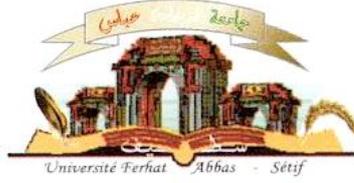


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

N°...../SNV/2014

THÈSE

Présentée par

BENZIDANE Nadia

Pour l'obtention du diplôme de

Doctorat en Sciences

Option: Biochimie

THÈME

**Effets antioxydant, vasoactif, bronchorelaxant et
cytotoxique des extraits de *Capparis spinosa***

Soutenue publiquement le 15/06/2014

DEVANT LE JURY

Président	Pr. KHENNOUF Seddik	Prof.	UFA Sétif 1
Directeur	Pr. ARRAR Lekhmici	Prof.	UFA Sétif 1
Examineurs	Pr. ZELLAGUI Amar	Prof.	Université Oum El Bouaghi
	Dr. KHETTAL Bachra	MCA	Université de Béjaia

Laboratoire de Biochimie Appliquée

Ma dédicace aux plus proches.

Peut-on, Ô regrets amers que la mort impitoyablement génère, oublier ceux qui nous ont donné la vie et l'envie de réussir.

Nul ne m'en voudra, j'en suis convaincue, de favoriser, de privilégier, de lever par ma voix sur le pavois, MA regrettée MÈRE, ce festin de bonté, d'affection, d'attentions, que le destin m'a arraché sans me punir. Elle a su, MA MÈRE, **ZOHRA LA FLEUR**, me nantir de toutes les armes dont j'ai eu besoin pour cheminer de mes premiers balbutiements à mon premier cours universitaire.

MAMAN, je te dois tout, tout, tout et ce tout est à la dimension de ta stature de femme qui a su dans les plus durs moments, se ceindre de ses larmes pour continuer le combat le sourire aux lèvres.

Aujourd'hui, MAMAN, je t'aime plus fort que jamais et sur ton conseil, je reste plus forte que jamais.

Mon époux, ce compagnon compréhensif et permissif qui a su sacrifier son égo masculin et se faire moins servir pour se mettre au service de la science et de l'intelligence dont il est un actif agent au quotidien. Je lui suis redevable de tout ce temps passé à lire, à noter, à réfléchir, à vaquer en laboratoire anxieuse de savoir et d'en savoir un peu plus chaque jour. Je le remercie d'avoir supporté sans rechigner le moins du monde, mes longues absences, mes longs silences et peut-être même mes humeurs quand le moral n'était pas au meilleur de sa forme.

Mes enfants **Djallal Eddine, Fatima-Zohra, Youcef Bachir et Mohamed El Amine**, à ma sœur **Chahrazed**, sa fifi **Sérine**, mes frères et sœurs, mon père, mes tantes, mes cousines, mon beau frère et mes belles sœurs, qui ont su me faire confiance, me soutenir en toutes circonstances au cours de mes études. Avec toute mon affection, je n'arriverai jamais à vous rendre tout ce que vous avez fait pour moi.

A toute ma famille et tous mes amis.

Les travaux de cette thèse ont été réalisés dans le Laboratoire de Biochimie Appliquée, Université Sétif 1, ainsi qu'au niveau du Laboratoire INSERM (Institut national de la santé et de la recherche médicale) U698 CHU Xavier Bichat, Paris, France

*«La recherche procède par des moments distincts et durables, intuition, Aveuglement, exaltation et fièvre. Elle aboutit un jour à cette joie, et connaît Cette joie celui qui a vécu des moments singuliers»
Albert Einstein, Comment je vois le monde.*

Une thèse est la somme d'un travail collectif

Où l'apport de chacun,

Bien que d'importance inégale

Est toujours indispensable et précieux.

Remerciements

Je remercie **ALLAH** le tout puissant de m'avoir donné la force et la patience de mener ce travail à terme.

Je remercie le **Professeur Seddik KHENNOUF**, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse et pour y avoir apporté toutes ses compétences.

Je tiens à remercier le **Professeur Lekhmici ARRAR** qui a dirigé cette thèse; sans son accompagnement érudit rien n'aurait été possible. Tout au long de ces années que j'ai passé dans son laboratoire, il a su m'orienter de ses précieux conseils, m'alerter de son sens critique, me maintenir sur le cap grâce à sa très grande rigueur scientifique. Son sens de la pédagogie m'a permis de mener mes recherches et a grandement contribué à ma formation scientifique. En d'autres termes, il m'a fait découvrir le monde de la recherche. Qu'il trouve ici toute ma reconnaissance pour la patience dont il a fait preuve durant ce travail, sa disponibilité sans limite autant dans la réalisation des travaux scientifiques que dans la rédaction du manuscrit.

Mes remerciements vont également à Madame **Docteur Bachra KHETTAL** de l'Université Abderrahmane Mira de Béjaia d'avoir accepté de juger ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je remercie vivement le **Professeur Amar ZELLAGUI** de l'Université Larbi Ben M'hidi de Oum El Bouaghi d'avoir apporté son concours à l'examen de ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur le **Professeur Xavier NOREL**, qui m'a accueillie au sein de son laboratoire à l'hôpital Bichat de Paris. Son sens critique, son esprit de synthèse et sa très grande rigueur ont grandement contribué à améliorer la qualité de ce travail. J'ai ainsi pu apprendre plusieurs techniques et effectuer librement de nombreuses expériences.

Je remercie Monsieur le **Professeur Jean Michel MAIXENT**, de l'Université de Poitiers pour sa précieuse collaboration, pour ses commentaires constructifs. Je tiens à vous exprimer,

Monsieur, mon admiration pour votre enthousiasme et votre dynamisme sans faille. Soyez assurée de mon plus profond respect et de ma profonde gratitude.

Je remercie très sincèrement Monsieur **le Professeur *Abderahmane SENATOR*** et madame **le Professeur *Hamama BOURICHE***, pour leurs soutiens et leurs encouragements.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur **le Professeur *Joël GRILLASCA***, de l'Université de Toulon, directeur du laboratoire de biologie moléculaire, pour m'avoir accueillie avec bienveillance au sein de son équipe.

Mes remerciements concernent aussi l'ensemble des chercheurs, doctorants du laboratoire pour l'atmosphère amicale qu'ils ont su faire régner, et surtout pour leur soutien indéfectible de tout ce que j'ai partagé avec eux: un café, un repas et des bons moments pendant ces dernières années et en particulier Naouel, Imène, Sana, Meriem et Fatima.

Je remercie mon mari, à qui je dois tout, **Professeur *Nacir DJENANE*** de la Faculté des Sciences Informatiques pour son soutien inconditionnel! Merci et pardon pour m'avoir supportée et plus particulièrement pendant ma thèse !

Je finirai par remercier vivement le **Professeur *Abderrahmane BAGHIANI*** de son aide, ses conseils et ses encouragements permanents durant la période que j'ai passé dans le Laboratoire de Biochimie Appliquée.

RESUME

Capparis spinosa (Capparidaceae), dicotylédones de la classe des spermaphytes, est une plante durable et boisée, largement utilisée dans la médecine traditionnelle dans les pays méditerranéens, dont l'Algérie. Le but de la présente recherche est d'évaluer les effets antioxydants, vasoactifs et bronchorelaxants, *in vitro* des extraits aqueux et méthanoliques des différentes parties de *Capparis spinosa*. Les résultats montrent que les extraits méthanoliques renferment des taux de polyphénols totaux et de flavonoïdes plus élevés que les extraits aqueux. Les feuilles et les fleurs sont riches en polyphénols et/ou flavonoïdes tandis que les racines en sont relativement pauvres. En outre, tous les extraits ont des effets antioxydants anti-péroxydation lipidique avec des niveaux plus élevés dans les fleurs et les feuilles (I % = $82,78 \pm 2,64\%$ et $80,94 \pm 1,57\%$, respectivement). Les graines ont un effet important (I % = $64,02\%$), suivie par les fruits puis les racines (I % = $40,62\%$ et $21,24\%$, respectivement). Ces résultats révèlent les propriétés antioxydantes de toutes les parties de *Capparis spinosa* et montrent des données comparatives des extraits de différentes parties qui peuvent être utilisés dans les maladies où l'inhibition du stress oxydatif. L'étude des effets sur la trachée et l'aorte de rat a été réalisée en vue de leur conférer le caractère d'une véritable source pour l'isolement de composés bioactifs avec une utilisation potentielle en tant qu'agents anti-obstruction, vasorelaxant et/ou agents antiallergiques. L'addition des extraits de *Capparis spinosa* sur la trachée de rat (0.1, 1 et 10 mg/ml) au cours de l'étape de contraction par l'acétylcholine a montré des effets différents. L'incubation de la trachée pour 30 mn avec des extraits prouve qu'ils sont bien efficaces. La dose de 10 mg/ml a montré un important effet relaxant pour des fruits et des graines, et un effet contracteur pour les feuilles. Les résultats ont montré un effet relaxant puissant de l'extrait aqueux du fruit de *Capparis spinosa*, sur la trachée de rat, de manière dose-dépendante. Cependant, l'extrait aqueux des feuilles a un effet contractant. Le blocage/stimulation des récepteurs muscariniques a été suggéré pour les extraits des fruits et feuilles, respectivement.

Mots clés : *Capparis spinosa*, extraits aqueux et méthanoliques, antioxydants, bronchorelaxants, vasoactifs

ABSTRACT

Capparis spinosa (Capparidaceae) dicotyledons from the class of spermatophytes, is a shrub, enduring and woody plant, typically Mediterranean, largely used in folk medicine in the Mediterranean countries including Algeria. The aim of the present research is to assess the in vitro effects of aqueous and methanolic extracts of different parts of *Capparis spinosa* as antioxidants, vasoactives and bronchorelaxants. The methanolic extracts contained higher total polyphenols and flavonoids than the aqueous extracts. The leaves and flowers were rich in polyphenols and/or flavonoids whilst the roots were relatively poor. Furthermore, all extracts had anti-lipid peroxidation and antioxidant effects with higher levels in the flowers and the leaves (I% = $82.78 \pm 2.64\%$ and $80.94 \pm 1.57\%$, respectively). Seeds have an important effect (I% = 64.02%) followed by fruits then roots (I% = 40.62% and 21.24%, respectively). These results demonstrated the antioxidant and anti-lipid peroxidation of all parts of *Capparis spinosa* and give a comparative data on the extracts of different parts that can be used in the diseases where inhibition of oxidative stress is required. The study of the effects on rat trachea and aorta was carried out in order to establish them as a real source for the isolation of bioactive compounds with potential use as anti-obstructive, vasorelaxant and/or anti-allergic agents. The addition of *Capparis spinosa* extracts on rat trachea (0.1, 1 and 10 mg/ml) during the step of contraction by acetylcholine showed various effects. Incubation of the windpipe for 30 mn with extracts proves them to be so efficient. The dose of 10 mg/ml showed a significant relaxant effect for fruits and seeds, and constrictor effect for the leaves. The results showed a potent relaxant effect of the fruit aqueous extract of *Capparis spinosa*, on rat trachea, with a dose dependant manner. However, the leaf aqueous extract has a contractive effect. A muscarinic receptor blockade/stimulation was suggested for caper/leaf extracts.

Keywords: *Capparis spinosa*, aqueous and methanolic extracts, antioxidant, bronchorelaxant, vasoactive.

الملخص

نبات *Capparis spinosa* من عائلة Capparidaceae ذوات الفلقتين من فئة spermaphytes، هو عشبة دائمة الخضرة، تستخدم بشكل كبير في الطب الشعبي في بلدان البحر الأبيض المتوسط بما في ذلك الجزائر. الهدف من هذا البحث هو تقييم التأثيرات المضادة للاكسدة، والنشاط على الأوعية الدموية (vasoactives) وكذا على استرخاء القصبيات الهوائية (bronchorelaxation) للمستخلص المائي والمثانولي لأجزاء مختلفة من النبتة. بينت النتائج أن المستخلصات المثانولية تحتوي على كميات من متعددات الفينول والفلافونويدات أعلى من المستخلصات المائية. كانت أوراق النبتة والزهور غنية بالبوليفينول و/أو الفلافونويدات بينما كانت الجذور فقيرة نسبياً. كما تبين أن جميع المستخلصات تملك تأثيرات مضادة للاكسدة بمستويات أعلى في الزهور و الأوراق ($I = 82.78 \pm 2.64$ و $1.57\% \pm 80.94$ على التوالي). كان تأثير البذور هاما تلتها الفواكه ثم الجذور. وأظهرت هذه النتائج أن مستخلصات كل أجزاء نبات *Capparis spinosa* تملك نشاطا مضادا للاكسدة و مضادا لتأكسد الدهون وبينت معطيات مقارنة عن مختلف أجزاء النبتة والتي يمكن استخدامها في الأمراض التي تتطلب تثبيط الاكسدة. وقد أجريت دراسة الآثار المترتبة على القصبه الهوائية والشريان للفئران من أجل اختبار إمكانية اعتبارها مصدرا حقيقيا لعزل المركبات النشطة بيولوجيا مع إمكانية استخدامها كمضاد لانسداد القصبيات الهوائية ومساعد على استرخاء الأوعية الدموية و/أو كأدوية مضادة للحساسية. أدت إضافة مستخلصات *Capparis spinosa* على القصبه الهوائية (0.1، 1 و 10 ملغ / مل) أثناء الخطوة القسوى من التقلص بواسطة الأستيل كولين إلى آثار مختلفة. حيث بين حضن القصبه الهوائية لمدة 30 د مع المستخلصات أنها كانت فعالة جدا. أظهرت الجرعة 10 ملغ / مل للفواكه و البذور ارتخاء بينما كان تأثير الأوراق مقلصا. أظهرت النتائج وجود تأثير مرخي قوي للمستخلص المائي للفاكهة على القصبه الهوائية الفئران بشكل مرتبط بالجرعة. وعلى العكس من ذلك، فإن مستخلص الأوراق كان له تأثير مقلص. ويمكن اقتراح فكرة أن تأثير مستخلصات *Capparis spinosa* يكون بتثبيط/تحفيز المستقبلات الموسكارينية.

الكلمات المفتاحية: *Capparis spinosa*، المتخلصات المائية والميثانولية، مضادات الأكسدة، استرخاء القصبيات الهوائية، التأثير على الأوعية الدموية.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
<hr/>	
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
<hr/>	
1. Le stress oxydant.....	3
1.1. Radicaux libres et espèces oxygénées réactives.....	4
1.2. Implications des oxydations dans le fonctionnement de l'organisme.....	6
1.3. Principales RONS de l'organisme.....	6
1.3.1. Le radical superoxyde.....	9
1.3.2. Le peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂).....	9
1.3.3. Le radical hydroxyle	10
1.3.4. Le Monoxyde d'azote ou oxyde nitrique.....	10
1.4. Oxydation des biomolécules.....	11
1.4.1. La peroxydation lipidique.....	12
1.4.2. L'oxydation du cholestérol.....	13
1.4.3. L'oxydation des sucres.....	13
1.4.4. L'oxydation des protéines.....	14
1.4.5. Oxydation des acides nucléiques.....	14
1.5. Les antioxydants.....	15
1.5.1. Les Antioxydants endogènes.....	16
1.5.1.1. Les antioxydants endogènes enzymatiques.....	16
1.5.1.2. Les antioxydants endogènes non enzymatiques.....	17
1.5.2. Antioxydants exogènes ou nutritionnels.....	18
1.5.2.1. Les vitamines.....	18
1.5.2.2. Les flavonoïdes.....	20
1.5.2.3. Les xanthones.....	21
1.5.2.4. Les dérivés des acides phénoliques et des composés phénoliques.....	21
1.5.2.5. Les tanins.....	21
1.5.3. Autres antioxydants.....	22
2. Maladies nécessitant un effet bronchorelaxant.....	23
2.1. L'asthme.....	23
2.2. Broncho-Pneumopathie -Chronique Obstructive.....	27
2.3. Emphysème.....	29
3. Maladies nécessitant un effet vasorelaxant.....	30

3.1. Vaisseaux sanguins.....	30
3.1.1. Structure de la paroi vasculaire.....	31
3.1.2. Mécanismes de contraction des cellules musculaires lisses.....	32
3.2. Inflammation de la paroi vasculaire.....	34
3.2.1. Réaction inflammatoire.....	34
3.2.2. Pathologies liées à la paroi vasculaire.....	35
3.3. Les plantes à effet vasodilatateur.....	38
3.4. Les plantes à effet bronchodilatateur.....	42
4. La plante médicinale: <i>Capparis spinosa</i>	43
4.1. Historique	44
4.2. Situation géographique du caprier en Algérie.....	44
4.3. Utilisations en médecine traditionnelle.....	46
4.4. Effets biologiques de <i>Capparis spinosa</i>	47
4.5. Etude phytochimique.....	49

MATERIELS ET METHODES

1. Matériels biologiques.....	52
1.1. Réactifs.....	52
1.2. Plante.....	52
1.3. Rats.....	54
2. Méthodes.....	54
2.1. Extraction méthanolique.....	54
2.2. Extraction aqueuse.....	56
2.3. Dosage des polyphénols.....	56
2.4. Dosage des flavonoïdes.....	57
2.5. Activité antioxydante in vitro.....	58
2.5.1. Evaluation de l'effet scavenger du radical DPPH.....	58
2.5.2. Test de β -carotène / acide linoléique.....	60
2.5.3. Effet chélateur par la technique à la Férozine.....	60
2.6. Effets vasomoteurs et bronchoactifs.....	61
2.7. Isolement des hépatocytes	64
2.8. Test de viabilité au bleu de Trypan.....	65
2.9. Evaluation de la cytotoxicité des extraits de <i>Capparis spinosa</i>	66
2.10. Analyse statistique.....	67

RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Contenus en polyphénols et flavonoïdes.....	68
--	----

