extract of *Capparis spinosa*. *Cytotechnology.* **68**: 135-142.
- Benacerraf B. (1978). A hypothesis to relate the specificity of T lymphocytes and the activity of I region specific Ir genes in macrophages and B lymphocytes. *J. Immunol.* **120**: 1809-12.
- Benny KH, Vanitha J. (2004). Immunomodulatory and Antimicrobial Effects of some Traditional Chinese Medicinal Herbs: A Review. *Curr. Med. Chem.* **11**: 1423-1430.



- Benzidane N, Charef N, Krache I, Baghiani A, Arrar L. (2013) In vitro broncho relaxant effects of *Capparis spinosa* aqueous extracts on rat trachea. *J Appl Pharm Sci.* **3**:85-88.
- Berman AF. (2003). Echinacea for the prevention and treatment of upper respiratory infections. *Semin. Integr. Med.* **1**: 106-111.
- Besson JM. (1990). Le nociception. Moniteurs des pharmacies et des laboratoires. pp. 8-13.
- Bhawna S, Kumar SU. (2009). Hepatoprotective activity of some indigenous plants. *Int. J. PharmTech Res.* **4**: 1330-1334.
- Bisson M, Heuze G, Joachim S, Lacroix G, Lefevre JP, Strub MP. (2005). Fiche de donnes toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Tétrachlorure de carbone. INERIS. Version **2** : 5-7.
- Blain H, Jouzeau JY, Blain A. (2000). Anti-inflammatoires non stéroïdiens sélectifs de la cyclooxygénase-2 pour la maladie d'Alzheimer: Justification et perspectives. *Presse Med.* **29** : 267-273.
- Bonina F, Puglia C, Ventura D, Aquino R, Tortora S, Sacchi A, Saija A, Tomanio A, Pellegrino ML, Carparis P. (2002). In vitro antioxidant and in vivo photoprotective effects of a lyophilized extract of *Capparis spinosa* L. buds. *J. Cosmet. Sci.* **53**: 321-335.
- Borchers AT, Keen CL, Stern JS, Gershwin ME .(2000). Inflammation and Native American medicine: the role of botanicals. *Am. J. Clin. Nutr.* **72**: 339-347.
- Bouic PJD, Etsebeth S, Liebenberg RW, Albrecht CF, Pegel K, Jaarsveld PP. (1996). Beta-sitosterol and Beta- sitosterol glucoside stimulate human peripheral blood lymphocyte proliferation: Implications for their use as an immunomodulatory vitamin combination. *Int. J. Immunopharmacol.* **18**: 693-700.
- Boumerfeg S, Baghiani A, Messaoudi D, Khennouf S, Arrar L. (2009). Antioxidant properties and xanthine oxidase inhibitory effects of *Tamus communis* L. Root Extracts. *Phytother. Res.* **23**: 283-288.
- Campo GM, Squadrito F, Ceccarelli S, Calò M, Avenoso A, Campo S, Squadrito G, Altavilla D.(2001). Reduction of carbon tetrachloride-induced rat liver injury by IRFI 042, a novel dual vitamin E-like antioxidant. *Free Radic.* **34**: 379-393.
- Canada, Santé. (2003). Loi Sur Les Aliments Et Drogues. Règlement Sur Les Produits De Santé Naturels c.P. 2003-847, 5 Juin 2003 In: D.g.d.p.d.s.e.d.a. Direction des produits de santé naturels. Ed. Santé Canada.
- Chan Y, Chang T, Chan CH, Yeh YC, Chen CW, Shieh B, Li C. (2007). Immunomodulatory effects of *Agaricus blazei* murill in Balb/cBy J mice. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* **40**:201-208.

- Chandrasekaran K, Suseela L. (2011). Analgesic activity of ethanolic extract of *pentatropis capensis* and *sarcostemma secamone*. *J.pharma. bio sci.* **2**: 73-76.
- Chao CH, Lee YP. (2001). Relationship between reproductive performance and immunity in Taiwan Country chickens. *Poult. Sci.* **80**:535-540.
- Charles NS, Peter AW, Derek WG. (2010). Fundamentals of Inflammation, Cambridge University Press. pp. 2-3.
- Chavan MJ, Wakte PS, Shinde DB 2010. Analgesic and anti-inflammatory activity of Caryophyllene oxide from *Annona squamosa* L. bark. *Phytomed.* **17**: 149-51
- Chen CJ, Deng AJ, Liu C, Shi R, Qin HL, Wang AP. (2011). Hepatoprotective activity of *Cichorium endivia* L. extract and its chemical constituents. *Molecules.* **16**: 9049-9066.
- Cherng JM, Chiang W, Wang IJ, Chun-Yi Lee CL, Shih CM, Chiang LC. (2008). Anthraquinones of edible wild vegetable *Cassipourea* stimulate proliferation of human CD4+ T lymphocytes and secretion of interferon-gamma or interleukin 10. *Food. Chem.* **107**: 1576-1580.
- Chihara G, Hamuro J, Maeda Y, Arai Y, Fukuoka F. (1970). Antitumor polysaccharide derived chemically from natural glucan (pachyman). *Nature.* **225**: 943-944.
- Choi S, Chung M-H. (2003). A review of the relationship between *Aloe vera* components and their biologic effects. *Semin. Integrative. Med.* **1**: 53-62.
- Cohen A, Belmatoug N. (2002). Coeur et médecine interne. Estem. 2309. p.
- Dashti Rahmatabadi MH, Anvari M, Rezai Sadrabadi M, Fallah Tafti H, Zanbagh S, Yadegari S. (2009) The effect of *Solanum melongena* L. hydro-alcoholic extract on chronic pain in male mice as compared with morphine. *Iran J. Med. Aromat Plants.* **25**: 129-138.
- David EK, Naga PC, William ML. (2014). Hepatic histological findings in suspected drug-induced liver injury. *Hepatology.* **59**: 661-670.
- Deba F, Xuan TD, Yasuda M, Tawatu S. (2008). Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa*. Linn. Var. *Radiata. Food. contrl.* **19**: 346-352.
- DeFranco AL, LocksleyRM, Robertson M. (2009). Immunité: La réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires. DE BOECK Université. pp. 106-111.
- Derardt R, Jougney S, Benzoni J, Peterfalvi M. (1980). Release of prostaglandins E and F in an algogenic reaction and its inhibition. *Eur J. Pharmacol.* **61**: 17-24
- Diebold J, Camilleri JP, Reynes M, Callard P. (1986). Anatomie pathologique générale. J.-B. Baillière. Paris. pp.132-138.

- Dongmo AB, Nguelefack TB, Lacaille-Dubois MA. (2005). Antinociceptive anti-inflammatory activities of *Acacia pennata* wild (Mimosaceae). *J. Ethnopharmacol.* **98**: 201-206.
- Dou W, Jiao Y, Goorha S, *et al.* (2004). Nociception and differential expression of cyclooxygenase-1 (COX-1) the COX-1 variant retaining intron-1 (COX-1v), and COX-2 in mouse dorsal root ganglia (DRG). *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* **74**: 29-43.
- Duke JA, Bogenschutz-Godwin MJ, Cellier JD, Duke PK. (2003). Handbook of medicinal spices. "Illustrator ". edited by CRC Press LLC. Florida. pp. 115-126.
- Eddouks M, Lemhadri A, Michel JB. (2005). Hypolipidemic activity of aqueous extract of *Capparis spinosa* L. in normal and diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* **98**: 345-50.
- Elias G, Rao MN. (1988). Inhibition of albumin denaturation and anti-inflammatory activity of dehydrozingerone and its analogs. *Indian. J. Exp. Biol.* **26**: 540 -542.
- Emberger L. (1971). Travaux de botanique et d'écologie. Ed. Masson. 520 p.
- European Commission. (2008). Vaccines for humans research funded by the European Union.
- Fletcher MA, Klimas A, Morgan R, Gjereet G. (1992). Lymphocyte Proliferation. In Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Association for Microbiology. New York. pp. 213-219.
- Fontaine E. (2007). Radicaux libres : Traité de nutrition artificielle de l'adulte. Springer-Verlag. France. pp. 251-257
- Fridovich I. (1998). Oxygen toxicity: a radical explanation. *J. Exp. Biol.* **201**: 1203-1209.
- Fu XP, Wu T, Abdurahim M, Su Z, Hou XL, Aisa HA, Wu H. (2008). Newspermidine alkaloids from *Capparis spinosa* roots. *Phytochem. Lett.* **1**: 59-62.
- Gadgoli C, Mishra SH. (1995). Preliminary screening of *Achillea millefolium*, *Cichorium intybus* and *Capparis spinosa* for antihepatotoxic activity. *Fitoterapia.* **56**: 319-323.
- Gadgoli C, Mishra SH. (1999). Antihepatotoxic activity of p-methoxybenzoic acid from *Capparis spinosa*. *J. Ethnopharmacol.* **66**: 187- 192.
- Gandhidasan R, Thamaraichelvan A, Baburaj S. (1991). Anti-inflammatory action of *Lannea coromandelica* by HRBC membrane stabilization. *Fitoterapia.* **62**: 81- 83.
- Ganguly C, Das S. (1994). Plant lectins as inhibitors of tumour growth and modulators of host immune response. *Chemotherapy.* **40**: 272-278.
- Ganju L, Karan D, Chanda S, Srivastava KK, Sawhney RC, Selvamurthy W. (2003). Immunomodulatory effects of agents of plant origin. *Biomed. Pharmacother.* **57**: 296-300.
- Gbenou JD, Ahounou JF, Ladouni P, Agbodjogbe WKDD, Tossou R, Dansou P, Moudachirou M. (2011). Propriétés anti-inflammatoires des extraits aqueux de *Sterculia setigera* Delile