1.1. Extraits aqueux.....	68
1.2. Extraits méthanoliques.....	69
2. Effets antioxydants.....	71
2.1. Effets scavenger des extraits de <i>Capparis spinosa</i>	71
2.1.1. Extrait aqueux.....	71
2.1.2. Extrait méthanolique.....	72
2.2. Effets anti-peroxydation lipidique.....	75
2.2.1. Extrait aqueux.....	75
2.2.2. Extrait méthanolique.....	77
2.3. Activité chélatrice des ions ferreux.....	80
2.3.1. Extrait aqueux.....	80
2.3.2. Extrait méthanolique.....	84
3. Effets bronchorelaxants.....	87
3.1. Effets des extraits aqueux sur la courbe dose-réponse.....	88
4. Effets vasomoteurs.....	93
4.1. Effet de <i>Capparis spinosa</i> sur la dose-réponse induite par la phényléphrine sur l'anneau aortique	94
5. Evaluation de la cytotoxicité des extraits de <i>Capparis spinosa</i>	98
DISCUSSION GENERALE	101
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	105
1. Conclusion.....	105
2. Perspectives.....	106
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	107

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AA: Activité Antioxydante	ERS: European Respiratory Society
ABC: Asthme Bronchique Chronique	ETS: Système de Transport d'Electron
ACh: Acétylcholine	FcεRII: Fragment Fc des IgE Faible Affinité II, pour les récepteurs CD23
AGI: Acide Gras Insaturé	GM-CSF: Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor
AGPI: Acide Gras Polyinsaturé	GMPc: Guanosine-3' 5'-Monophosphate Cyclique
AMPc: Adénosine-3' 5'-Monophosphate Cyclique	Gpx: Glutathion Peroxydase
ANOVA: Analyse de la variance	GR: Glutathion Réductase
ATS: Thoracic American Thoracic Society	GSH: Glutathion Réduit
BH4: (6R) -5, 6, 7, 8, -Tétra-hydro-L- Biotéridine	GSSG: Glutathion Oxydé
BHT : Butyl-Hydroxy-Toluène	HepG2: Hepatocellular liver Carcinome
BPCO: Broncho-Pneumopathie- Chronique Obstructive	HIV-1: Virus Du Sida
CAT: Catalase	HNE : 4- Hydroxynonanal
CCl4: TétraChlorure de Carbone	HRB: Hyper Réactivité Bronchique
CD36: Cluster De Différenciation	HSP: Protéine du Choc Thermique
Cit: L- Citrulline	HT29: Lignée cellulaire Cancer du colon
CML: Cellules Musculaires Lisses	IC50: Concentration Inhibitrice 50
CMLV: Cellules Musculaires Lisses vasculaires	ICAM: Inter Cellular Adhesion Molecule-1
CRP: Protéine C Réactive	IL: Interleukine
DAG: Diacylglycérol	IP3: Inositol 1, 4, 5-triphosphate
EAC: Extrait Aqueux De Câpres	KCLM: Chaîne Légère de la Myosine kinase
EAF: Extrait Aqueux De Feuilles	LDL: Lipoprotéines de faible densité
EAF_L: Extrait Aqueux De Fleurs	ERS: European Respiratory Society
EAG: Extrait aqueux De graines	ETS: Système de Transport d'Electron
EAR: Extrait Aqueux De Racines	LH: Lipide (Acide Gras Insaturé)
EDTA: Acide Ethylène Diamine Tétra-acétique	L-NNA: Nω -Nitro- L-Arginine
Emax: Effet maximum observable	LOO[°]: Lipid peroxide radical
EMC: Extraits Méthanoliques De Câpre	LOX: Lipooxygénase
EMF: Extraits Méthanoliques Feuille	LPS: Lipo-polysaccharide
EMF_L: Extraits Méthanoliques De Fleur	LTB4: Leucotriène B4
EMG : Extraits Méthanoliques De Graine	MBP: Protéine Basique Majeur
EMR: Extrait Méthanolique De Racine	MCF-7: Lignée cellulaire Cancer du sein
EPO: Peroxydase Eosinophilique	MCP-1 Monocytes Chemoattractant Protein1
ER: Espèces Réactives	MMP-9: Métallo protéinase matricielle 9

MPO : Myéloperoxydase
NADPH: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate Réduit
NE : Norépinephrine
NOS: Nitrique Oxyde Synthase
ONE: Oxo-Nonenal
P-450 : Cytochrome P450
PAE: Extrait aqueux de *Persea*
PAF : Platelet activating factor
PC: Protéine Carbonylée
PDE : Phosphodiesterase
PDG: Phosphate Dépendant Glutaminase
PE: Phényléphrine
PGE2: Prostaglandine E2
PI3-kinase: Phosphatidyl-Inositol 3-Kinase
PKA: Protéines Kinases A
PKC: Protéine Kinase C
PKG: Protéine Kinase G
PLA2: Phospholipase A2
PMA: Phorbol 12-Myristate 13-Acétate
Q10: Ubiquinone 10 (Coenzyme)

RL: Radical Libre
RNS: Espèces Réactive Nitrogène
RO[•] : Alcoxy
RO₂[•]: Peroxyle
RONS: Espèces Réactives d' Oxygène et d'azote
R-OOH ou LOOH: hydroperoxydes lipidiques
ROS: Espèces Réactives d'Oxygène
Sar: Sarcosine
SD: Standard deviation
SEM: Erreur Standard Moyenne
SERCA: Sarco/Endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase
SH2 : (Src Homology 2) domaine
SOD: superoxyde dismutase
Th2: Lymphocytes T Helper
TNF α : Tumor necrosis factor-Alpha
TxA2: Tromboxane A₂
VCAM: Vascular cells adhesion molecules
% Emax: Pourcentage d'effet maximal
8-OHdG: 8-HydroxyDésoxyGuanosine
8OHG: 8-HydroxyGuanosine

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Les diverses attaques pathologiques provoquées par les espèces réactives d'oxygène.....	3
Figure 2: Productions des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS) dans les cellules de mammifères	5
Figure 3: Chaîne de transport des électrons au niveau de la membrane mitochondriale	8
Figure 4: Les espèces réactives oxygénées (ROS) et leur système de détoxification....	11
Figure 5: Peroxydation des acides gras polyinsaturés <i>via</i> des systèmes enzymatiques.	12
Figure 6: Origine et équilibre oxydants/antioxydants.....	16
Figure 7: Physiopathologie de l'asthme et les divers mécanismes et cellules y contribuant ...	25
Figure 8: Diverses causes des pathologies obstructives (bronchites chroniques, obstructives, emphysème). (Barnes 2010).....	28
Figure 9: Structure de la paroi vasculaire	31
Figure 10: Mécanisme de la contraction (A) et de relaxation (B) des CMLV.....	33
Figure 11: Evolution de l'athérosclérose d'après (Lamon <i>et al.</i> , 2008).....	36
Figure 12: Différentes parties de <i>Capparis spinosa</i> utilisées.....	53
Figure 13: Protocole de préparation de l'extrait méthanolique des différentes parties de <i>Capparis spinosa</i> (Markham, 1982; Zabri <i>et al.</i> , 2008).....	55
Figure 14: Droite d'étalonnage utilisée pour le dosage des polyphénols totaux par la par la méthode au bleu de Prusse modifiée par Graham (1992).	57
Figure 15: Droite d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes par la méthode de Bahorun <i>et al.</i> , (1996).....	58
Figure 16: A : Réduction du DPPH par un antioxydant (RH). B : Diminution de l'intensité de la couleur du DPPH en fonction de la concentration des substances anti-radicalaires dans le milieu.....	59
Figure 17: Exploration de la fonction endothéliale.	62
Figure 18: Schéma du système de bain d'organe isolé. La minuterie permet de déclencher des lavages automatiques.....	63
Figure 19: Exemple d'un enregistrement obtenu dans le système d'organe isolé en utilisant la Phényléphrine 10^{-5} M	64
Figure 20: Comparaison de la teneur en polyphénols (A) et flavonoïdes (B) des extraits aqueux et méthanoliques dans les différentes parties du câprier. Les données sont exprimées en moyenne \pm SD (n = 3) de mg d'équivalents d'acide gallique (polyphénols) et de rutine (flavonoïdes) par g d'extrait.....	70
Figure 21: Le pourcentage d'inhibition de DPPH en présence de concentration différentes d'extraits aqueux	72
Figure 22: Le pourcentage d'inhibition de DPPH en présence de concentration (A) différentes d'extraits méthanoliques de EMF _L : fleurs, EMC: câpres, EMF: feuilles, EMG: graines, et (B) d'acide Gallique, la Quercétine, la Rutine et BHT Chaque point représente la moyenne \pm SEM (n = 3).....	73

Figure 23 : La Capacité antioxydante exprimée en % d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique en présence de BHT, MeOH et H ₂ O et des différents extraits aqueux de <i>Capparis spinosa</i> . Chaque point représente la moyenne ± SEM (n = 3).....	76
Figure 24 : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique par rapport au BHT, MeOH et H ₂ O par les extraits aqueux de <i>Capparis spinosa</i> après 24 heures. Chaque point représente la moyenne ± SEM (n = 3)	77
Figure 25 : La Capacité antioxydante exprimée en % d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique en présence de BHT, MeOH et H ₂ O des différents extraits méthanoliques de <i>Capparis spinosa</i>	78
Figure 26: Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique par rapport au BHT, MeOH et H ₂ O par les extraits méthanolique de <i>Capparis spinosa</i> après 24 heures. Chaque point représente la moyenne ± SEM (n = 3).....	78
Figure 27 : Le pourcentage d'activité chélatrice en présence de différentes concentrations des extraits aqueux de EAF _L : fleurs, EAC: câpres, EAF: feuilles, EAG: graines, EMR: racines et des standards (EDTA, Quercétine et Rutine). Chaque point représente la moyenne ± SEM (n = 3).....	81
Figure 28 : Comparaison de l'activité chélatrice des ions métalliques de fer des différents extraits aqueux des différentes parties de <i>Capparis spinosa</i> avec les standards EDTA, Quercétine et Rutine.....	82
Figure 29: Mécanisme de chélation des métaux de transition	83
Figure 30: Comparaison de l'activité chélatrice des ions métalliques de fer des différents extraits méthanoliques de <i>Capparis spinosa</i> avec les standards EDTA, Quercétine et Rutine. Chaque point représente la moyenne ± SD (n = 3).....	84
Figure 31: Le pourcentage d'activité chélatrice en présence de concentration différentes d'extraits méthanoliques de EMF _L : fleurs, EMC: câpres, EMF: feuilles, EMG: graines, EMR: racines et les standards: d'EDTA, la Quercétine et la Rutine.	86
Figure 32: Effet des extraits aqueux de fruits, graines et feuilles aux concentrations 0,1 (A), 1 (B) et 10 mg/ml (C) sur la trachée de rat sur la concentration réponse à l'acétylcholine. Les résultats sont exprimés en pourcentage maximal de la réponse obtenue. Chaque point est la moyenne ± SEM (n = 6).....	91
Figure 33: Effets des extraits aqueux de <i>Capparis spinosa</i> après addition des concentrations 0.1, 1 et 10 mg/ml, des extraits aqueux de graines (EAG), de feuilles (EAF) et de câpres (EAC) au plateau de contraction induite par l'Acétylcholine (10 ⁻⁴ M) sur les anneaux de trachée de rat.	92
Figure 34: Effet des EAF _L à 1mg / ml et 10 mg/ml par rapport au contrôle dans le plateau de contraction induite par phényléphrine (PE) sur anneau d'aorte thoracique. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la réponse maximale obtenue dans la stimulation initiale. (n = 7)	95
Figure 35: Effet des extraits aqueux de fleurs EAF _L à la dose de 1 mg/ml et 10 mg/ml additionné à la phase de la contraction induite par la phényléphrine sur l'anneau d'aorte de rat. Les résultats sont exprimés en différence entre pourcentage de la réponse maximale obtenue après 30 mn d'incubation. Chaque point est la moyenne ± SEM (n = 7)	96
Figure 36: Effet des extraits méthanoliques des différentes parties de <i>Capparis spinosa</i> avec différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en % des absorbances du rouge neutre non absorbé par les cellules hépatiques de rat en culture.....	99
Figure 37: Effet prolifératifs des extraits méthanoliques des différentes parties de <i>Capparis spinosa</i> avec la concentration 150 µg/ml. Les résultats sont exprimés en % des absorbances du rouge neutre absorbé par les cellules hépatiques de rat en culture calculées à partir des différences entre les absorbances initiales et après incubation avec le rouge neutre. ...	100

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Quelques plantes à activité vasorelaxante	41
Tableau 2: Quelques plantes à activité bronchorelaxante	42
Tableau 3: Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits aqueux de différentes parties de <i>Capparis spinosa</i> . Les valeurs représentent les moyennes \pm SD de 3 répétitions.....	68
Tableau 4: Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits méthanoliques des différentes parties de <i>Capparis spinosa</i> . Les valeurs représentent les moyennes \pm SD de 3 répétitions.....	69
Tableau 5: Valeurs de pEC50, Emax et % Emax à 0,1 mg/ml des feuilles (EAF), des câpres (EAC) et des graines (EAG) sur la courbe de la concentration obtenue avec l'acétylcholine dans la trachée de rat pCE50 (-log EC50) et effet maximum (la réponse maximale) et % d'effet maximum ont été calculées par régression non linéaire des données expérimentales. La réponse maximale est exprimée comme le pourcentage de la contraction maximale à l'acétylcholine.....	88
Tableau 6: Valeurs de pEC50, Emax et % Emax à 1 mg/ml des feuilles (EAF), des câpres (EAC) et des graines (EAG) sur la courbe de la concentration obtenue avec l'acétylcholine dans la trachée de rat pCE50 (-log EC50) et effet maximum (la réponse maximale) et % d'effet maximum ont été calculées par régression non linéaire des données expérimentales. La réponse maximale est exprimée comme le pourcentage de la contraction maximale à l'acétylcholine.....	89
Tableau 7: Valeurs de pEC50, Emax et % Emax à 10 mg/ml des feuilles (EAF), des câpres (EAC) et des graines (EAG) sur la courbe de la concentration obtenue avec l'acétylcholine dans la trachée de rat pCE50 (-log EC50) et effet maximum (la réponse maximale) et % d'effet maximum ont été calculées par régression non linéaire des données expérimentales. La réponse maximale est exprimée comme le pourcentage de la contraction maximale à l'acétylcholine.....	89
Tableau 8: Les valeurs de pEC50, Emax et % Emax des extraits aqueux, EAF _L 1 et 10 mg/ml sur la courbe de concentration obtenue avec la phényléphrine dans l'aorte de rat pEC50 (-log EC50) et la réponse maximale sont calculés par régression non-linéaire des données expérimentales. Contraction maximum obtenue à la première stimulation à la phényléphrine.....	95

INTRODUCTION

Les plantes sont depuis toujours une source habituelle de remèdes sous formes de préparations traditionnelles ou de principes actifs purs. Au cours des dernières décennies, les recherches les plus modernes n'ont fait que confirmer le bien-fondé des vertus thérapeutiques des plantes médicinales utilisées de façon empirique depuis des millénaires. Ce savoir traditionnel ancestral transmis de génération en génération est devenu aujourd'hui une mine d'informations extrêmement précieuse pour tous les chercheurs de l'industrie pharmaceutique. L'oxygène est essentiel à la vie des cellules aérobies, paradoxalement cette molécule peut présenter des effets toxiques *via* ses dérivés partiellement réduits appelés espèces oxygénées réactives (ROS). En faible concentration, les ROS sont indispensables à la vie cellulaire en intervenant dans plusieurs processus physiologiques tels que la signalisation cellulaire, la régulation de la réponse immunitaire, mais, à fortes doses, elles deviennent destructrices. Heureusement, La cellule dispose de mécanismes protecteurs capables de contrer l'action oxydante de ces ROS, cependant, lorsque leurs productions excèdent les capacités de détoxification cellulaires, un déséquilibre se produit. L'implication du stress oxydant dans une multitude de maladies en l'occurrence les troubles neurodégénératifs, les maladies cardiovasculaires, le cancer et le diabète sont confirmés par plusieurs chercheurs. Ce déséquilibre peut être compensé par un apport externe en antioxydants. Une multitude de plantes médicinales ont été prouvées riches en antioxydants. Les antioxydants les plus étudiés sont le β -carotène, l'acide ascorbique (vit C), le tocophérol (vit E) ainsi que les composés phénoliques dont les flavonoïdes. D'autres effets très intéressants sont attribués aux plantes médicinales y compris leurs propriétés antalgiques, anti-inflammatoires, antiprolifératives, antiarthritiques, vaso- et broncho-relaxantes, protectrices des cellules hépatiques.

En Algérie, beaucoup de plantes sont traditionnellement utilisées pour traiter les maladies cardiovasculaires, inflammatoires, en particulier le rhumatisme, le diabète, les maladies gastro-intestinales, etc. Parmi ces plantes, El Kabbar ou *Capparis spinosa* connu

dans les régions semi-arides particulièrement dans l'Est Algérien, est largement utilisé dans la médecine traditionnelle et en nutrition. Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de certaines activités biologiques des extraits de *Capparis spinosa* en vue de leur valorisation en tant qu'antioxydants, vasoactifs et broncho-relaxants. Ce travail s'inscrit dans le cadre d'une contribution à une meilleure connaissance et valorisation des plantes médicinales de l'Algérie et à la découverte éventuelle d'extraits à activités pharmacologiques.

Dans ce travail de thèse, les objectifs suivants sont fixés:

- Détermination du contenu en polyphénols et en flavonoïdes des extraits aqueux et méthanoliques des fruits, feuilles, graines, fleurs et racines de *Capparis spinosa*.
- Evaluation du pouvoir piégeur (scavenger) des extraits aqueux et méthanoliques des différentes parties de *Capparis spinosa* vis-à-vis d'un radical libre relativement stable (DPPH).
- Etude de l'activité chélatrice des métaux par les extraits aqueux et méthanoliques de différentes parties de *Capparis spinosa*.
- Evaluation de l'effet antioxydant des extraits aqueux et méthanoliques de *Capparis spinosa* en utilisant le système β -carotène / acide linoléique.
- Etude *in vitro* de l'effet vaso-relaxant chez le rat des extraits aqueux de *Capparis spinosa*.
- Etude *in vitro* de l'effet bronchorelaxant chez le rat des extraits aqueux de *Capparis spinosa*.
- Evaluation de la cytotoxicité des extraits de *Capparis spinosa* sur des cellules hépatiques de rat en culture.

***REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE***

1. LE STRESS OXYDANT

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les processus biochimiques de production des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (reactive oxygen species: ROS and reactive nitrogen species: RNS) et les mécanismes antioxydants responsables de contrôle et neutralisation de leurs effets toxiques (Yoshikawa et Naito, 2000; Powers *et al.* 2010). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (Kirschvink *et al.*, 2008). L'équilibre ou homéostasie redox est perturbé et les cellules deviennent vulnérables aux attaques oxydantes par les ROS (Mac Laren, 2007), résumé dans la figure 1.

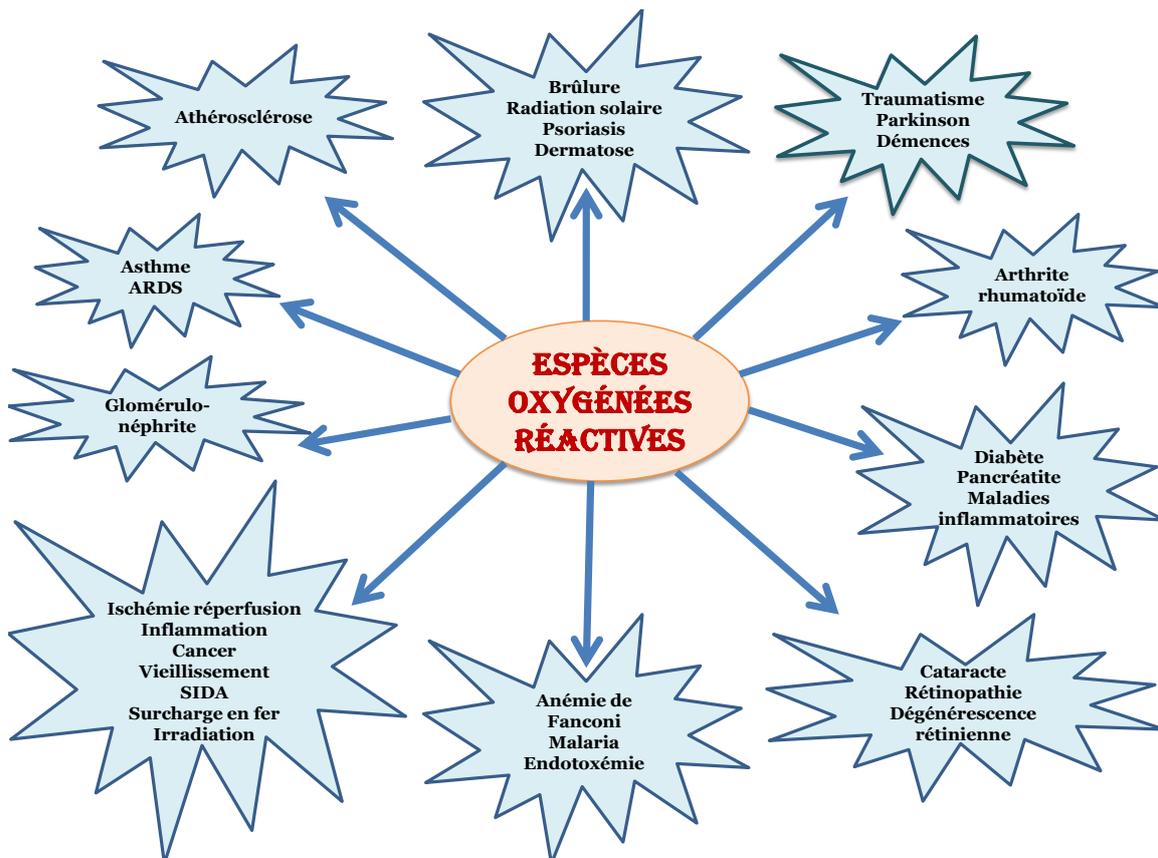


Figure 1: Les diverses attaques pathologiques provoquées par les espèces réactives d'oxygène (Gutteridge, 1992).

1.1. Radicaux libres et espèces oxygénées réactives

Les radicaux libres sont définis comme des molécules ayant un électron non apparié, ce qui leur confère une grande instabilité et une forte réactivité (Gilbert, 2000). Les radicaux libres d'oxygène sont le superoxyde, hydroxyle, peroxyde (RO_2^\bullet), alcoxy (RO^\bullet) et hydroperoxyde (HO_2^\bullet). L'oxyde nitrique et le dioxyde d'azote (NO_2^\bullet) sont deux radicaux libres de l'azote. Les radicaux libres d'oxygène et d'azote peuvent être convertis en d'autres espèces réactives non radicalaires, comme le peroxyde d'hydrogène, l'acide hypochloreux (HOCl), l'acide hypobromeux (HOBr) et le peroxyde d'azote (ONOO^\bullet). Les ROS, RNS et les espèces réactives du chlore sont produites chez les animaux et chez l'homme sous des conditions physiologiques et pathologiques. Ainsi, les ROS et RNS comprennent des espèces radicalaires et non-radicales (Fang *et al.*, 2002). Si un radical rencontre un non radical, un nouveau radical sera formé ($\text{A}^\bullet + \text{B} \rightarrow \text{A} + \text{B}^\bullet$) et sera à l'origine d'une chaîne qui continuera jusqu'à ce que le radical rencontre un autre radical ou un antioxydant (Mac Laren, 2007).

Les espèces oxygénées actives également désignées dérivés réactifs de l'oxygène peuvent être définies comme des molécules qui contiennent de l'oxygène et sont plus réactives que l'oxygène présent dans l'air. Les ROS incluent les RL et des composés réactifs oxydants non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypochloreux (HOCl), l'oxygène singulet et l'ozone (Gardès-Albert *et al.*, 2003). Plus récemment les espèces azotées réactives (RNS) ont été définies comme un sous groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote (Figure 2). Ceci a poussé certains auteurs à parler de RONS (Reactive Oxygen and Nitrogen Species) au lieu de ROS pour désigner l'ensemble des espèces réactives oxydantes radicalaires ou non radicalaires. Les principales RONS peuvent être produites par le métabolisme cellulaire normal et/ou pathologique, ou par exposition

environnementale (tabagisme, ozone, alimentation ...) (Bloomer *et al.*, 2008; Venkataraman *et al.*, 2013), (Figure 2).

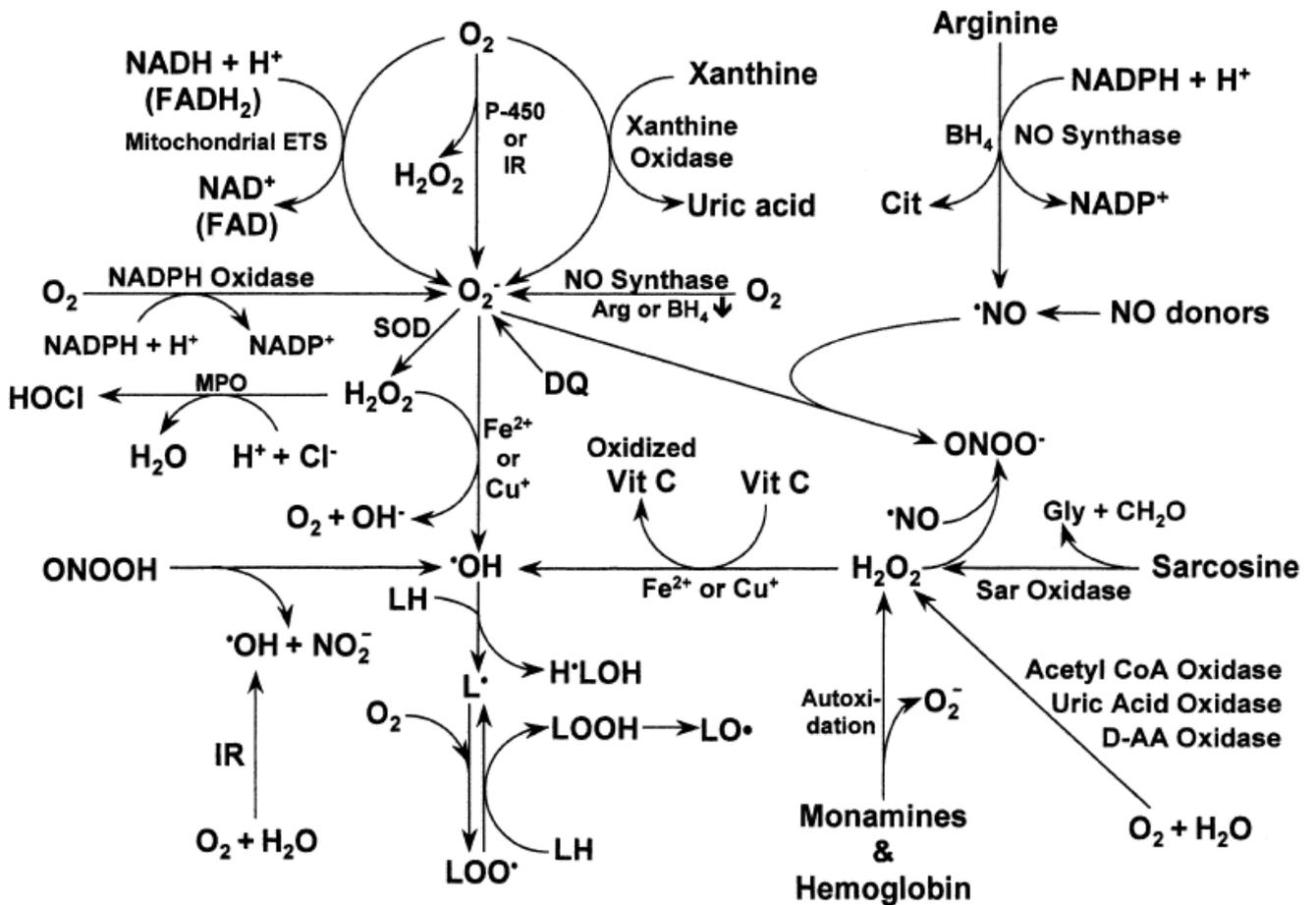


Figure 2: Productions des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS) dans les cellules des mammifères (Fang *et al.*, 2002). AA: acides aminés, BH4: (6R) - 5,6,7,8, -tétrahydro -L- bioptérine, Cit: L- citrulline, ETS: electron transport system, IR: rayonnement ionisant, LH: lipide (acide gras insaturé), MPO: la myéloperoxydase, P-450: cytochrome P450, PDG: phosphate dependant glutaminase, Sar: Sarcosine, SOD: superoxyde dismutase.

1.2. Implications des oxydations dans le fonctionnement de l'organisme

Les RONS sont connus pour leur caractère ambivalent physiologique et physiopathologique (Lamprecht *et al.*, 2004). Les effets physiologiques des RONS nécessitent de basses concentrations et contribuent à la synthèse de l'ADN, des hormones stéroïdes, des acides biliaires, des eicosanoïdes, des acides gras insaturés, aux réactions dépendantes de la vitamine B12, à la biosynthèse des mitochondries. (Davies *et al.*, 1982; Koolman *et al.*, 1999). Ils sont les médiateurs de multiples fonctions de signalisation intracellulaire (signaux redox) et de transcription essentielles pour le fonctionnement normal et la survie des cellules, ainsi que de la programmation de leur élimination (Vergani *et al.*, 2004; Valko *et al.*, 2007; Kirschvink *et al.*, 2008).

Cependant, les RONS sont très cytotoxique et peuvent entraîner directement des lésions de l'ADN, des protéines, des membranes lipidiques et des sucres et générer de nouveaux produits oxydants, provoquer des mutations génétiques (Sayre *et al.*, 2008). Les RONS sont impliqués dans plusieurs pathologies (l'athérosclérose, le diabète sucré, les maladies respiratoires, le cancer, les maladies neurodégénératives, l'inflammation, les maladies articulaires, ainsi que dans les phénomènes d'ischémie-réperfusion (cardiaque ou cérébrale) et le processus de vieillissement (Wactawski-Wende *et al.*, 2009).

1.3. Principales RONS de l'organisme

La principale source des ROS est la chaîne de transfert d'électron dans les mitochondries. La production d'oxydant par les neutrophiles et les macrophages est également une source importante qui dépend de l'activité enzymatique de la NADPH-oxydase pendant la flambée respiratoire des cellules inflammatoires (Lamprecht *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2009). D'autres sources dépendent d'enzymes comme la xanthine oxydase, les oxydases

membranaires, les synthétases de l'oxyde nitrique, qui produisent physiologiquement des oxydants (Radak *et al.*, 2008). La présence de pro-oxydants peut transformer les oxydants en des formes plus réactives, comme le fer, qui favorise la transformation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en radical hydroxyle (HO•) (Kirschvink *et al.*, 2008). Par la réaction de Fenton:



ou celle ou cycle de Haber-Weiss



En présence de métaux de transition tels que le fer et le cuivre. Le radical HO• est le plus réactive en particulier, *vis à vis* des lipides membranaires en déclenchant la peroxydation lipidique. Dans les mitochondries qui produisent des radicaux superoxydes (O₂•⁻) et des H₂O₂, la présence simultanée d'AGPI, de protéines, d'oxygène, d'électrons, et de fer, font des membranes mitochondriales un site particulièrement sensible aux attaques radicalaires (Wolinsky 1998; Kehrer 2000) (Figure 3).

Les supercomplexes I1III2 et I1III2IV1 ont été identifiés comme les deux principaux fragments du respirasome (supercomplexes de la chaîne respiratoire) dans les mitochondries humaines normales (Schägger, 2002). L'oxygène est l'accepteur final d'électron en provenance des substrats énergétiques, sa réduction ne peut se faire qu'avec un électron à la fois (réduction univalente) et de ce fait il résulte une production inévitable d'intermédiaires très réactifs (Figure 2). Lors du métabolisme oxydatif, 2 à 5% de l'oxygène consommé est converti en O₂•⁻ (Mac Laren, 2007). Robinson (1998) a émis l'hypothèse que la production d'oxygène radicalaire est augmentée lorsque l'activité complexe I est compromise.

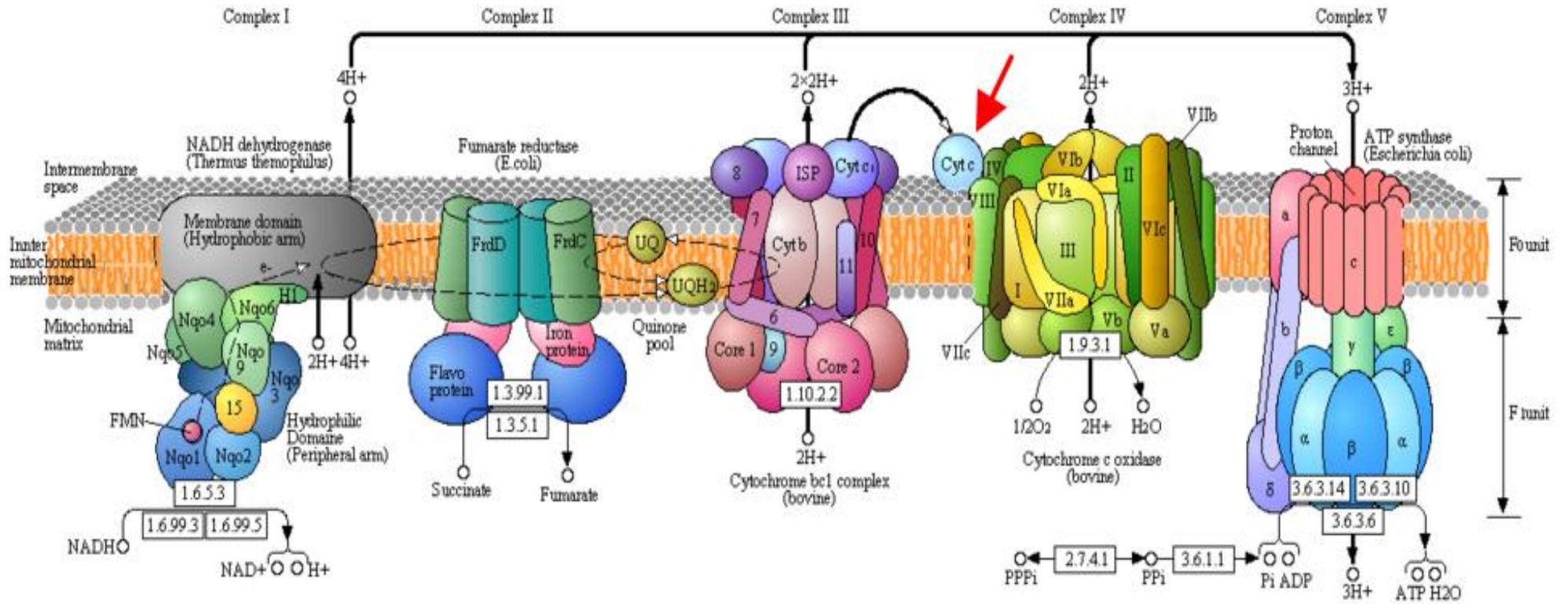


Figure 3 : Chaîne de transport des électrons au niveau de la membrane mitochondriale (KEGG, 2014).

1.3.1. Le radical superoxyde

Le radical superoxyde (O_2^\cdot), est principalement formé lors de la chaîne de transport des électrons au niveau de la membrane interne des mitochondries sous l'influence du Q10 et la NADH-déshydrogénase, sous l'influence de métalloenzymes endommagées ou altérées par mutation génétique, et par des NADPH oxydases au niveau des membranes des cellules du système immunitaire où il participe à une action bactéricide. Les xanthines oxydases rencontrées dans le cytosol de pratiquement tous les tissus sont capables de produire des radicaux superoxydes à partir de l'hypoxanthine/xanthine et d'oxygène, et pourraient avoir des implications particulièrement en cas d'ischémie-réperfusion (Aguilaniu *et al.*, 1998; Lamprecht *et al.*, 2004). La réactivité du radical superoxyde est limitée et son action est le résultat des produits beaucoup plus agressifs qui en sont dérivés, en particulier le radical hydroxyle (OH^\cdot).