- et du mélange *Aframomum melegueta* K. Schum – *Citrus aurantifolia* Christm et Panzer. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **5**: 634-641
- Germano MP, De Pasquale R, D'Angelo V, Catania S, Silvari V, Costa, C. (2002). Evaluation of extracts and isolated fraction from *Capparis spinosa* L. buds as antioxidant source. *J. Agric. Food Chem.* **50**: 1168-1171.
- Ghule BV, Muruganathan G, Nakhat PD, Yeole PG. (2006). Immunostimulant effects of *Capparis zeylanica* Linn. leaves. *J. Ethnopharmacol.* **108**: 311–315.
- Gillian P, Christopher DR. 2004. Physiologie humaine : les fondements de la médecine. Elsevier Masson. 272. p.
- Girish C, Koner BC, Jayanthi S, Rao KR, Rajesh B, Pradhan SC. (2009). Hepatoprotective activity of six polyherbal formulations in paracetamol induced liver toxicity in mice. *Indian. J. Med. Res.* **129**: 569-578.
- Goel V, Chang C, Slama J, Barton R, Bauer R, Gahler R, Tapan K, Basu TK . (2002). Echinacea stimulates macrophage function in the lung and spleen of normal rats. *J. Nutr. Biochem.* **13**: 487-492.
- Gokhale AB, Damre AS, Saraf MN. (2003). Investigations into the immunomodulatory activity of *Argyrea speciosa*. *J. Ethnopharmacol.* **84**:109–114.
- Goldsby RA, Kindt TK, Osborne BA, Kubly J. (2003). Immunology, 3<sup>rd</sup> Ed. W. H. Freeman and Company. New York. pp. 382-386.
- Gomez-Flores R, Calderon CL, Scheibel LW, Tamez-Guerra P, Rodriguez-Padilla C, Tamez-Guerra R, Weber RJ. (2000). Immunoenhancing properties of *Plantago major* leaf extract. *Phytother. Res.* **14**: 617-622.
- Guo L, Xie J, Ruan Y, Zhou L, Zhu H, Yun X, Jiang Y, Lü L, Chen K, Min Z, Wen Y, Gu J. (2009). Characterization and immunostimulatory activity of a polysaccharide from the spores of *Ganoderma lucidum*. *Int. Immunopharmacol.* **9**:1175–1182.
- Gupta B, Ghosh B. (1999). Curcuma longa inhibits TNF- $\alpha$  induced expression of adhesion molecules on human umbilical vein endothelial cells. *Int. J. Immunopharmacolo.* **21**: 745-757.
- Haj Hashemi VA, Ghanadi A, Mosavi D. (2000). Analgesic and antiinflammatory effects of total extract, flavonoid fraction and volatile oil of *Salvia hydrangea*. *J. Res. Med. Sci.* **5**: 10-14.
- Hall IH, Lee KH, Starnea CO, Sumida Y, Wu RY, Waddeil TG, Cochran JW, Gerhart K G. (1979). Anti-inflammatory activity of sesquiterpene lactones and related compounds. *J. Pharma. Sci.* **68**: 537-542.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. (1999). Free Radicals in Biology and Medicine. 3<sup>rd</sup> Ed. Oxford University Press. 45.p.

- Handa SS, Sharma A, Chakraborti KK. (1986). Natural products and plants as liver protecting drugs. *Fitoterapia*. **57**: 307-351.
- Harsha N, Sridevi V, Chandana Lakshmi MVV, Rani K, Vani NDS. (2013). Phytochemical analysis of some selected spices. *Int J Innovative Res Sci Eng Technol*. **2**: 6618-21.
- Holmblad T, Söderhäll K. (1999). Cell adhesion molecules and antioxidative enzymes in a crustacean, possible role in immunity. *Aquaculture*. **172**: 111-123.
- Hu S, Concha C, Lin F et Persson-Waller K. (2003). Adjuvant effect of ginseng extracts on the immune responses to immunisation against *Staphylococcus aureus* in dairy cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol*. **91**: 29-37
- Huang Q, Zhang S, Zheng L, He M, Huang R, Lin X. (2012). Hepatoprotective effects of total saponins isolated from *Taraphochlamys affinis* against carbon tetrachloride induced liver injury in rats. *Food Chem Toxicol*. **50**: 713-718.
- Imlay JA, Linn S. (1988). DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science*. **240** : 1302-1309.
- Janeway CA, Murphy K, Travers P, Walport M. (2009). Immunobiologie. DE BOECK Université. pp. 353-361.
- Jayathirtha MG, Mishra SH. (2004). Preliminary immunomodulatory activities of methanol extracts of *Eclipta alba* and *Centella asiatica*. *Phytomedicine*. **11**: 361-365.
- Jayathirtha MG, Mishra SH. (2004). Preliminary immunomodulatory activities of methanol extracts of *Eclipta alba* and *Centella asiatica*. *Phytomedicine*. **11**: 361-365.
- Jean-François N, Cousin F, Thivolet J. (2001). Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. John Libbey Eurotext. pp. 55-58.
- Jia Q, Su W, Peng W, et al. (2008). Anti-diarrhoea and analgesic activities of the methanol extract and its fractions of *Jasminum amplexicaule* Buch.-Ham. (Oleaceae). *J Ethnopharmacol*. **119**: 299-304
- Juhás Š, Bukovská A, Číkoš S, Czikková S, Fabian D, Koppel J. (2009). Antiinflammatory effects of *Rosmarinus officinalis* essential oil in mice. *Acta Veterinaria Brno*. **78**: 121–127.
- Juyal PD, Singla LD. (2001). Herbal immunomodulatory and therapeutic approaches to control parasitic infections in livestock. India: Department of Veterinary Parasitology. College of Veterinary Science. Punjab Agricultural University. pp 1-8.
- Kanasea VG, Jain BB, Yadav P. (2013). Evaluation of in-vitro immunomodulatory activity of an aqueous and ethanolic extract of *Capparis moonii*. *Int J Pharma Bio Sci*. **4**:344–52.
- Kannan N, Sakthivel KM, Guruvayoorappan, C. (2013). Protective Effect of *Acacia nilotica* (L.) against Acetaminophen-Induced Hepatocellular Damage in Wistar Rats. *Advances in Pharmacological Sciences*. **2013**: 1-9.

- Kaplan E, Clark C. (1974). Improved rosetting assay for detection of human T lymphocytes. *J. Immunol. Meth.* **5**: 131.
- Kaplowitz N, Tsukamoto H. (1996). Oxidative stress and liver disease. *Progress in Liver Diseases.* **14**: 131-159.
- Karp G. (1999). Cell and Molecular Biology: Concepts and experiments. 2<sup>nd</sup> Ed. John Wiley and Sons. New York.
- Kawakita SW, Griedlin HS, Nomoto K. (2005). Immunomodulators from higher plants. *J Nat Med.* **46**:34-8.
- Kelso AMA. (1984). Glucocorticoid inhibition of lymphokine secretion by alloreactive T lymphocyte clones. *Journal of Immunology.* **133**: 784-791.
- Khanapure SP, Garvey DS, Janero DR, Letts LG. (2007). Eicosanoids in inflammation: biosynthesis, pharmacology, and therapeutic frontiers. *Curr Top Med Chem.* **7**: 311-340.
- Kohen R, Nyska A. (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology.* **30**: 620-650.
- Kubola J, Siriamornpun S. (2008). Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruits fraction extracts *in vitro*. *Food Chem.* **110**: 881-890.
- Kuby J. (1994). Cytokines. In Immunology. W. H. Freeman and Company. New York. pp. 297-322
- Kumar V, Abul KA, Nelson F, Richard M. (2007). Robbins Basic Pathology. 8<sup>th</sup> Ed. pp. 20-60.
- Lam SK, Ng TB. (2009). A protein with antiproliferative, antifungal and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from caper (*Capparis spinosa*) seeds. *Phytomedicine.* **16**: 444-450.
- Laskova IL, Uteshev BS. (1992). Immunomodulating action of heteropolysaccharides isolated from camomile flowers. *Antibiotiki khimioterapia.* **37**: 15–18.
- Lee IH, Chang KY, Choi CS, Kim HR. (1999). Cecropin D-Like Antibacterial Peptides from the Sphingid Moth, *Agrius Convolvuli*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology.* **41**: 178-185.
- Legifrance C.d.l.s.p. (2007). Article L4211-1 Modifié Par Ordonnance N°2007-613 Du 26 Avril 2007 -Art. 26 10 rf 27.
- Lemhadri A, Mohamed E, Thierry S, Remy B. (2007). Anti-hyperglycaemic and Anti-obesity Effects of *Capparis spinosa* and *Chamaemelum nobile* Aqueous Extracts in HFD Mice. *American J. Pharmacol. Toxicol.* **2**: 106-110.

- Lesser MP. (2006). Oxidative Stress in Marine Environments: Biochemistry and Physiological Ecology. *Ann.Rev. Physiol.* **68**: 253-278.
- Levine BL, Mond JJ, Jun CH. (1998). Lymphocyte proliferation. In *Encyclopaedia of Immunology*. Academic Press. London. pp. 2017- 2023.
- Licastro F, Davis LJ, Morini MC. (1993). Lectins and superantigens: membrane interactions of these compounds with T lymphocytes affect immune responses. *Int J Biochem.* **25**:845-52.
- Liu HJ, Yang T, Cheng XM, Wang CH. (2014). Comparative evaluation of anti-inflammatory and analgesic activities of various medicinal parts of *capparis spinosa*: a consideration of ecological environment and resource conservation. *IJPSR.* **4**: 53-59.
- Locatelli M, Travaglia F, Coisson JD, Martelli A, Stevigny C, Arlorio M. (2010). Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI): Impact of different roasting conditions. *Food Chem.* **119**: 1647-1655.
- Luettig B, Steinmüller C, Gifford GE, Wagner H, Lohmann-Matthes ML. (1989). Macrophage activation by the polysaccharide arabinogalactan isolated from plant cell cultures of *Echinacea purpurea*. *Journal of National Cancer Institute.* **81**: 669–675.
- Marques Lc. (1999). Normatização da produção e comercialização de fitoterápicos no Brasil. In: *Farmacognosia -Da Planta Ao Medicamento*. Simoes, *et al.* Ed. Porto Alegre/Florianópolis. p. 259-289.
- Marsolais D, Cote CH, Frenette J. (2001). Neutrophils and macrophages accumulate sequentially following Achilles tendon injury. *J Orthop Res.* **19**: 1203-1209.
- Martin E, Feldmann G. (1983). *Histopathologie du foie et des voies biliaires de l'adulte et de l'enfant*. Ed. Masson. 357. p.
- Maruyama S, Hashizume S, Tanji T, Yamada K, Tachibana H. (2008). *Cistanche salsa* extract enhanced antibody production in human lymph node lymphocytes. *Pharmacologyonline.* **2**:341-348.
- McCarver BM. (2001). *Essential Psychopharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications. Primary Care Companion to The Journal of Clinical Psychiatry.* **3**: 269.
- Meddour A, Yahia M, Benkiki N, Ayachi A. (2013). Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur de *Capparis spinosa* L. *Lebanese Science Journal.* **14**: 49-60.
- Miller HE (1971). A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of American Oil Chemists' Society.* **48**: 91.
- Miller LE, Ludke HR, Peacock JE, Tomar RH. (1991). *Manual of Laboratory Immunology*. Lea and Febeiger. London. pp. 1-18.