1.3.2. Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Le radical superoxyde est réduit en peroxyde d'hydrogène dans la mitochondrie, sous l'action catalytique de la superoxyde dismutase (SOD). Le H_2O_2 bien que non radicalaire joue un rôle important dans le stress oxydant. Il est non ionisé et de faible charge ce qui facilite sa diffusion à travers les membranes cellulaires et mitochondriales, jouant le rôle d'un vecteur important de diffusion du radical hydroxyle (OH^\cdot), dont il est précurseur par réaction de Fenton/Haber-Weiss (Van Helden *et al.*, 2009). Son rôle facilitateur en fait un des agents les plus actifs des dommages causés par oxydation des biomolécules. Il est également transformé en HOCl et OH^\cdot par les myéloperoxydases leucocytaires lors de la réaction inflammatoire, ce qui peut accroître son effet toxique (Finaud *et al.*, 2006b ; de Souza *et al.*, 2006). D'autre part, le H_2O_2 peut participer au système antioxydant en étant transformé en H_2O et O_2 par la catalase ou en H_2O par la glutathion peroxydase (Biesalski *et al.*, 2001). A faible

concentration il active la signalisation et pourrait être impliqué dans des réponses physiologiques comme le cycle de Krebs, la croissance, la dépolarisation membranaire, la régulation du calcium (Sayre *et al.*, 2008).

1.3.3. Le radical hydroxyle

Le radical hydroxyle ($\cdot\text{OH}$) est extrêmement puissant et réagit indifféremment avec toutes les biomolécules, auxquelles il a un accès facilité à travers le H_2O_2 (Hempel *et al.*, 2009). Le radical hydroxyle est un des oxydants les plus réactifs du système biologique, toutefois, sa courte demi-vie d'approximativement 10^{-9} secondes en réduit considérablement la potentialité (Goto *et al.*, 2008).

1.3.4. Le Monoxyde d'azote ou oxyde nitrique

La grande production et distribution de monoxyde d'azote (oxyde nitrique: NO), combinées à sa réaction facile avec les ROS, lui assurent un rôle central dans la régulation du stress oxydant (Sayre *et al.*, 2008). Le NO libéré des cellules endothéliales réagit très rapidement avec l'oxygène pour former du dioxyde d'azote ($\cdot\text{NO}_2$) qui peut à son tour réagir avec l'oxyde nitrique pour former le trioxyde d'azote (N_2O_3). Sa rapide réaction avec le radical superoxyde ($\cdot\text{O}_2^-$) produit le très réactif peroxydinitrite (ONOO^-) qui est capable d'oxyder les macromolécules particulièrement lors des états pathologiques (Goto *et al.*, 2008) (Figure 4). Il pourrait être antioxydant en contribuant à l'interruption de la chaîne autocatalytique de la peroxydation lipidique, et en régulant la production de gènes contribuant à la protection antioxydante de l'organisme (Shils *et al.*, 2006). Le NO produit en grande quantité par la iNOS contribue à la flambée oxydative des cellules phagocytaires. Le NO produit par la nNOS et la eNOS sert de messenger dans la communication inter-et intracellulaire. Son action est notamment sous tendue par l'activation de la guanylate cyclase, ce qui conduit à la production de GMPc.

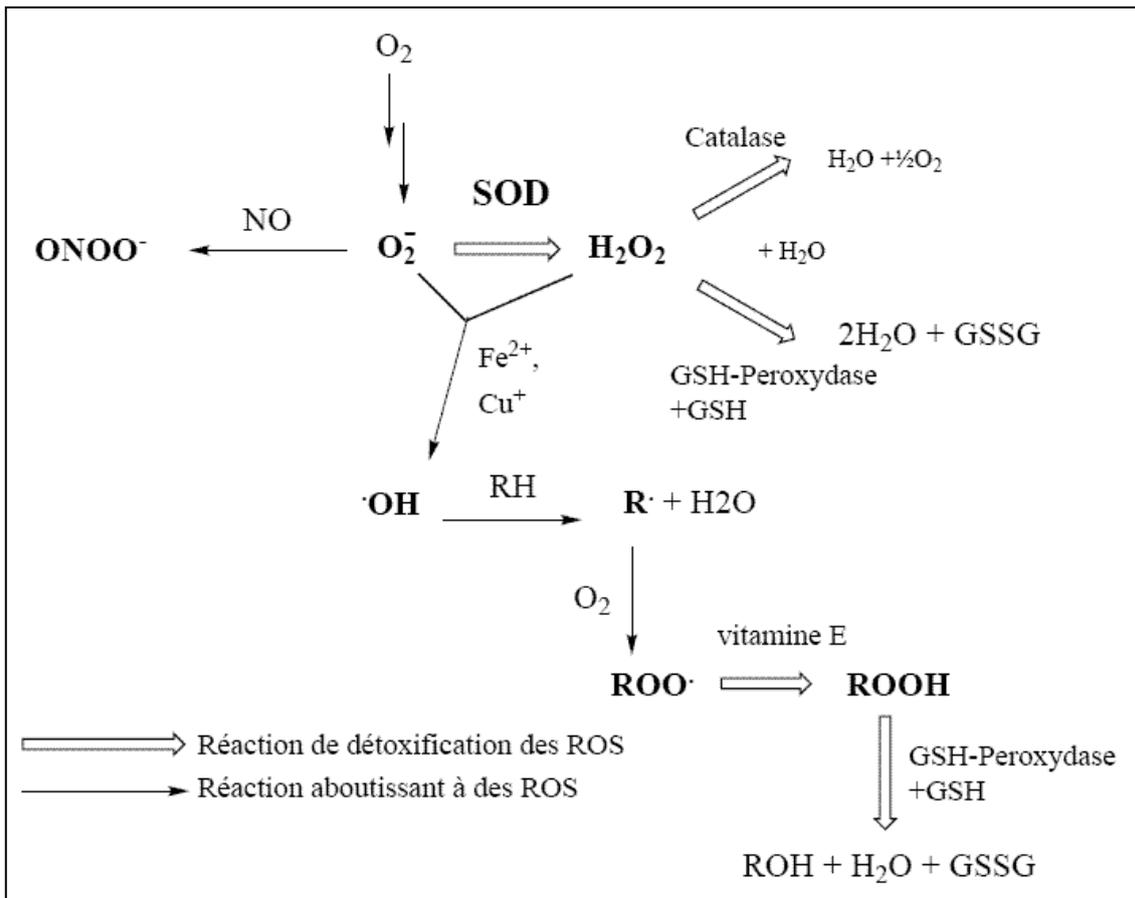


Figure 4: Les espèces réactives oxygénés (ROS) et leur système de détoxification.

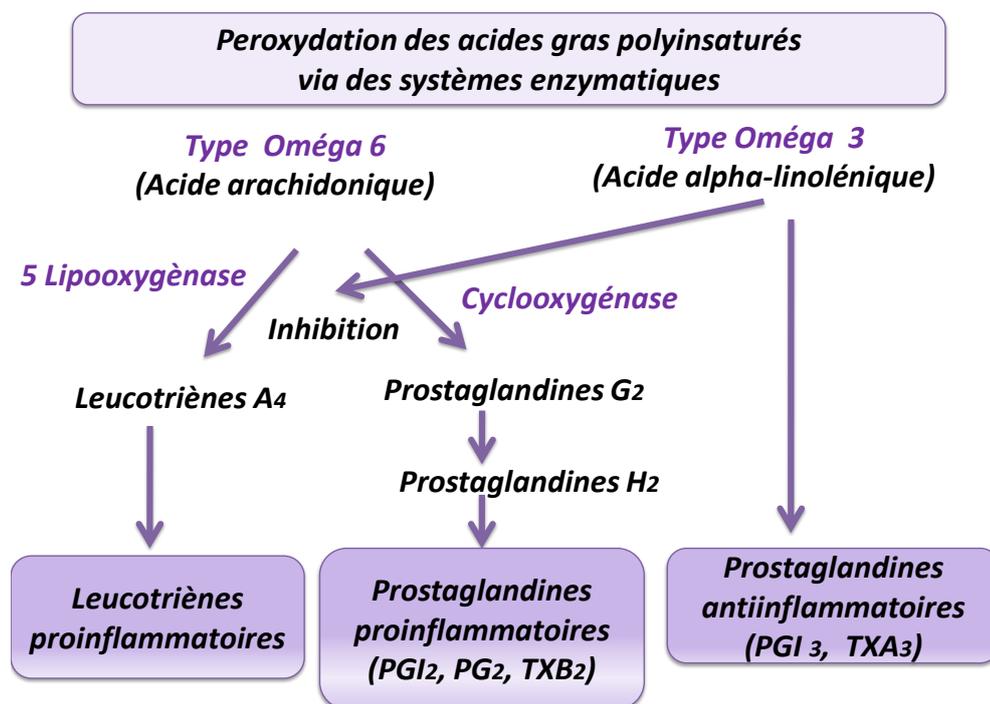
SOD: superoxyde dismutase, GSH-peoxydase: glutathione peroxydase.

1.4. Oxydation des biomolécules

Le temps de demi-vie très court des RONS limite leur intervention *in situ* (NO: quelques ms, $\cdot O_2^-$ et l'oxygène singulet quelques μs , et le $\cdot OH$ quelques ns). D'autres oxydants devraient être plus performants, comme les sous produits de l'oxydation des macromolécules et le peroxyde d'hydrogène dont la demi-vie est de plusieurs secondes à quelques minutes (Kehrer, 2000; Goto *et al.*, 2008). Le stress oxydant peut être évalué par mesure des ROS, des indicateurs de leurs effets/dommages sur les macromolécules ou des antioxydants (Clarkson *et al.*, 2000; De Moffarts *et al.*, 2007).

1.4.1. La peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique, correspond à la détérioration oxydative des doubles liaisons des acides gras insaturés (AGI), comme l'acide linoléique ou l'acide arachidonique qu'ils soient libres ou estérifiés dans des esters de glycérol (tissu adipeux), de phospholipides (membranes), ou de cholestérol (Wolinsky 1998, Velasco *et al.*, 2004). Les AGPI peuvent être peroxydés de forme enzymatique ou non enzymatique (Figure 5), et générer des produits primaires sous la forme de diènes conjugués et d'hydroperoxydes lipidiques (R-OOH ou LOOH). De nombreux produits de la peroxydation lipidique, peuvent apparaître, modifier et altérer ainsi considérablement l'intégrité, la fluidité, la perméabilité membranaires et les protéines membranaires. Ces produits sont des biomarqueurs, dont les rôles et les interactions seront tant physiologiques que pathologiques (Spiteller, 2006; Finaud *et al.*, 2006).



Figur 5: Peroxydation des acides gras polyinsaturés *via* des systèmes enzymatiques.

1.4.2. L'oxydation du cholestérol

Le cholestérol, peut être oxydé par auto-oxydation, photo-oxydation ou oxydation enzymatique et former différents types d'oxystérols. Il s'oxyde de la même manière qu'un acide gras insaturé. Il se forme d'abord des hydroperoxydes qui se dégradent en époxydes, en alcools primaires, secondaires ou tertiaires et en cétones. L'oxydation du cycle B du stéroïde est prédominante, favorisant l'attaque en position allylique ainsi que l'époxydation. Les principaux oxystérols formés sont le 7 α - et le 7 β -hydroxycholestérol, le 7-cétocholestérol, le cholesta-3,5-diène-7-one, le 3 β , 5 α , 6 β -cholestanetriol, le 5 α , 6 α - et le 5 β , 6 β -époxycholestérol. L'oxydation de la chaîne aliphatique en positions 20, 22, 24, 25 et 26 a également été observée (Rose-Sallin *et al.*, 1996). Les esters d'acides gras insaturés liés au cholestérol dont l'acide linoléique et l'acide arachidonique, principaux représentants, peuvent également être l'objet d'une peroxydation lipidique. Le cholestérol oxydé est reconnu comme étant toxique et contribue pour les dommages cellulaires (Staprans *et al.*, 2003, 2005; Spitteller *et al.*, 2006). Des produits de l'auto-oxydation du cholestérol ont été mesurés pour évaluer le stress oxydant (van Reyk *et al.*, 2006).

1.4.3. L'oxydation des sucres

Les sucres sont attaqués par les ROS avec abstraction d'hydrogène au niveau d'une des liaisons CH-OH. Le radical alkyle ($\dot{\text{C}}\text{-OH}$) ainsi formé se combine immédiatement avec de l'oxygène pour former un carbonyle (C=O) et expulser un radical hydroperoxyde ($\dot{\text{O}}\text{OH}$). L'opération se prolonge jusqu'à former un composé dicarbonylé (Spitteller *et al.*, 2006). Par auto-oxydation, des sucres comme le glucose forment des composés dicarbonylés (contenant deux C=O), dont les plus connus sont les glyoxal et les glycolaldéhydes, qui peuvent se lier à des protéines par réaction de Maillard et altérer leurs propriétés chimiques (Wells-Knecht, 1995). Ceci a été démontré chez des diabétiques et a été corrélé avec la sévérité de la maladie

à travers des protéines glycosylées (Glomb *et al.*, 1995). La glyco-oxydation des sucres et la glycation des protéines a également été mise en évidence dans les agglomérats de protéines caractéristiques de certaines maladies neurodégénératives (Sayre *et al.*, 2008).

1.4.4. L'oxydation des protéines

Les protéines peuvent piéger la majorité des ROS générés (50–75 %). Leur oxydation affecte la fonction des protéines qui peuvent se fragmenter ou former des agglomérats les rendant susceptibles à la protéolyse, et résulte en la formation de protéines et fragments de peptides carbonylés (PC) qui sont des marqueurs du stress oxydant (Fisher-Wellman *et al.*, 2009). L'oxydation des acides aminés en particulier la cystéine, la méthionine et la tyrosine, est similaire à celle des sucres et implique une attaque radicalaire ($\text{LOO}^{\bullet} \rightarrow \text{LOOH}$, ou autre) sur un des groupes méthyle lié à un atome d'azote. Le radical d'acide aminé obtenu réagit avec l'oxygène pour former un composé avec expulsion d'un radical peroxyde d'hydrogène ou d'un peroxyde d'hydrogène, le composé obtenu étant ensuite transformé en un aldéhyde (Uchida *et al.*, 2003; Spiteller *et al.*, 2006). Peroxynitrite (ONOO^-) provoque la nitration, notamment des résidus tyrosine. L'accumulation de protéines oxydées est souvent mesurée par leurs contenus en carbonyles ou en nitrotyrosines.

1.4.5. Oxydation des acides nucléiques

Dans les mitochondries et le noyau des cellules, des dommages oxydatifs avec coupures sur les bases de l'ARN et de l'ADN peuvent se produire par réactions de Fenton, sous l'effet des aldéhydes de la peroxydation lipidique comme les 4- hydroxynonanal (HNE) (Signorini *et al.*, 2013), les oxononanal (ONE) et par des peroxynitrites (Bloomer *et al.*, 2004). Ces altérations peuvent provoquer des lésions conduisant à des ruptures simple et double brin de l'ADN, à des actions mutagènes pouvant conduire au développement du cancer et à la mort cellulaire. Les guanines sont préférentiellement attaquées et le produit de

leur dégradation peut être détecté par le dosage de la 8-hydroxydésoxyguanosine (8-OHdG) dans le sang et les urines (Niess *et al.*, 1996; Clarkson *et al.*, 2000; Lamprecht *et al.*, 2004; Finaud *et al.*, 2006). Des 8-hydroxyguanosine sont les principaux marqueurs de l'oxydation de l'ARN (Sayre *et al.*, 2008).

1.5. Les antioxydants

Les antioxydants sont des protecteurs chimiques qui contiennent du phénol monohydroxylé / polyhydroxy, ils vont s'opposer aux phénomènes de stress oxydant en réagissant avec les radicaux libres impliqués dans ces processus (German, 1999). Les électrons des radicaux libres sont stabilisés et donc, l'oxydation est ralentie. Toutefois, cette condition n'est pas suffisante, il faut en outre que l'antioxydant soit régénéré *in vivo* de manière à jouer plusieurs fois son rôle (Gardès-Albert *et al.*, 2003). Les cellules contiennent de nombreux systèmes antioxydants. La prévention des excès des ROS et la réparation des dommages cellulaires sont essentielles pour la vie de la cellule (Gutteridge et Halliwell, 1994). Les antioxydants sont donc des agents qui réagissent facilement avec les substances oxydantes pour les inactiver et les éliminer, ou diminuer leur production. Ils sont fonction des apports alimentaires (vitamines, sels minéraux, flavonoïdes,...) qui fournissent des antioxydants exogènes et de la production par l'organisme d'antioxydants endogène (enzymes, protéines, bilirubine, acide urique,...) (Figure 6). Les antioxydants sont divisés en 3 catégories, tel que décrit par Gutteridge et Halliwell (1994): (1) les antioxydants primaires impliqués dans la prévention la formation des oxydants, (2) les antioxydants secondaires ou scavengers des ROS et (3) les antioxydants tertiaires qui réparent les molécules oxydées. Selon leur solubilité, les antioxydants sont subdivisés en deux groupes: hydrophobes ou hydrophiles (Kibanova *et al.*, 2009). Les hydrophobes sont représentés par les vitamines A et E, les flavonoïdes, l'ubiquinol (Coenzyme Q10), la bilirubine, la mélatonine, qui agissent

essentiellement sur la protection dans les milieux lipidiques. Les hydrophiles comme les glutathions, l'acide urique, la vitamine C, les thiols, les protéoglycans, l'acide hyaluronique protègent contre l'oxydation des lipides, des protéines, des sucres, et de l'ADN dans les milieux liquides comme le sang, les liquides interstitiels et le cytosol (Noori, 2012). La figure 6 résume les origines des oxydants et antioxydants et les effets néfastes qui résultent du déséquilibre en faveur des oxydants.