- Mino J, Acvedo C, Moscatelli V, Ferraro G, Hnatyszyn O. (2002). Antinociceptive effect of the aqueous extract of *Balbisia calycina*. *J. Ethnopharmacol.* **79**: 179-182.
- Mizushima Y, Kobayashi M. (1968). Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with same biologically active proteins. *J. Pharm. Pharmacol.* **20**: 169 -173.
- Moldoveanu AI, Shephard RJ, Shek PN. (2001). The cytokine response to physical activity and training. *Sports Med* **31**: 115-144.
- Mosmann T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays. *J Immunol Methods.* **65**: 55-63.
- Mosmann TR. and Coffman, RL. (1989). Th1 and Th2 cells: Different patterns of lymphokines secretion lead to different functional properties. *Annual Review of Immunology* **7**: 145-73.
- Mustafa FAA. (2012). *In vitro* evaluation of *Capparis spinosa* against *Lumbricus terrestris* (Annelida). *Pontif Univ Javeriana.* **5**: 199-202.
- Nagarathna PKM, Reena K, Reddy S, Wesley J. (2013). Review on Immunomodulation and Immunomodulatory Activity of Some Herbal Plants. *Int, J Pharm Sci Rev Res.* **22**: 223-230.
- Naidu MM, Shyamala BN, Naik PJ, Sulochanamma G, Srinivas P. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds. *LWT-Food Sci Technol.* **44**: 451–456.
- Naik SR, Panda VS. (2007). Antioxidant and hepatoprotective effects of *Ginkgo biloba* phytosomes in carbon tetrachloride-induced liver injury in rodents. *Liver Int* **27**: 393-399.
- Nakov R, Pfarr E, Eberle S, Heat I. (2002). Darusentan: an effective endothelin A receptor antagonist for treatment of hypertension. *Am. J. Hypertens.* **15**: 583–589.
- Narui T, Takahashi K, Kobayashi M, Shfbata S. (1980). A polysacchande produced by laboratory cultivation of *Poria cocos* Wolf. *Carbohydrate Research.* **87**: 161-163.
- Nathan C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature.* **420**: 846-852.
- Neha J, Mishra RN. (2011). Immunomodulatory activity of *Trikatu mega* ext. *Int J Res Pharm Biomed Sci.* **2**: 160-164.
- Nwinuka NM, Monanu MO, Nwiloh, BI. (2008). Effects of aqueous extract of *Mangifera indica* L. (mango) stem bark on haematological parameters of normal albino rats. *Pakistan Journal of Nutrition.* **7**: 663-666.
- Offenstadt G, Boles HM, Gardinaud JP, Gibert C, Jaeger A. (2001). Reanimation medical. Masson. 720 p.
- Okawa Y, Okura Y, Hashimoto K, Matoumoto T, Suzuki S, Suzuki M. (1982). Protective effect of D-mannan of bakers' yeast against *Staphylococcus aureus* infection in mice. *Carbohydrate Research.* **108**: 326-334.



- Okokon JE, Iyadi KC, Effiong CO. (2004). Effect of sub chronic administration of ethanolic leaf extract of *Croton zambesicus* on haematological parameters of rats. Nigerian. *Journal of Physiological sciences*. **19**: 10-13.
- Owen JA, Punt J, Stranford SA. (2013). Kuby immunology. Freeman WH. New York. 507 p.
- Ozenda P. (1 991). Flore et végétation du Sahara. 3<sup>th</sup> Ed. CNRS. Paris. 626 p.
- Ozer J, Ratner M, Shaw M, Bailey W, Schomaker S. (2008). The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*. **245**: 194-205.
- Panico AM, Cardile V, Garufi F, Puglia C, Bonina F, Ronsisvalle G. (2005). Protective effect of *Capparis spinosa* on chondrocytes. *Life Sci*. **77**: 2479–2482.
- Patwardhan B, Gautam M. (2005). Botanical immunodrugs: Scope and opportunities. *Drug Discovery Today*. **10**: 495–502.
- Pereira RLC, Ibrahim T, Luchetti L, Da Silva AJR, De Moraes VL. (1999). Immunosuppressive and anti-inflammatory effects of methanolic extract and the polyacetylene isolated from *Bidens pilosa*. *Immunopharmacology*. **43**: 31-37.
- Pérez JAM, Aguilar TAF. (2013). Chemistry of Natural Antioxidants and Studies Performed with Different Plants Collected in Mexico. Oxidative stress and chronic degenerative diseases-a role for antioxidants. 59 p.
- Phillipson JD. (2001). Phytochemistry and medicinal plants. *Phytochemistry*. **56**: 237-243.
- Portenoy RK. (2000). Current pharmacotherapy of chronic pain. *Journal of pain and symptom management*. **19**: 16-20.
- Potjo M, Cockeran R, Theron AJ, Feldman C, Anderson R. (2010). Effects of moxifloxacin on human neutrophil and T-lymphocyte functions *in vitro*. *Pharmaceuticals*. **3**: 3570-3580.
- Quezel P, Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales. Tome 1. Centre national de la recherche. Paris. 570 p.
- Rached W, Benamar H, Bennaceur M, Marouf A. (2010). Screening of the antioxidant potential of some Algerian indigenous plants. *Journal of Biological Sciences*. **10**: 316 - 324.
- Rahnavard R, Razavi N. (2016). A review on the medical effects of *Capparis spinosa* L. *Advanced Herbal Medicine*. **2**: 44-53.
- Rai M K. (1994). Herbal medicines in India; retrospect and prospect. *Fitoterapia*. **65**: 483-491.
- Rajendran Vadivu, Lakshmi K S. (2008). *In vitro* and *in vivo* anti-inflammatory activity of leaves of *Symplocos cochinchinensis* (Lour) Moore *ssp* *Laurina*. *Bangladesh J Pharmacol*. **3**: 121-124.