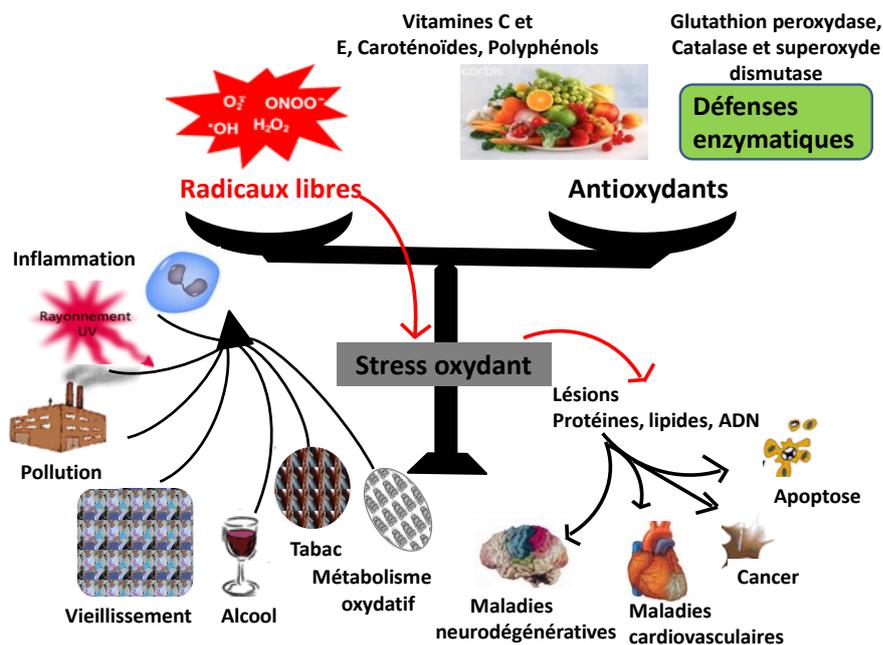


Figure 6: Origine et équilibre oxydants/antioxydants (Jolivel, 2013)

1.5.1. Les Antioxydants endogènes

1.5.1.1. Les antioxydants endogènes enzymatiques

Des enzymes comme les superoxydes dismutases (SOD), les catalases (CAT), les glutathions peroxydases (Gpx), supportés par l'action des enzymes glutathions réductases (GR) et les glucose-6-phosphate déshydrogénases, font partie du système endogène de défense contre les ROS (Noori, 2012). La SOD décompose 2 molécules de superoxyde en O_2 et peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) moins toxiques. Le H_2O_2 sera à son tour transformé en O_2 et

H₂O par la catalase, ou en H₂O par la glutathion peroxydase avec l'aide du glutathion réduit (GSH). Le glutathion réduit le plus performant des protecteurs endogènes, sert de substrat à la Gpx pour former du glutathion oxydé (GSSG) et un oxydant désactivé par réduction. Avec l'aide d'une glutathion réductase et de NADPH + H⁺, le GSH sera régénéré à partir du GSSG. En plus de leur capacité d'éliminer directement les ROS, les enzymes antioxydantes participent à la régulation du stress oxydant (Sayre *et al.*, 2008). L'activité des enzymes antioxydants dépend de cofacteurs minéraux comme Zn, Cu, Mn, Se et Fe qui alors sont qualifiés d'antioxydants non enzymatiques indirects (Herberg *et al.*, 2004).

La glutathion peroxydase (Gpx) est une enzyme antioxydante du plasma, des fluides extracellulaires et du cytosol, dépendante du Se et dont l'action permet d'éliminer le H₂O₂. Elle convertit aussi les hydroperoxydes lipidiques en des alcools non toxiques et de ce fait participe à l'interruption de la chaîne de peroxydation lipidique. L'action des Gpx dépend aussi de la disponibilité en glutathion réduit (GSH), GR et en NADPH, ce qui montre que le système antioxydant endogène agit en interdépendance. La catalase (CAT) enzyme dépendante du Fe, entre en compétition avec la Gpx pour l'H₂O₂, son utilisation devenant importante quand les quantités d'H₂O₂ sont élevées (Sayre *et al.*, 2008).

1.5.1.2. Les antioxydants endogènes non enzymatiques

Le GSH est un tripeptide (Glu-Cys-Gly), sous l'action de la Gpx il désintoxique les ROS (H₂O₂, peroxydites, peroxydes lipidiques, ...) en formant du glutathion oxydé (GSSG) composé de deux molécules de GSH (Douris *et al.*, 2009). Le GSH est un antioxydant protéique ubiquitaire dans le milieu intracellulaire, où il joue un rôle important, de protection des tissus et des protéines transporteuses d'ions redox actifs comme l'hémoglobine, la transferrine, la ferritine, l'albumine. Le GSH est capable de régénérer les

vitamines E et C oxydées. Il est détoxifiant hépatique où il se lie aux métaux toxiques (mercure, arsenic,...), (Patrick, 2006).

L'acide urique produit final du métabolisme des purines, augmente dans le plasma lors d'efforts physiques intenses, ou lors d'une exposition à l'hypoxie (Baillie *et al.*, 2007). Il a été proposé comme un des meilleurs antioxydants du plasma, où il contribue à 35-60% de la capacité antioxydante totale (Johnson *et al.*, 2009). L'acide urique peut être oxydé en différents produits dont le prédominant est l'allantoïne qui augmente également dans les muscles en cas d'effort (Hellsten *et al.*, 2001), puis est régénéré par la vitamine C (Vasconcelos *et al.*, 2007). Les xanthines oxydases produisent des ROS et l'acide urique (Niess *et al.*, 1996).

1.5.2. Antioxydants exogènes ou nutritionnels

1.5.2.1. Les Vitamines

La vitamine E est un terme générique pour tous les tocophérols et les tocotriénols, desquels existent 8 dérivatifs et dont l'alfa-tocophérol est le plus abondant (Shils *et al.*, 2006). La vitamine E est liposoluble et le principal antioxydant dans les membranes des cellules, en particulier celles des mitochondries (Traber *et al.*, 2007). En plus de ses rôles physiologiques non antioxydants de régulation du fonctionnement de la cellule, la vitamine E est le composé le plus efficace et le plus actif, agit sur les ROS pour former un radical peu réactif. Elle pourrait augmenter l'activité des SOD et des CAT (Margaritis *et al.*, 2003, Lyn Patrick 2006).

La vitamine A est un nom générique pour les rétinoïdes et les provitamines A ou les caroténoïdes (Wolinsky 1998). Les rétinoïdes (rétinol, rétinol et acide rétinoïque) sont présents dans les aliments d'origine animale (lait, foie, jaune d'oeuf), alors que les provitamines A (béta-carotène, lutéines, lycopenes,...) se rencontrent dans de nombreux fruits

et légumes. Le β -carotène serait susceptible de diminuer les risques de certains types de cancers (Krinsky, 1989). Ces caroténoïdes présentent certains effets bénéfiques sur de nombreuses pathologies dont les maladies cardiovasculaires (Rao *et al.*, 2007). Le bêta-carotène est le principal précurseur de la vitamine A. La vitamine A est responsable de la neutralisation de singulet d'oxygène, d'anion superoxyde, de peroxytrinitres, de radicaux lipidiques, inhibant plus ou moins efficacement les chaînes de peroxydation lipidique. La vitamine A agit sur les ROS en formant un radical de vitamine A qui pourra agir comme antioxydant en réagissant avec un autre radical pour former un non radical, ou sera régénéré en vitamine A (Fisher-Wellman *et al.*, 2009). En excès, elle pourrait agir comme pro-oxydants, et favoriser l'oxydation de l'ADN (Van Helden *et al.*, 2009).

La vitamine C ou acide L-ascorbique est hydrosoluble. Elle joue un rôle de prévention de l'oxydation dans le plasma et les fluides extracellulaires, dont elle est considérée comme le plus important antioxydant (Koolman *et al.*, 1999). Elle agit directement sur les ROS (superoxydes, hydroxyle, singulet oxygène, radicaux lipidiques) et indirectement par son action de régénération de la vitamine E et du GSH. Après avoir cédé son électron, elle forme un radical très peu réactif, qui sera ensuite reconverti en vitamine C par une enzyme réductase, qui utilise du GSH (Fisher-Wellman *et al.*, 2009). La vitamine C est principalement antioxydante, mais en doses trop élevées et dans le processus de défense immunitaire, elle peut avoir un effet prooxydant par son habilité à réduire l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}) qui est un puissant catalyseur de plusieurs réaction redox comme la réaction de Fenton/Haber-Weiss (Sayre *et al.*, 2008). En augmentant la disponibilité du fer ferreux, la vitamine C pourrait favoriser les dommages causés à l'ADN et paradoxalement stimuler la réparation de l'ADN oxydé (Duarte *et al.*, 2009).

1.5.2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes partagent une origine biosynthétique commune. Ce groupe de composés est en effet défini par une structure générale en C₁₅, caractérisée par un enchaînement Ar-C₃-Ar. Les flavonoïdes, comprennent les flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanes, flavan-3-ols, flavylum, chalcones, auronnes et les isoflavonoïdes. Les flavonoïdes sont des polyphénols largement représentés dans le monde végétal. Ils agissent dans les plantes comme : des antioxydants, antimicrobiens, photorécepteurs, attracteurs visuels, répulsifs alimentation... De nombreuses études ont suggéré que les flavonoïdes présentent des activités biologiques, y compris la principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être « *veino-actifs* », c'est-à-dire capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance. Des pouvoirs antiallergiques, antivirales, anti-inflammatoires, anti cancer et des actions vasodilatatrices lui sont attribués. Cependant, le plus grand intérêt a été consacré à l'activité antioxydante des flavonoïdes, qui s'exprime par le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ROS). La suppression de leur formation par : l'inhibition de quelques enzymes responsables de leur production comme l'histidine-décarboxylase, la xanthine oxydase, la lipooxygénase et la cyclooxygénase, ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production et enfin par la protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (Hodek *et al.*, 2002). La capacité des flavonoïdes à agir comme antioxydants *in vitro* a fait l'objet de plusieurs études au cours des dernières années. L'efficacité antioxydante des flavonoïdes *in vivo* est moins documentée, probablement en raison de la connaissance limitée de leur absorption chez l'homme. La plupart des flavonoïdes ingérés sont largement dégradés en divers acides phénoliques, dont certains possèdent encore un pouvoir anti-radicalaire (Avila-Villarreal *et al.*, 2013).

1. Les xanthones

Les xanthones ont des propriétés antimicrobienne, anticancer en inhibant la topo isomérase II (Alam et Khan 2014) cytotoxique, inhibitrice de la mono-amino-oxydase et antioxydantes. Il a été ainsi démontré que ces polyphénols possèdent également de très intéressantes propriétés d'inhibition de la peroxydation des lipides, ainsi que des effets capteurs de radicaux libres contre les anions superoxydes (Anderson *et al.*, 1996).

2. Les dérivés des acides phénoliques et des composés phénoliques

Ils sont présents dans de nombreux fruits et légumes. Ils représentent 4 % dans le café, 0,2 % dans le raisin, 0,1 % dans les pommes (Huang et Ferraro, 1991). Parmi ces composés, l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide chlorogénique qui captent les radicaux superoxydes. Le verbascoside, molécule comportant une partie catéchol, a montré une forte activité antioxydante. Il inhibe l'auto-oxydation de l'acide linoléique et la peroxydation lipidique microsomale. Il présente aussi une forte inhibition de la peroxydation lipidique dépendante du fer dans les mitochondries (Macheix *et al.*, 2005).

1.5.2.5. Les tanins

L'une des conséquences directes de la capacité des tannins à complexer les protéines est l'inactivation des enzymes soit directement, par fixation aux sites actifs, soit indirectement par l'encombrement stérique créé par la fixation des molécules de tannins sur l'enzyme. De nombreux tannins présentent des propriétés antioxydantes par le piégeage des radicaux libres ou encore par l'inactivation des ions pro-oxydants (Lim *et al.*, 2007). Grâce à leurs fonctions phénoliques, qui ont un fort caractère nucléophile, les tannins sont d'excellents piègeurs de radicaux libres. Les radicaux libres, tels le fer et le cuivre sous forme libre, sont des espèces chimiques instables et très réactives. Ils s'attaquent à l'ADN et perturbent le processus de réplication, induisant des mutations cancérigènes. Ainsi, des activités antimutagènes et

anticancéreux ont été attribuées à certains tannins en raison de leur propriété anti-oxydante (Richelle *et al.*, 2001). L'activité antiseptique des tannins a été largement décrite. Certaines drogues à tannins présenteraient des effets antimicrobiens, antifongiques ou antiviraux (Chung *et al.*, 1998 ; Song *et al.*, 2005). Il est intéressant de rappeler que les tannins du jus de raisin et du vin auraient un effet préventif à l'égard des maladies cardiovasculaires.

3. Autres antioxydants

Des propriétés antioxydantes ont été attribuées à des acides aminés, comme la méthionine, la taurine, la glutamine, la N-acétylcystéine (Sayre *et al.*, 2008). La vitamine B6 ou pyridoxine exerce un rôle antioxydant indirect en favorisant la synthèse de cystéine à partir de la méthionine et ainsi renforce la production du GSH. L'acide alfa-lipoïque participe à la rénovation des GSH et des vitamines C, E (Lyn Patrick 2006, Finaud *et al.*, 2006). Le coenzyme Q10 ou ubiquinone, peut piéger les radicaux superoxydes formés lors des phosphorylations oxydatives des mitochondries et régénérer les vitamines C et E oxydées (Mataix *et al.*, 1998, Wolinsky 1998, Crane 2001). Des protéines comme la ferritine, l'albumine, la bilirubine, la céruloplasmine, l'haptoglobuline, protéine du choc thermique (heat shock proteins, HSP) peuvent agir directement sur les ROS ou indirectement par capture de métaux redox actifs (Finaud *et al.*, 2006b, Duarte *et al.*, 2007, Azzi *et al.*, 2007). Le NO traverse facilement les membranes et les lipoprotéines et possède une grande réactivité avec les ROS (Shils *et al.*, 2006 ; Azzi *et al.*, 2007).

2. MALADIES NECESSITANT UN EFFET BRONCHORELAXANT

2.1. L'asthme

L'asthme est une maladie inflammatoire chronique des voies aériennes au cours de laquelle interviennent de nombreuses cellules, en particulier mastocytes, éosinophiles et lymphocytes T. Cette inflammation entraîne des crises récurrentes, où l'on observe des difficultés respiratoires et une respiration sifflante et dont la gravité et la fréquence varient d'une personne à l'autre. Les symptômes sont associés à une obstruction bronchique. Cette inflammation entraîne une majoration de hyperréactivité bronchique à différents stimuli (Gina, 2011). Lors d'une crise d'asthme, la paroi des bronches gonfle, ce qui entraîne un rétrécissement de leur calibre et réduit le débit de l'air inspiré et respiré (Barnes, 2002). Les symptômes récurrents causent souvent des insomnies, une fatigue diurne, une baisse de l'activité. L'asthme a un taux de létalité faible, néanmoins 255 000 personnes sont mortes de l'asthme en 2005 (OMS, 2014). Ces événements sont généralement associés avec des obstructions généralisées du flux respiratoire ce qui peut être réversible de manière spontanée ou à la suite d'un traitement. Tout traitement doit reposer sur sa capacité de provoquer une bronchorelaxation permettant un soulagement au patient.

Des études histologiques de la muqueuse bronchique et l'analyse du liquide du lavage broncho-alvéolaire ont montré une augmentation du nombre de cellules pro-inflammatoires et de médiateurs dans les voies respiratoires des asthmatiques. Toutes les cellules à travers leurs sécrétions de médiateurs pré ou nouvellement formés, contribuent à établir et à maintenir l'inflammation asthmatique. Les cellules structurales des voies respiratoires comme les cellules endothéliales et épithéliales, les fibroblastes ou les cellules du muscle lisse contribuent au processus inflammatoire en libérant des médiateurs inflammatoires comme les cytokines ou les chimiokines (Barnes, 2002).

Les éosinophiles sont des cellules clé de l'inflammation dans l'asthme. Leur présence dans les voies aériennes et leur équipement riche en médiateurs sont responsables de la majorité des lésions observées. L'action cytotoxique de ses composants protéiques, protéine basique majeure (Major Basic Protein : MBP), peroxydase éosinophilique (eosinophile peroxydase : EPO), envers l'épithélium et les effets bronchoconstricteurs de ses médiateurs, le facteur d'activation plaquettaire (PAF), les leucotriènes cystényles, contribuent à l'activité pro-inflammatoire de ces cellules (Strek et Leff, 1997).

Les lymphocytes T jouent un rôle important dans l'initiation et le maintien de l'inflammation dans les voies respiratoires. Ils sont capables de moduler (amplification ou diminution) les réponses des autres cellules des voies aériennes par leur libération de cytokines, induisant la réponse allergique de l'asthme. Dans l'atopie la balance penche en faveur des cellules Th2 producteurs des interleukines IL-4, IL-5 et IL-13 (Corrigan et Kay, 1997, Kay 2003).

Les macrophages sont des cellules phagocytaires impliquées dans la phagocytose de débris cellulaires. A l'état normal, ils tapissent la surface épithéliale et alvéolaire. Chez l'asthmatique ils sont présents dans la muqueuse bronchique. Le macrophage sécrète des cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1, TNF α , IL-6 et IL-8 (Calhoun et Jarjour, 1997). Toutefois les macrophages peuvent aussi inhiber l'inflammation allergique par l'intermédiaire de la sécrétion de médiateurs inhibiteurs comme l'IL-10 (Barnes, 2002).

Les mastocytes sont quantitativement peu nombreux dans la muqueuse bronchique, mais ils sont présents en plus grandes quantités chez les asthmatiques allergiques et non allergiques (Shimizu et Schwartz, 1997 ; Nabe *et al.*, 2013). Ils sont très souvent en contact avec les cellules du muscle lisse et les terminaisons nerveuses sensibles. Le mastocyte, en libérant l'histamine stockée et en synthétisant rapidement des leucotriènes, est la cellule clé

qui enclenche la réaction immédiate en réponse à l'allergène. Il joue également un rôle dans l'asthme chronique car cette cellule produit et libère une large gamme de cytokines (IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 et GM-CSF) (Forsythe et Ennis, 1999 ; Kanbe *et al.*, 2000).

Les différents mécanismes de l'asthme et les cellules intervenant sont résumés dans la figure 7.

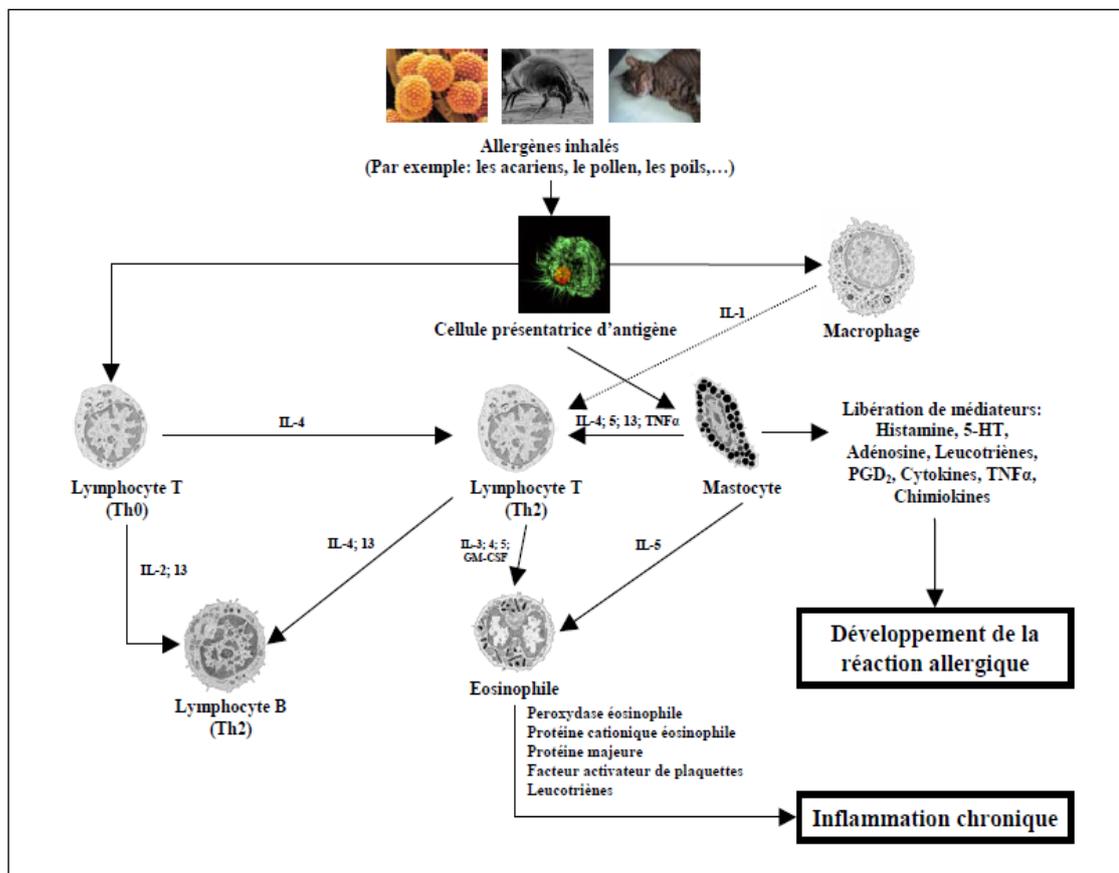


Figure 7 : Physiopathologie de l'asthme et les divers mécanismes et cellules y contribuant.

L'innervation des voies respiratoires est aussi importante dans la pathophysiologie de l'asthme. Les fibres efférentes du nerf vague sont distribuées au niveau des muscles lisses et des glandes bronchiques. Elles ont un rôle bronchoconstricteur et représentent le principal système de contrôle neurologique du tonus et des sécrétions bronchiques (Coulson et Fryer,

2003). Le fait que les antagonistes sélectifs des récepteurs muscariniques et cholinergiques démontrent une efficacité dans le traitement de l'asthme suggère que le nerf vague contribue aux symptômes. Au contraire les stratégies utilisées pour démontrer l'innervation des voies respiratoires n'ont pas prouvé leur efficacité et la question de l'implication des nerfs sensoriels dans l'asthme est ouverte (Belvisi, 2003).

L'écoulement micro-vasculaire est une autre composante importante de l'inflammation des voies respiratoires. Il peut être induit par une variété de médiateurs pro-inflammatoires et résulte en l'œdème des voies respiratoires (Persson 1997). L'exsudation plasmatique peut aussi fournir les substrats pour produire des médiateurs pro-inflammatoires comme la bradykinine (Ellis et Fozard, 2002).

L'hyperréactivité bronchique (HRB), ou l'hyperréactivité des voies respiratoires est une composante essentielle de l'asthme. Lors d'une augmentation de la sensibilité des voies respiratoires des asthmatiques à des stimuli broncho-constricteurs (immunologique, physiologique et/ou pharmacologique) qui sont essentiellement sans effet sur les non asthmatiques (Colasurdo et Larsen, 1995). Quelques broncho-constricteurs (l'histamine et la méthacholine) utilisés cliniquement pour détecter l'HRB agissent directement sur les voies respiratoires des muscles lisses mais d'autres stimuli dépendent de l'implication de mécanismes cellulaires ou neurogéniques (l'adénosine, la bradykinine, le sodium métabisulphite) conduisent indirectement à la contraction du muscle lisse (Joos, 2003).

L'inhalation de l'allergène par des asthmatiques atopiques résulte en une bronchoconstriction et jusqu'à 50 % des sujets asthmatiques présentent des signes d'une réponse biphasique. La réponse aiguë à l'allergène chez les asthmatiques atopiques se développe 10 minutes après l'inhalation de l'allergène, atteint un pic environ 30 minutes après la provocation et disparaît généralement dans les 1 à 3 heures qui suivent. La réponse tardive

à l'allergène constitue une seconde période de broncho-constriction qui commence environ 4 à 6 heures après l'exposition à l'allergène et peut durer jusqu'à plus de 12 heures (Durham, 1990 ; Weersink *et al.*, 1994). Le mastocyte est fortement impliqués dans la réponse obstructive précoce. Le mécanisme dépend de l'attachement des IgE à des récepteurs FcεR sur les mastocytes des voies respiratoires. L'arrivée d'un antigène spécifique provoque la dégranulation des mastocytes et la libération de divers messagers qu'ils contiennent (Siraganian, 2003). L'action des médiateurs préformés comme l'histamine et la tryptase, et des produits néoformés du métabolisme de l'acide arachidonique (prostaglandines et leucotriènes) et des cytokines comme le TNFα, l'IL-4 et l'IL-5 se manifeste par l'inflammation aiguë et les crises chez le patient. L'allergène peut aussi s'attacher à des récepteurs de faible affinité (FcεRII) sur les macrophages, les cellules dendritiques et les lymphocytes B. Dans l'activation du FcεRII des macrophages, il y a sécrétion de médiateurs spasmogéniques comme le TxA₂, des leucotriènes cystényls et du PAF en plus des radicaux oxygénés et des enzymes lysosomales (Towes, 1997).

2.2. Broncho-Pneumopathie-Chronique obstructive

La Broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) est une des maladies chroniques systématiques d'origine respiratoire, atteignant les bronches. Elle est caractérisée par une obstruction lente et progressive des voies aériennes et des poumons, associée à une distension permanente des alvéoles pulmonaires avec destruction des parois alvéolaires. La BPCO est très répandue et son impact en termes de santé publique est énorme. Elle touche 6% de la population mondiale et représente la quatrième cause de mortalité dans le monde (Lopez et Murray, 1998). L'ATS « American Thoracic Society » et l'ERS « European Respiratory Society » considèrent la BPCO comme une maladie caractérisée par une limitation obstructive partiellement réversible (< 15%) des débits aériens éventuellement

accompagnée d'une hyperréactivité bronchique. Cette insuffisance respiratoire s'installe progressivement et est associée à une réponse inflammatoire pulmonaire anormale à des particules ou des gaz nocifs (Figure 8). Le tabagisme constitue le facteur de risque majeur, impliqué dans plus de 80 % des BPCO (Gold, 2006 ; Barnes 2010).

Les manifestations cliniques comprennent une dyspnée d'effort d'apparition et de majoration progressive. L'association à une toux et une expectoration chronique traduit l'existence d'une bronchite chronique associée (Jeffery, 1998). La BPCO est marquée par des épisodes d'exacerbations, impliquant des pathogènes bactériens et/ou viraux dans 80% des cas (Sethi, 2004). La limitation des débits aériens ventilatoires résulte de deux mécanismes distincts, mais souvent associés : l'obstruction des voies aériennes (bronchite chronique obstructive) et la destruction du parenchyme pulmonaire (emphysème), (Barnes, 2000a).

L'obstruction des débits aériens chez les patients avec BPCO a été souvent considérée comme étant irréversible. Cependant, un nombre des patients atteints de la BPCO modéré à sévère répondent de façon efficace aux agents broncho-dilatateurs avec des changements significatifs dans la fonction pulmonaire (Brusasco, 2006). Actuellement, il a été bien admis que l'obstruction des débits aériens caractérisant la maladie BPCO soit en fait le résultat de deux composantes irréversible et réversible. La dysfonction du tonus cholinergique représente la voie majeure de l'obstruction réversible des débits aériens (Gross *et al.*, 1984 ; Brusasco, 2006). L'épaississement de la paroi des voies respiratoires et la perte des zones d'attachement entre les voies aériennes et le parenchyme sont les composantes de l'obstruction bronchique irréversible (Chung, 2005 ; Bergeron *et al.*, 2006). Ces changements structuraux irréversibles amplifient le tonus cholinergique bronchique (Brusasco, 2006 ; Barnes 2010).

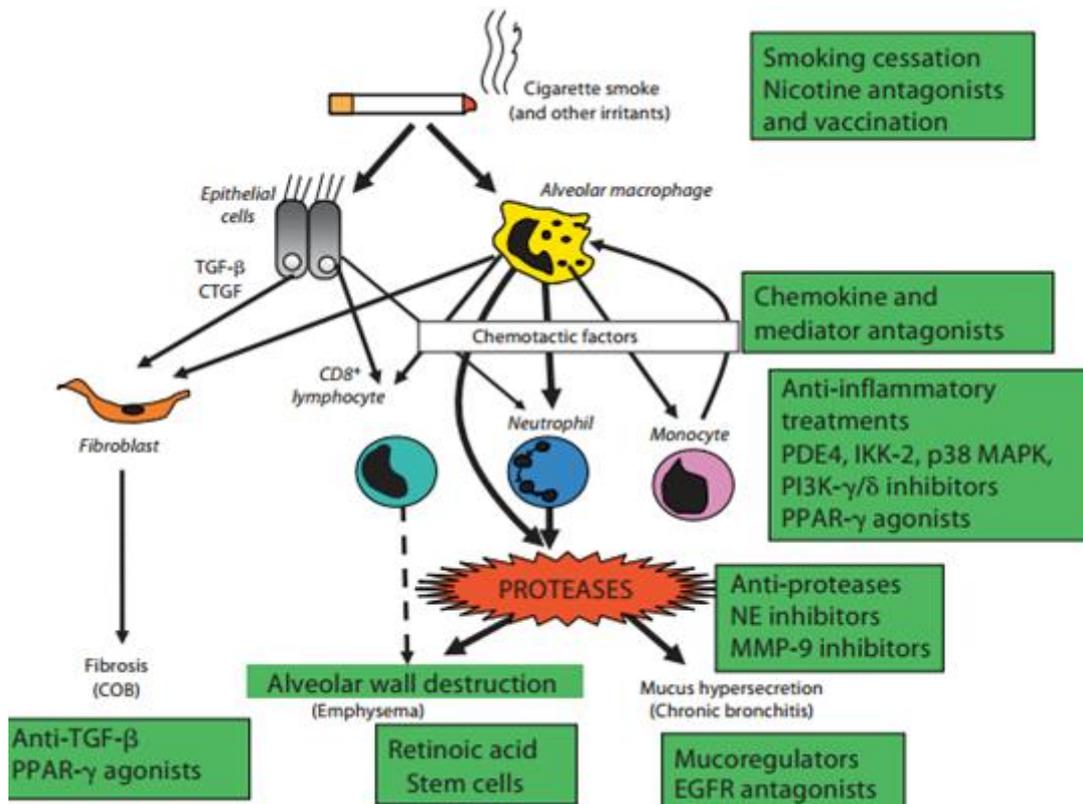


Figure 8 : Diverses causes des pathologies obstructives : bronchites chroniques obstructives, emphysème (Barnes, 2010).

2.2.1. Emphysème

L'emphysème correspond à une distension des espaces aériens et une destruction de leur paroi en aval de la bronchiole terminale. Ce processus de destruction, avec perte des zones d'attachement bronchiolo-alvéolaires est associé à une fibrose des cloisons inter-alvéolaires (Snider *et al.*, 1985 ; Snider, 1989 ; Barnes 2010). La destruction électorive de la bronchiole respiratoire caractérise l'emphysème centrolobulaire généralement associé avec le tabagisme. Tandis que, la destruction de l'ensemble de l'acinus à l'intérieur du lobule secondaire caractérise l'emphysème panlobulaire lié au déficit en $\alpha 1$ -antitrypsine (Kim *et al.*, 1991, Szilasi *et al.*, 2006). La perte des forces de rétraction élastique explique en partie le trouble ventilatoire obstructif par fermeture des petites voies aériennes lors de l'expiration,

limitant ainsi le VEMS. D'autres part, la distension des espaces aériens associée à la fermeture précoce des petites voies aériennes en fin d'expiration, entraîne une augmentation des volumes pulmonaires non mobilisables en fin d'expiration (Vlahovic *et al.*, 1999, Snider, 1986).

4. MALADIES NECESSITANT UN EFFET VASORELAXANT

De nos jours l'hypertension artérielle constitue l'un des problèmes majeurs de santé publique dans les pays développés et émergents. Il s'agit de la plus fréquente des affections cardio-vasculaires : on estime sa prévalence à environ 20 % de la population adulte.

Selon l'OMS, l'hypertension vient en deuxième position, après le tabagisme et avant l'alcoolisme, sur la liste des facteurs diminuant le nombre d'années de vie en bonne santé. Car toutes les études épidémiologiques menées depuis trente ans aboutissent à la même conclusion : l'hypertension artérielle augmente la morbidité et la mortalité cardio-vasculaires. C'est une cause directe ou un acteur de risque pour l'athérosclérose coronarienne, l'insuffisance cardiaque, l'hypertrophie ventriculaire gauche, l'endommagement de l'endothélium, les accidents vasculaires cérébraux, l'angine de poitrine, la diminution de réserve de vasodilatation coronarienne. Elle est par ailleurs une pathologie à part entière qui affecte principalement le cerveau, le cœur et les reins.

3.1. Vaisseaux sanguins

Les vaisseaux sanguins forment un réseau dense de transport du sang. Grâce à l'élasticité de leur paroi, ils permettent la conservation d'une pression suffisante pour une perfusion. Ils sont classés en artères, veines et capillaires selon le sens de la circulation sanguine. Les artères sont elles-mêmes divisés en deux types : les artères musculaires, comme l'artère mammaire et les artères élastiques, comme l'aorte. Les artères musculaires,

dites aussi artères de résistance, sont situées en périphérie. Elles jouent un rôle essentiel dans la perfusion de tous les tissus et le contrôle de la pression artérielle *via* la modulation de leur diamètre, en fonction des conditions. Les artères élastiques, dites aussi artères de compliance ou de gros calibre, sont situées près du cœur.

3.1.1. Structure de la paroi vasculaire

La paroi vasculaire est composée de trois couches ou tuniques concentriques distinctes : l'intima (interne) comprenant l'endothélium et l'espace sous endothélial, la média formée essentiellement de cellules musculaires lisses et l'adventice externe. Entre l'intima et la média se trouve une membrane souple : la limitante élastique interne, la limitante élastique externe sépare la média de l'adventice, (Figure 9).

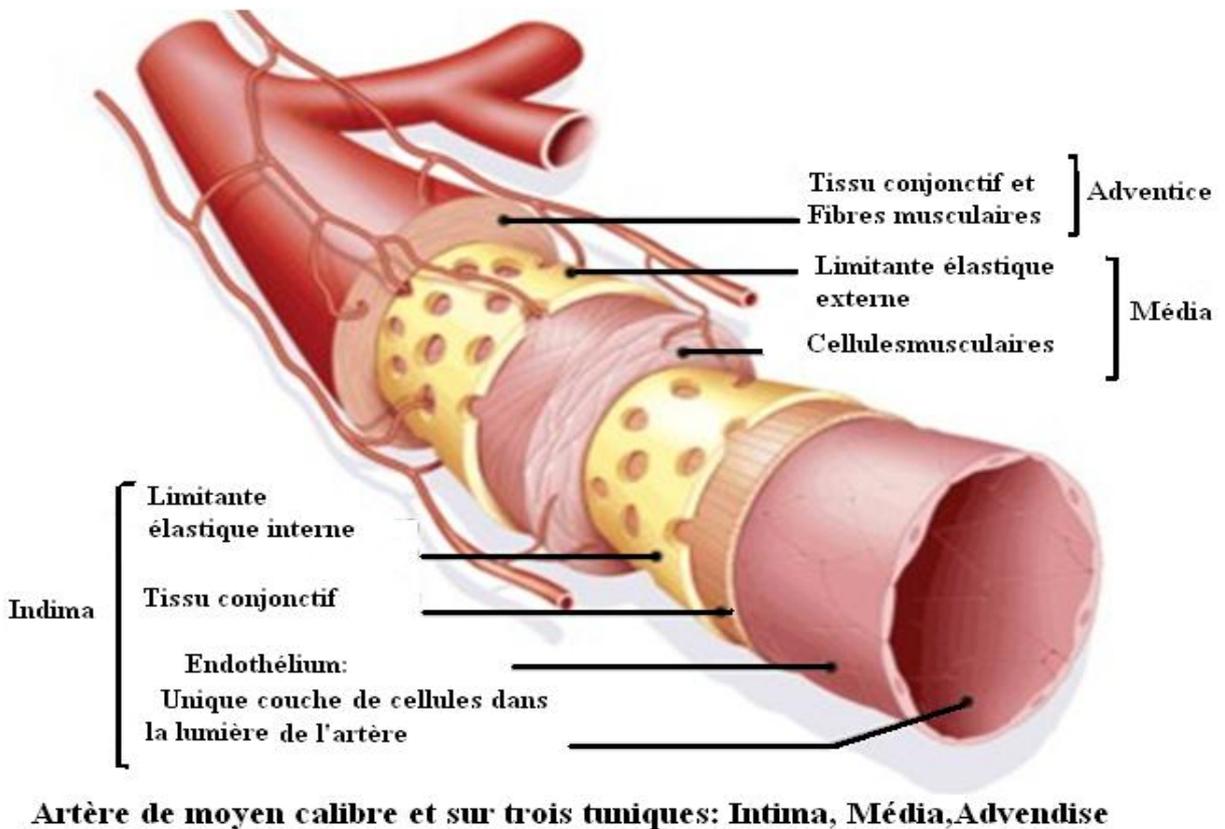


Figure 9: Structure de la paroi vasculaire. (Bruneval, 2003).