- Ranawat L, Bhatt J, Patel J. (2010). Hepatoprotective activity of ethanolic extracts of bark of *Zanthoxylum armatum* DC in CCl<sub>4</sub> induced hepatic damage in rats. *J Ethnopharmacol.* **127**: 777-780.
- Rang H.P, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. (2012). Pharmacology. 7<sup>th</sup> Ed. Edinburgh. Churchill Livingstone. pp. 503-511.
- Rao RR, Nair TB. (1970). Investigations on induction of neutrophilic granulocytosis and toxicity of Cleistanthin-CIBA Go.4350—a new glycoside from *Cleistanthus collinus* (Roxb). *Pharmacology.* **4**: 347-358.
- Revillard JP .(2001). Immunologie. 4<sup>ème</sup> ed. Bruxelles, De Boeck Université, 595 p.
- Roitt I, Brostoff J, Male D. (1998). Immunology. Mosby. London. 90 p.
- Romeo V, Ziino M, Giuffrida D. (2007). Flavour profile of capers (*Capparis spinosa* L.) from the Eolian Archipelago by HS-SPME/GC-MS. *Food Chem.* **101**: 1272–1278.
- Rossiter D. (2012). South African medicines formulary (SAMF). 10<sup>th</sup> Ed. Health and Medical Publishing Group. Cape Town. pp. 389-395.
- Rousselet MC, Vignaud JM, Hofman P, Chatelet FP. (2005). Polycopié de pathologie générale des études médicales : Inflammation et Pathologie Inflammatoire. AFECAP. pp. 1-75.
- Rubinstein D. (1962). Epinephrine release and liver glycogen levels after carbon tetrachloride administration. *American Journal of Physiology.* **203**: 1033-1037.
- Ruprah M, Mant TG, Flanagan RJ. (1985). Acute carbon tetrachloride poisoning in 19 patients: Implications for diagnosis and treatment. *Lancet.* **1**:1027-1029.
- Russe MF, Peltier AP, Polla BS. (1998). L'inflammation t, John Libbey Euro text. Paris. pp.120-180.
- Russo-Marie F, Peltier A, Polla B. (1998). L'inflammation. Editions John Libbey Euro text. 482p.
- Saadaoui E, Khaldi A, Khouja ML, El-Gazzah M. (2007). Etude de la variabilité morphologique du câprier (*Capparis spp.*) en Tunisie. *Revue des régions arides.* **2**: 523-7.
- Sagrawat H, Khan Y. (2007). Immunomodulatory Plants: A Phytopharmacological Review. *Pharmacognosy Reviews* **1**: 248-260.
- Saleem TSM, Chetty CM, Ramkanth S, Rajan VST, Kumar KM, Gauthaman K. (2010). Hepatoprotective herbs- a review. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences.* **1**: 1-5.
- Saraphanchotiwitthaya A, Sripalakit P, Ingkaninan K. (2008). Effects of *Terminalia bellerica* Roxb. Methanolic extract on mouse immune response *In vitro*. *Mj.International Journal of Science and Technology* **2**: 400-407.