3.1.2 Mécanismes de contraction des cellules musculaires lisses

Le muscle lisse des vaisseaux sanguins présente une tension qui reflète à chaque instant l'équilibre entre facteurs vasoconstricteurs et vasodilatateurs. Les changements du tonus musculaire entraînent une variation du diamètre des vaisseaux modifiant ainsi leur résistance au flux sanguin. Dans le cas d'une contraction, une vasoconstriction survient et le tonus est augmenté. Dans le cas contraire, une vasodilatation est observée suivie d'une diminution du tonus vasculaire. Ces réponses sont contrôlées par divers facteurs mécaniques (étirement, compression, température, forces de cisaillement...) ou chimiques (hormones, neurotransmetteurs, agonistes...). La stimulation des CML par des agonistes vasoconstricteurs tels que l'endothéline, l'Ang II et la NA, induit une hausse de la concentration en Ca^{2+} intracellulaire (Savineau *et al.*, 1997, Lacolley *et al.*, 2007). Dans cette voie, les récepteurs de ces agonistes activent la phospholipase C par l'intermédiaire d'une protéine G de type Gq (Figure 10). A partir des phosphoinositides de la bicouche phospholipidique de la membrane, la PLC va former de l'inositol 1, 4, 5-triphosphate (IP3) et le diacylglycérol (DAG). L'IP3 et le DAG libérés vont ensuite se fixer sur des canaux calciques récepteurs à l'IP3 et au DAG, ce qui va ouvrir les canaux et ainsi libérer du calcium à partir du réticulum endoplasmique et de l'ouverture des canaux calciques, faisant entrer du calcium du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire. En réponse à la hausse de Ca^{2+} intracellulaire un complexe calcium/calmoduline se forme (une molécule de calmoduline pour quatre ions calciques) ce qui permet l'activation de la kinase des chaînes légères de la myosine (KCLM) et par conséquent la phosphorylation de la chaîne légère de la myosine. Cette phosphorylation permet la stimulation de l'activité ATPasique de la myosine par sa liaison et son pontage à l'actine, ce qui génère la contraction tonique de la CML. D'autre part, le DAG active aussi la protéine kinase C (PKC) en favorisant la phosphorylation des différentes cibles protéiques impliquées dans la contraction (caldesmone, calponine). La protéine kinase C stimule également d'autres activités cellulaires comme la mitose et les modifications phénotypiques (Figure 10).

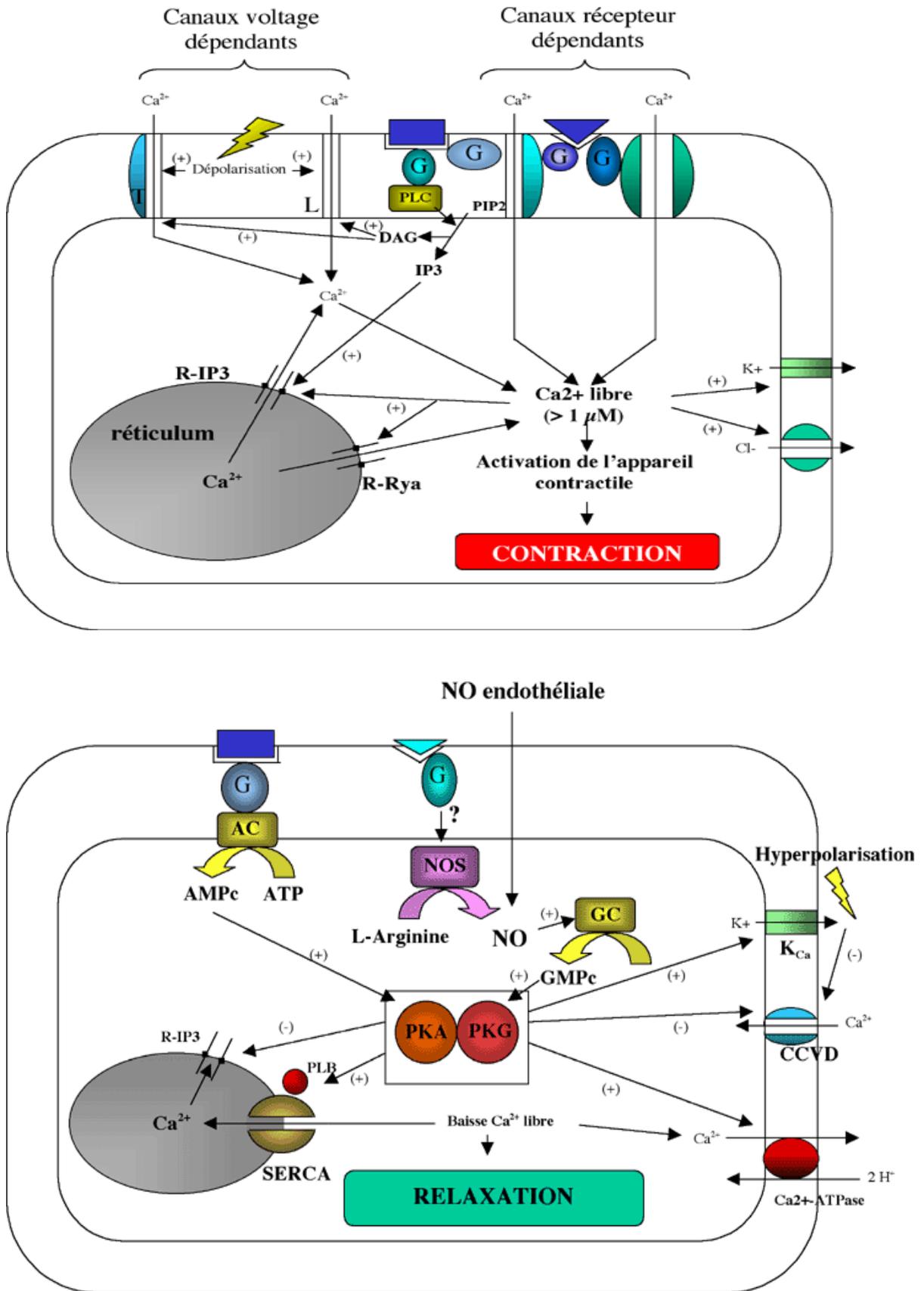


Figure 10 : Mécanisme de la contraction (A) et de relaxation (B) des CMLV (Frayon *et al.*, 2005).

L'AMPc et la GMPc stimulent respectivement, des protéines kinases A et G (PKA et PKG). Ces dernières provoquent l'expulsion à l'extérieur de la cellule, du calcium intracellulaire via l'activation de la pompe calcium ATP dépendante, et/ou par recaptage du calcium intracellulaire via l'activation des canaux « SERCA » ATPases dépendants et l'inhibition du canal inositol triphosphate dans le réticulum sacro-endoplasmique. Cette baisse de la concentration intracellulaire du calcium, provoque une désensibilisation de la KCLM au complexe calcium/calmoduline et une déphosphorylation des chaînes légères de la myosine suite à l'activation de leur phosphatase, générant ainsi la relaxation (Figure 10).

3.2. Inflammation de la paroi vasculaire

3.2.1. Réaction inflammatoire

L'inflammation est l'ensemble des mécanismes réactionnels de défense par lesquels l'organisme reconnaît, détruit et élimine toutes les substances qui lui sont étrangères. Les causes de l'inflammation sont nombreuses et variées : agents infectieux, substance étrangère, agent physique, lésion cyto-tissulaire post traumatique.....Dans la paroi vasculaire, la réaction inflammatoire se déroule principalement en 3 phases : La première phase est la reconnaissance et l'identification des agents pathogènes. Ces derniers peuvent être des bactéries exogènes ou endogènes. La destruction de la paroi bactérienne libère du lipopolysaccharide (LPS), des peptides ou des peptido-glycannes. Dans le cas des virus, le déclenchement de la réaction peut résulter d'interaction avec les protéines de la paroi virale. La seconde phase de l'inflammation met en jeu des systèmes protéolytiques plasmatiques et se déroule à proximité des vaisseaux. Ceux-ci activent les cellules endothéliales, les neutrophiles et les monocytes et augmentent la perméabilité vasculaire. La troisième phase implique le recrutement des cellules mononuclées d'origine circulante à l'endroit où se trouve l'agent pathogène. Elles vont libérer des cytokines et ainsi générer l'inflammation.

3.2.2. Pathologies liées à la paroi vasculaire

L'inflammation est impliquée dans plusieurs maladies au niveau de la paroi vasculaire, comme l'athérosclérose, l'anévrisme artériel, les varices et les vascularités. L'athérosclérose est une pathologie qui affecte les artères élastiques et musculaires les plus volumineuses. C'est un remaniement de l'intima, consistant en une accumulation locale des lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôt calcaires s'accompagnant de modifications du média (Ross, 1999). Différents acteurs cellulaires et moléculaires sont impliqués. La genèse de la plaque fait intervenir plusieurs stades évolutifs et différents types cellulaires de façons successives. L'évolution de la plaque peut conduire à des accidents cérébraux et des infarctus du myocarde. Du fait de la formation d'un thrombus entraînant une occlusion vasculaire. Il a été montré que les hémorragies intraplaques étaient le principal déterminant de la vulnérabilité des plaques (Takaya *et al.*, 2005) et de l'évolution de l'athéromatose vers ses complications cliniques. Des études ont montré qu'une partie du cholestérol non estérifié, présent dans les plaques coronaires, venait de membranes de globules rouges (Kolodgie *et al.*, 2003). D'autres plus anciens montraient que les membranes plaquettaires participaient également à l'accumulation du cholestérol dans les plaques. Ces hémorragies intraplaques sont en rapports avec le développement d'une néo-vascularisation fragile (Moreno *et al.*, 2003) et sont le moteur de la réponse inflammatoire qui se développe dans les plaques compliquées (Virmani *et al.*, 2006). Les trois causes de la formation du thrombus sont : la rupture, l'érosion ou la calcification de la plaque (Virmani *et al.*, 2006).

* La rupture ou fissuration de la plaque est l'événement le mieux caractérisé pouvant conduire aux accidents thrombotiques aigus (55 à 60 % des cas). Cette rupture stimule l'adhérence et agrégation plaquettaire. Sous l'effet de protéases sécrétées par des macrophages infiltrés, la fissuration de la plaque initie le contact du sang artériel avec le

centre lipidique menant ainsi à la formation d'un thrombus. Il a été postulé que l'amincissement de la chape fibreuse est une cause de la rupture de la plaque. Ces plaques sont appelées aussi plaques vulnérables. Dans ce cas, les quantités de cholestérol dans le noyau nécrotique, les densités de vasa vasorum et de macrophages chargés d'hémosidérine sont significativement plus importantes.

* L'érosion de la plaque peut entraîner une perte de l'endothélium au niveau de l'intima et provoquer une thrombose aiguë. Ceci représente 35% des cas de thrombose liés à l'athérosclérose. Virmani *et al.* (2006) ont spéculé que les vasospasmes coronaires pourraient être impliqués dans la physiopathologie de l'érosion. Les plaques érodées sont caractérisées par une média intacte et plus épaisse avec peu de macrophages et de lymphocytes.

* La calcification est le cas le moins fréquent (2 à 7 % seulement). Des phénomènes décalcifications permettent la formation de plaques fibrocalcaires avec la présence ou l'absence d'un noyau nécrotique. Ces lésions sont plus fréquentes dans les artères carotides que les coronaires et elles présentent souvent des hémorragies intra-plaques (Figure 11).

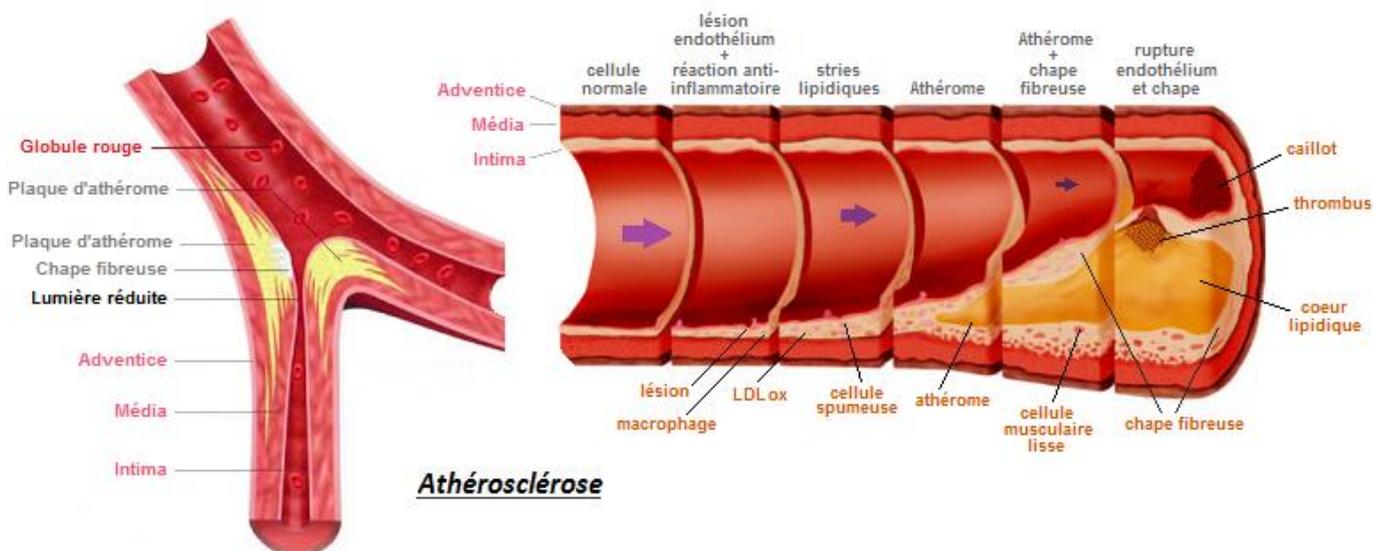


Figure 11 : Evolution de l'athérosclérose d'après Lamon *et al.* (2008)

Au niveau moléculaire, l'athérosclérose est souvent décrite comme une maladie inflammatoire (Ross, 1999 ; Libby *et al.*, 2008). En effet, le taux plasmatique de la protéine C réactive (CRP, C-réactive protein), un marqueur de l'inflammation, est élevé chez des patients atteints d'athérosclérose au niveau des artères coronaires (Burke *et al.*, 2002). Lors de faibles forces de cisaillement, les lipoprotéines de basse densité (LDL, low-density lipoprotein) vont s'infiltrer dans l'espace sous-endothélial où elles s'oxydent et déclenchent une réponse inflammatoire rapidement accompagnée d'un phénomène d'auto-amplification (Chait *et al.*, 2005). Ceci provoque le recrutement des cellules mononuclées d'origine circulante dans l'espace sous endothéliale sous l'action des substances chimioattractantes (Tedgui *et al.*, 2006). Au premier rang de ces substances se trouve la protéine chimioattractante monocytaire-1 (MCP-1, monocyte chemotactic protein-1), synthétisée par les CML et les cellules endothéliales (Berliner *et al.*, 1995). Certaines cytokines comme l'interleukine (IL)-8, semblent jouer un rôle important lors de la migration des cellules inflammatoires dans la paroi artérielle (Tedgui *et al.*, 2006 ; Lamon *et al.*, 2008).

Le recrutement de ces cellules augmente la production d'autres médiateurs tels que le facteur de nécrose tumorale (TNF, tumor necrosis factor) et l'IL-1 β . Ces derniers provoquent l'apparition à la surface des cellules mononuclées et endothéliales, de molécules d'adhésion appelées sélectines, intégrines, molécules d'adhésion intercellulaire (ICAM, inter-cellular adhesion molecules), et molécules d'adhésion des cellules vasculaires (VCAM, vascular cell adhesion molecules). Par ailleurs, l'inflammation va libérer un certain nombre de facteurs de croissance qui vont potentialiser à long terme, la migration et la prolifération des CML. Lors de ce processus, la captation par les macrophages *via* les récepteurs scavengers des LDL oxydées, aboutit à leur transformation en cellules spumeuses, riches en cholestérol estérifié. Ceci conduit à l'épaississement de la paroi artérielle et va donner naissance à la plaque d'athérosclérose.

3.3. Les plantes à effet vasodilatateur

Ojewole *et al.* (2007) ont étudié l'effet hypotensif de l'extrait aqueux de *Persea americana* Mill sur l'aorte thoracique et la veine porte, contracté par la noradrénaline. Il résulte de cette étude, que PAE causait une bradycardie, hypotension et une vasorelaxation. Celle-ci est dépendante de l'endothélium, donc de la synthèse et la libération d'oxyde nitrique. Les résultats de cette étude tendent à suggérer que les feuilles de PAE pourraient être utilisées comme un remède naturel supplémentaire dans l'hypertension et certains cas de dysfonctionnements cardiaques.

Ndiaye *et al.* (2010) ont prouvé un effet relaxant de l'extrait aqueux de feuille d'*Elaeis guineensis* Jacq sur un anneau d'artère coronaire de porc isolé. Les résultats indiquent que le potentiel vasodilatateur est dépendant de l'endothélium et qu'il est dû à la formation accrue de NO endothélial (Rios *et al.*, 2012) et des mécanismes dépendant des PI3-kinase. Gilani *et al.* (2010), ont aussi montré un effet vasodilatateur des racines de *Morinda citrifolia* L sur l'aorte de rat et de lapin. La relaxation est induite éventuellement par blockage des canaux calciques et expulsion à l'extérieur de la cellule, du calcium intracellulaire. Une autre étude (Galicia *et al.*, 2008) a révélé un effet vasorelaxant de *Laelia autumnalis* sur aorte thoracique de rat, par blockage des canaux calciques ainsi qu'une augmentation de la concentration de GMPc et un effet antihypertensive sur des rats hypertendus (Villarreal *et al.*, 2013).