- Sarker N, Tsudzuki M, Nishibori M, Yasue H, Yamamoto Y. (2000). Cell-mediated and humoral immunity and phagocytic ability in chicken lines divergently selected for serum immunoglobulin M and G levels. *Poult. Sci.* **79**:1705-1709.
- Satyanarayana T, Anjana AM, Vijetha P. (2008). Plant Review Phytochemical and Pharmacological Review of Some Indian *Capparis* Species. *Pharmacognosy Reviews [Phcog Rev.]*. **2**: 36-45.
- Scaglione F, Cattaneo G, Alessandria M, Cogo R. (1996). Efficacy and safety of the standardised *Ginseng* extract G115 for potentiating vaccination against the *influenza* syndrome and protection against the common cold. *Drugs Exp. Clin. Res.* **22**: 65-72.
- Schuppan D, Jai J D, Brinkhaus B, Hahn E G. (1999). Herbal products for liver diseases: a therapeutic challenge for the new millennium. *Hepatology*. **30**: 1099-1104.
- Shafaei H, Soleimani RJ, Madhavi R, Ostad RA, Rezazadeh H, Argani H, Rashidi MR, Nazemiyeh H, Delazar AP. (2007). The potentiating effects of *Citrullus colocynthis* extract on immune system. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences*. **29**: 14-17
- Shah AS, Wakade AS, Juvekar AR. (2008). Immunomodulatory activity of methanolic extract of *Murraya koenigii* (L) Spreng. Leaves. *Indian J Exp Biol.* **46**:505-9.
- Shah V, Bayeta E, Lau BHS. (2002). Pycnogenol Augments macrophage Phagocytosis and cytokine secretion. *Pakistan Journal of Nutrition*. **1**: 196-201.
- Shahina AG. (1994). *Capparaceae*. In: Boca Raton Edition. CRC Press. 73 p.
- Shanmugasundaram P, Venkataraman S. (2006). Hepatoprotective and antioxidant activity of *Hygrophila auriculata* (K. Schum) *Heine Acanthaceae* root extract. *J. Ethnopharmacol.* **104**: 124-128.
- Sharma B, Sharma UK. (2010). Hepatoprotective activity of some indigenous plants. *International journal of pharmtech research*. **2**: 568-572.
- Shenoy S, Shwetha K, Prabhu K, Maradi R, Bairy KL, Shanbhag T. (2010). Evaluation of antiinflammatory activity of *Tephrosia purpurea* in rats. *Asian Pac J Trop Med.* **3**: 193-5.
- Shimizu T. (2009). Lipid mediators in health and disease: enzymes and receptors as therapeutic targets for the regulation of immunity and inflammation. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. **49**: 123-150.
- Shinde UA, Phadke AS, Nari AM, Mungantiwar AA, Dikshit VJ, Saraf MN. (1999). Membrane stabilization activity- a possible mechanism of action for the antiinflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. *Fitoterapia*. **70**: 251-257.
- Siegmund E, Cadmus R, Lu G. (1957). A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. *Pro. Soc. Exp Biol. Med.* **95**: 729-31.

- Singh B, Saxena AK, Chandan BK, Anand KK. (1998). Hepatoprotective activity of verbenalin on experimental liver damage in rodents. *Fitoterapia*. **69**: 135-140.
- Song X, Hu S. (2009). Adjuvant activities of saponins from traditional Chinese medicinal herbs. *Vaccine*. **27**: 4883–4890.
- Stimpel M, Proksch A, Wagner H, Lohmann-Matthes ML. (1984). Macrophage activation and induction of macrophage cytotoxicity by purified polysaccharide fractions from the plant *Echinacea purpurea*. *Infection Immunology*. **46**: 845–849.
- Su F, Yuan L, Zhang L et Hu S (2012). Ginsenosides Rg1 and Re act as adjuvant via TLR4 signaling pathway. *Vaccine*. **30**: 4106-4112.
- Sudha P, Asdaq SM, Dhamingi SS, Chandrakala GK. (2010). Immunomodulator activity of methanolic leaf extract of *Moringa oleifera* in animals. *Indian J Physiol Pharmacol*. **54**: 133-140.
- Suigiura H, Suigiura H, Nishida H, Inaba R, Mirbod SM, Iwata H. (2001). Effect of different duration of exercise on macrophages functions in mice. *Journal of Applied Physiology*. **90**: 789-794.
- Sun J, Hu S, Song X. (2007). Adjuvant effects of protopanaxadiol and protopanaxatriol saponins from *ginseng* roots on the immune responses to ovalbumin in mice. *Vaccine*. **25**: 1114-1120.
- Surveswaran S, Yi-Zhong C, Corke H, Sun M. (2007). Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*. **102**: 938-953.
- Tanner AR, Arthur MJP, Wright R. (1984). Macrophage activation, chronic inflammation and gastrointestinal disease. *Gut*. **25**: 760-783.
- Tesoriere L, Butera D, Gentile C, Livera MA. (2007). Bioactive components of caper (*Capparis spinosa* L.) from Sicily and antioxidant effects in a red meat simulated gastric digestion. *J Agr Food Chem*. **55**: 8465–71.
- Therrien R. (2009). [www.guidetherapeutiqyevih.com](http://www.guidetherapeutiqyevih.com)
- Thomson AW, Comeron ID. (1981). Immune suppression with cyclosporin A optimism and caution. *Scott Med J*. **26**: 139-144.
- Timbrel J. (2009). Principles of Biochemical Toxicology. 4<sup>th</sup> Ed. Taylor and Francis Ltd. London. 220 p.
- Timbrell J. (2001). Introduction to Toxicology. 3<sup>rd</sup> ed. Taylor and Francis. New York. pp. 57-71.
- Tlili N, Elfalleh W, Saadaoui E, Khaldi A, Triki S, Nasri N. (2011). The caper (*Capparis* L.): Ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. *Fitoterapia*. **82**: 93-101.

- Tlili N, Elguizani T, Nasri N, Khaldi A, Triki S. (2011). Protein, lipid, aliphatic and triterpenic alcohols content of caper seeds "*Capparis spinosa*". *J Am Oil Chem Soc.* **88**: 265-270.
- Tlili N, Munné-Bosch S, Nasri N, Saadaoui E, Khaldi A, Triki S. (2009). Fatty acids, tocopherols and carotenoids from seeds of Tunisian caper "*Capparis spinosa*". *J Food Lipids.* **16**: 452-64.
- Trombetta D, Occhiuto F, Perrib D, Puglia C, Santagati NA, De Pasquale A, Saija A, Bonina F. (2005). Antiallergic and antihistaminic effect of two extracts of *Capparis spinosa* flowering buds. *Phytother Res.* **19**: 29–33.
- Tsai SY, Tsai HL, Mau FL. (2007). Antioxidant properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea*, and *Boletus edulis*. *LWT Food Science and Technology.* **40**: 1392-1402.
- Van Der Zijpp AJ, Leenstra FR. (1980). Genetic analysis of the humoral immune response of White Leghorn chicks. *Poult. Sci.* **59**: 1363-1369.
- Vinegar R, Shereiber W, Hugo R. (1969). Biphasic development of carragenin-induced oedema in rat. *J Pharmacol Exp Ther.* **166**: 96-103.
- Voet D, Voet JG. (2005). Biochimie, DeBoeck. Bruxelles. 959 p
- Volman JJ, Ramakers JD, Plat J. (2008). Dietary modulation of immune function by  $\beta$ -glucans. *Physiology and Behavior.* **94**: 276–284.
- Vonkeman HE, Van de Laar MA. (2010). Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: Adverse Effects and Their Prevention. *Semin. Arthritis Rheum.* **39**: 294-312.
- Wagner H, Kraus S, Ksenija J. (1999). Search for immunostimulating agents from plants and other natural sources. Michael J. Parnham: Switzerland. pp. 1-32
- Wagner H, Kreutzkamp B, Jurcic K. (1985a). The Alkaloids of *Uncaria tomentosa* and their Phagocytosis-Stimulating Action. *Plants Medics.* **6**: 419-423.
- Wagner H, Proksch A, Vollmar A, Kreutzkamp B. and Bauer J. (1985b). *In vitro* phagocytosis stimulation by isolated plant materials in a chemoluminescence-phagocytosis model. *Planta Medica.* **1**: 39-44.
- Webster RA, Jordan C. (1989). Neurotransmitters, drugs and disease. 1<sup>st</sup> Ed. Blackwell Scientific Publications. Lodon. pp. 301-344.
- Winston GW, Di Giulio RT. (1991). Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquat. Toxicol.* **19**: 137–161.
- Winter CA, Risley EA. and Nuss GW. (1962). Carrageenan-induced edema in hind paws of the rats as an assay of anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc Exp Biol Med.* **3**: 544-547.
- Wood P. (2006). Understanding Immunology. Benjamin Cummings. 2<sup>nd</sup> Ed. England. 294 p.

- World Health Organization. (2002). Traditional and Alternative Medicine, Fact Sheet N° 271. World Health Organization, Geneva.
- Xu SY, Bian RL, Chen X. (1982). Experimental Methods of Pharmacology. People's Medical Publishing House. Beijing. pp. 934–938.
- Yadav VS, Mishra KP, Singh DP, Mehrotra S, Singh VK. (2005). Immunomodulatory effects of curcumin. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. **27**: 485-49.
- Yakubu MT, Akanji MA, Olandiji, AT. (2007). Haematological evaluation in male albino rats following chronic administration of aqueous extract of *Fadogia agrestis* stem. *Pharmacognosy magazine*. **3**: 34-38.
- Yam MF, Ang LF, Ameer OZ, *et al.* (2009). Anti-inflammatory and analgesic effects of *Elephantopus tomentosus* ethanolic extract. *J Acupunct Meridian Stud*. **2**: 280–287
- Yang R Z, Park S, Reagan W J, Goldstein R, Zhong S, Lawton M, Gong D W. (2009). Alanine aminotransferase isoenzymes: molecular cloning and quantitative analysis of tissue expression in rats and serum elevation in liver toxicity. *Hepatology*. **49**: 598-607.
- Yang T, Liu YQ, Wang CH, Wang ZT. (2008). Advances on investigation of chemical constituents, pharmacological activities and clinical applications of *Capparis spinosa*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. **33**: 2453-2458.
- Yang T, Wang C, Liu H, Chou G, Cheng X, *et al.* (2010) A new antioxidant compound from *Capparis spinosa*. *Pharm Biol* **48**: 589–594.
- Zhang RX, Fan AY, Zhou, AN, Moudgil KD, Ma ZZ, Lee DYW, Fong HHS, Berman BM, Lao L. (2009). Extract of the Chinese herbal formula Huo Luo Xiao Ling Dan inhibited adjuvant arthritis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. **121**: 366–371.
- Zhou GY, Jiang XC. (2006). Textbook of Pathology: Morphologic and Functional Changes. Science Press. Beijing. pp. 76–83
- Zhou H, Jian R, Kang J, Huang X, Li Y, *et al.* (2010). Anti-inflammatory effects of Caper (*Capparis spinosa* L.) fruits aqueous extract and the isolation of main phytochemicals. *J. Agric. Food Chem*. **58**: 12717-12721.
- Zhou HF, Xie C, Jian C, Kang J, Li Y, Zhuang CL, Yang F, Zhang LL, Lai L, Wu T, Wu X. (2011). Biflavonoids from caper (*Capparis spinosa* L.) fruits and their effects in inhibiting NF-kappa B activation. *J. Agric. Food Chem*. **59**: 3060-3065.

**Annexe**