Lee *et al.* (2004) ont observé, un effet relaxant de l'extrait brut du fruit de *Schizandra chinensis* sur l'aorte thoracique de rat, pré contracté par la norépinephrine. Cette relaxation est abolie par la dénudation de l'endothélium et par un prétraitement par un inhibiteur de la NO synthétase (L-NNA). L'extrait aqueux de feuille de *Croton schiedeanus*, (Guerrero *et al.*, 2001) s'avère posséder des effets antihypertensif dose- dépendante et une bradycardie chez le rat. Les aortes thoraciques de rat précontracté par KCl et soumis à différentes concentration

d'extrait s'avère avoir un haut potentiel vasorelaxant dose-dépendante (Wang *et al.*, 2013). Ho et Hong (2011), ont montré que l'acide salvianolique, qui contient une structure polyphénolique, est un puissant antioxydant. Il réduit le stress oxydatif intracellulaire et intravasculaire, protège les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses des artères, cardiomyocytes, et la forme de LDL du dommage causé par les radicaux libres et de la peroxydation. En outre, les acides salvianolique réduisent l'expression de l'adhésion des leucocytes sur les cellules endothéliales, par la régulation intracellulaire de l'activité de kinases. Une telle voie de signalisation de kinase contribue également à leur effet anti-inflammatoire. Ces acides possèdent une forte affinité pour lier la MMP-9, domaine SH2 de la famille Src kinases et CD36, qui inhibe l'interaction protéine- protéine.

L'extrait aqueux de *Mirabilis jalapa* L contient des substances cholinomimétiques, d'autant plus que les effets de *Mirabilis jalapa* sont en grande partie abolis par l'Atropine, un inhibiteur compétitif de l'acétylcholine (N'dia *et al.*, 2009). Des études effectuées par Koh *et al.*, (2007), ont montré que *Crotalaria sessiliflora* L induit une relaxation dose- dépendante sur des aortes précontractées avec de la phényléphrine (PE, 10^{-5} M). Cet effet disparaît à la suppression de l'endothélium fonctionnel. Le prétraitement des anneaux aortiques soit avec NG –nitro- L –arginine (L –NNA, 10^{-5} M) ou bleu de méthylène (10^{-5} M) réduit de façon significative l'effet relaxant de l'extrait. La relaxation a été associée à la production d' GMPc. L'extrait à (5 mg/ml) a augmenté la production de GMPc. Cet extrait a induit une augmentation dans le plasma la production de NO, et cet effet a été bloqué par la L- NNA. En outre, l'extrait produit une diminution dose-dépendante de la pression sanguine chez les rats normo-tendus. El-Hilaly *et al.* (2004), indiquent que l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* possède un effet relaxant in vitro, de l'aorte thoracique de rat précontracté par noradrénaline. Guerrero *et al.* (2002), ont évalué les effets antihypertenseurs et vasodilatateurs des extraits éthanoliques de *Calea glomerata* Klatt, *Croton schiedeanus*, *Schlecht*, *Curatella americana* L, *Lippia alba*

(Mill)n N.E.Br. et *Lupinus amandus*, les résultats montrent que *C. schiedeanus* et *Schlecht* provoque des effets antihypertenseurs et bradycardiques chez les rats hypertendus, une activité vasorelaxante des anneaux de rat isolé prétraitées avec une KCl 80 mM et phényléphrine à 10^{-6} M. Les canaux calciques semblent être impliqués. Herrera M.D *et al.* (1996), ont décrit les effets vasodilatateurs de sept flavonoïdes dans les anneaux aortiques de rats sur les contractions induites par la noradrénaline, KCl et le PMA dérivé d'ester de phorbol, la présence de liaison double C₂ – C₃ du cyclique augmente l'effet vasodilatateur. Le principal mécanisme de vasodilatation des flavonoïdes semble être l'inhibition de la PKC. Un effet inhibiteur de Ca²⁺ et de la biosynthèse des nucléotides cycliques peut également contribuer à l'action vasodilatatrice de ces flavonoïdes. Les études pharmacologiques effectuées par Madingou *et al.* (2012), sur l'aorte isolée de rat ont montré un effet vasorelaxant de *Guibourtia tessmannii* sur la contraction induite par l'adrénaline ou par KCl. *G. tessmannii* en particulier, peut représenter une source d'agents antihypertenseurs efficaces. Shish *et al.* (1999), ont sélectionné parmi 31 espèces quatre qui s'avèrent posséder un potentiel relaxant sur le muscle lisse de l'aorte thoracique pré-contracté par la norépinephrine (NE). Il s'agit de *Chamguava gentlei*, *Alseis yucatanensis*, *Licaria peckii* et *Nectandra salicifolia*.

Naseri *et al.* (2005), ont montré l'effet vasorelaxant de *Vitis vinifera* sur l'aorte de rat contracté par phényléphrine et KCl et suggèrent que le plus grand effet vasorelaxant de l'extrait des feuilles de *Vitis vinifera* sur l'aorte de rat est dépendante de l'endothélium et que l'oxyde nitrique (NO) et GMPc sont aussi impliqués. Ils suggèrent que l'extrait contient des antagonistes, des récepteurs l' α 1-adrénergiques. Kouakou *et al.* (2007) ont montré que *Bidens pilosa*, a provoqué une hypotension des effets relaxants dose-dépendant sur le muscle lisse aortique de rat. Il en résulterait en effet une diminution des résistances vasculaires. Mais cet effet hypotenseur de l'extrait aqueux brut de *Bidens pilosa* pourrait être aussi en relation avec les effets cardiopresseurs des principes cholinomimétiques contenus dans ce concentré de

source naturelle. Gorzalczany *et al.* (2013) ont montré l'effet vasorelaxant et antihypertensif de *Artemisia copa*. Les principales plantes étudiées pour leurs effets vasorelaxants sont résumées dans le tableau 1.

Tableau1 : Quelques plantes à activité vasorelaxante

Plantes	Parties utilisées	Famille	Extrait	Références
<i>Guibourtia tessmannii</i>	Ecorce de tige	Caesalpinaceae	Méthanol	Madingou <i>et al.</i> , 2012
<i>Allium sativum</i>	Bulbe ou tubercule	Liliaceae	Aqueux	Madingou <i>et al.</i> , 2012
<i>Musanga Ceropioides</i>	Ecorce de tige	Moraceae	Aqueux	Madingou <i>et al.</i> , 2012
<i>Cola acuminata</i>	Fruit	Sterculiaceae	Macération	Madingou <i>et al.</i> , 2012
<i>Morinda citrifolia</i> L	Racine	Rubiaceae	Ethanol	Gilani <i>et al.</i> , 2010
<i>Laelia autumnalis</i>	Plante entière	Orchidaceae	Méthanol	Galicia <i>et al.</i> , 2008
<i>Bidens pilosa</i>	Plante entière	Asteraceae	Aqueux	Kouakou <i>et al.</i> , 2007
<i>Elaeis guineensis</i> Jacq	Feuille	Arecaceae	Aqueux	Ndiaye <i>et al.</i> , 2010
<i>Schizandra chinensis</i>	Fruit	Illiciaceae	Aqueux	Lee <i>et al.</i> , 2004
<i>Croton schiedeanus</i>	Feuille	Euphorbiaceae	Aqueux	Guerrero <i>et al.</i> , 2001
<i>Mirabilis jalapa</i> L.	Plante entière	Nyctaginaceae	Aqueux	N'dia <i>et al.</i> , 2009
<i>Persea americane</i> Mill	Feuille	Lauraceae	Aqueux	Ojewole <i>et al.</i> , 2007
<i>Crotalaria sessiliflora</i> L	Partie aérienne	Ficoïdés	Ethanol	Koh <i>et al.</i> , 2007
<i>Ajuga iva</i> L	Plante entière	Labiatae	Aqueux	El-Hilaly <i>et al.</i> , 2004
<i>Chamguava gentlei</i>	Feuille, Ecorce	Myrtaceae	-	Sligh <i>et al.</i> , 1999
<i>Alseis yucatanensis</i>	Feuille, Ecorce	Rubiaceae	-	Sligh <i>et al.</i> , 1999
<i>Licaria peckii</i>	Ecorce	Lauraceae	-	Sligh <i>et al.</i> , 1999
<i>Nectandra salicifolia.</i>	Feuille	Lauraceae	-	Sligh <i>et al.</i> , 1999
<i>Vitis vinifera</i>	Feuille	Vitaceae	Hydroalcoolique	Naseri <i>et al.</i> , 2005

3.4. Les plantes à effet bronchodilatateur

Boskabady *et al.* (2004) ont montré un effet bronchodilatateur anticholinergique et antihistaminique des graines de *Nigella sativa* L sur la trachée de porc contracté par KCl, ceci est dû à un blocage des canaux calciques. Al-Jawad *et al.* (2012) ont montré sur une étude clinique, comparative entre utilisation *Nigella sativa* et *Anthemis nobilis* contre l'asthme bronchique chronique (ABC), qui se manifeste par des épisodes de broncho-contraction conduisant à l'essoufflement, de la toux, oppression thoracique, respiration sifflante et une fréquence respiratoire rapide. L'utilisation *Nigella sativa* s'avère plus efficace. D'autre part, Patel *et al.* (2009) ont mené une enquête sur des cobayes, une exposition à histamine et acétylcholine en aérosol a induit un asthme bronchique puis l'application de l'extrait aqueux de feuille de *Taxus baccata* a non seulement exercé une activité broncho-dilatatrice, mais aussi une diminution de l'hyperréactivité bronchique par diminution de l'infiltration de cellules inflammatoires dans les voies aériennes et l'inhibition de la libération d'histamine par les mastocytes. Des effets relaxants de l'extrait hydro-éthanolique de *Satureja hortensis* sur la trachée de cobayes ont aussi été observés (Boskabady *et al.*, 2007). Carvacol, qui est un des constituants de *Satureja hortensis* peut être responsable de ses effets relaxants sur la trachée. Le tableau 2 résume les principales plantes montrant un effet bronchorelaxant.

Tableau 2 : Quelques plantes à activité bronchorelaxante

Plante	Partie utilisée	Famille	Extrait	Références
<i>Nigella sativa</i> L.	Graines	Ranunculaceae	Aqueux	Al-Jawad <i>et al.</i> , 2012
<i>Anthemis nobilis</i>	Plante entière	Asteraceae	-	Al-Jawad <i>et al.</i> , 2012
<i>Taxus baccata</i>	Feuilles	Taxaceae	Aqueux	Patel <i>et al.</i> , 2009
<i>Satureja hortensis</i>	Feuilles	Lamiaceae	Ethanol	Boskabadi <i>et al.</i> , 2007

4. LA PLANTE MEDICINALE : *Capparis spinosa*

Capparis spinosa L, est une plante de la famille des *Capparidaceae* communément appelée le câprier El-Kabbar en Algérie. Le câprier est un arbrisseau de 1m de haut, aux tiges lignifiées à la base, vertes et flexibles plus haut, simples ou parfois ramifiées. Ses feuilles, presque rondes ou ovales, vertes ou glauques, sont alternes, munies à leur base de 2 stipules transformées en épines. Elles ont un court pétiole, un bord entier et une consistance charnue. Ses fleurs ont 4 sépales verts, des pétales blancs, de nombreuses étamines d'un rouge violacé et s'insèrent de façon singulière par un long pédoncule à l'aisselle des feuilles supérieures. Originaire des régions méditerranéennes, le câprier pousse sur les friches et les éboulis, sur les sols secs et caillouteux. La classification de cette plantes est comme suit :

Règne *Planta*

Sous règne *Tracheobionta*

Division *Magnoliophyta*

Classe *Magnoliopsida*

Sous classe *Dilleniidae*

Ordre *Capparales*

Famille *Capparaceae*

Espèce *Capparis spinosa*

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 l'Australie. Le câprier est cultivé pour ses boutons floraux appelés câpres au goût puissant. Il contient plus de 350 espèces utilisées pour différentes fins (alimentation, médecine, ornementation, cosmétique). Les bourgeons floraux, appelés également câpres, constituent la partie de la plante la plus

recherchée pour la consommation humaine. Les fleurs sont de couleur rosâtre, à quatre sépales, 4 pétales et plusieurs étamines groupées en touffes. Le fruit est une baie déhiscente, de 2 à 4 cm de long, de forme ovoïde et d'une couleur verte au début du grossissement et rougeâtre à maturité. (Satyanarayana *et al.*, 2008).

4.1. Historique

Originaires de la région méditerranéenne, les câpriers y sont encore spontanés dans les zones rocheuses. Les italiens ont été les premiers à parler de la culture du câprier et ce dès le 13^{ème} siècle. Les français l'ont connue vers 17^{ème} siècle. Quand aux espagnols c'est en 1875 qu'ils avaient commencé la production. Les marocains vers 1920 ont collecté et exporté sur les marchés les câpres. La culture de cette capparidacée remonte à l'antiquité (Noailles, 1965). Dans la Grèce ancienne la câpre est très prisée comme condiment. Le Maroc est le premier exportateur mondial de câpres. En 1983, un vaste programme de recherche et de développement financé par la CEE a été lancé en Italie. En revanche, en Algérie, le câprier n'est pas ou peu cultivé, mais la population rurale algérienne a tissé des liens solides avec cette plante, car elle présente de nombreuses propriétés thérapeutiques qui sont décrites minutieusement lors des enquêtes locales.

4.2. Situation géographique du câprier en Algérie

Capparis spinosa se trouve depuis les côtes atlantiques des îles Canaries et du Maroc jusqu'à la Mer Noire en Crimée et en Arménie et à la Mer Caspienne en Iran. Elle a été naturalisée dans de nombreux pays au climat méditerranéen, comme les États-Unis (Californie) et l'Australie. En France, on trouve des câpriers sur les murs et rochers bien exposés, en Provence, dans le Languedoc, le Roussillon et la Gironde. Il est produit dans

différents pays méditerranéen comme l'Algérie, Espagne, Italie, Grèce, Türkiye et Maroc (Benseghir-Boukhari et Seridi, 2007).

En Algérie, le câprier couvre de vastes surfaces mais de manière éparse. Il a été redécouvert depuis peu de temps par les forestiers qui ont alors engagé l'étude de son développement. Il peut être planté dans les espaces inaptes à l'agriculture, pour la reconstitution végétale des zones où on ne saurait faire pousser des espèces délicates. En effet, le câprier est doté d'un système racinaire très puissant qui mobilise des volumes importants de sous-sol. Cette caractéristique lui confère une forte tolérance à la sécheresse. Il a donc la particularité de se développer sur les sols les plus ingrats et sur de fortes pentes, d'où son intérêt écologique contre l'érosion dans les zones arides et semi-arides. Il est signalé dans les stations les plus xérophiles (Maire, 1965 ; Ozenda, 1983 ; Kadik, 1986). On a observé, lors de la campagne de terrain, que deux câpriers phénotypiquement différents peuvent être présents ensemble sur une même station, sans facteur de variation écologique. Des variétés moins épineuses intermédiaires à la variété inermis sont présentes, dont certaines semblent rarement donner des fruits. Les expositions Sud et Sud-est, les sols marneux et schisteux très fragiles, les rochers calcaires concentrent les plus importants peuplements de câpriers. Ils sont également présents sur les pentes argileuses, les terres légères, graveleuses et les sols sablonneux secs. Les tiges, les feuilles et les fruits sont teintés de rouge sur les sols schisteux, couleurs probablement liées aux anthocyanes. Le câprier s'accommode bien des sols les plus mauvais. D'un point de vue climatique, on le rencontre souvent dans les secteurs semi-arides et en second lieu dans le subhumide. Son cycle végétatif et son développement floral exigent un climat sec et chaud (Benseghir-Boukhari et Seridi, 2007).

4.3. Utilisations en médecine traditionnelle

Récemment, l'effet bénéfique des câpres en tant que plante condimentaire a été confirmé par des travaux de chimie alimentaire (Rivera *et al.*, 2003 ; Roméo *et al.*, 2007). L'efficacité thérapeutique des organes de la plante, s'inspirant des références d'ethnobotanique, semble donner des résultats pour des traitements anticancéreux et anti-inflammatoires naturels. De nombreux scientifiques de phytopharmacie mènent activement à l'heure actuelle des recherches sur la molécule de la plante (Rahmani *et al.*, 2013). Dans plusieurs pays, ce regain d'intérêts alimentaire et médicinal pour le câprier ainsi que pour la câpre est exprimé dans de nombreux travaux (Ali-Shtayeh et Abu Ghdeib, 1999 ; Bonina *et al.*, 2002 ; Eddouks *et al.*, 2004 ; Feng *et al.*, 2011 ; Al-Asady *et al.*, 2012 ; Argentieri *et al.*, 2012 ; Baghiani *et al.*, 2012 ; Boumerfeg *et al.*, 2012 ; Ji *et al.*, 2012 ; Ibrahim *et al.*, 2012).

L'écorce et les racines sont réputées être astringentes, diurétiques et surtout anti-diarrhéiques, Les boutons de fleurs sont utilisés comme laxatif et pour stimuler l'appétit (Satyanarayana *et al.*, 2008). Les écorces sont récoltées en automne et séchées pour un usage ultérieur. Les boutons de fleurs sont utilisés comme laxatif et pour stimuler l'appétit. En usage externe, ils servent à soigner les infections oculaires où ils servent à la prévention de la cataracte. Les feuilles, pliées, avec un peu d'eau ou frottées, sont utilisées en usage externe contre les piqûres d'insectes, l'urticaire (Satyanarayana *et al.*, 2008). On peut aussi frotter les feuilles sur les zones qui démangent. Les feuilles peuvent être utilisées comme expectorants. En cosmétique, un extrait des racines est utilisé pour le traitement des plaques rouges et la faiblesse capillaire (Satyanarayana *et al.*, 2008).

4.4. Effets biologiques de *Capparis spinosa*

Le p-méthoxy benzoïque isolé de la fraction méthanolique, d'extrait aqueux de *Capparis spinosa*, a montré une activité hépato-protectrice (Gadgoli et Mishra, 1999) et une activité antifongique *vis-à-vis* des dermatophytes (Ali-Shtayeh et Abu Ghdeib, 1999). Les feuilles de *Capparis spinosa* L ont été utilisées contre l'arthrite au lieu de l'écorce de racine (Stickel *et al.*, 2000 ; Kloutusos *et al.*, 2001). L'extrait méthanolique du bourgeon floral protège les phospholipides des membranes cellulaires contre la peroxydation induite par l'exposition aux rayons UV_B et apporte une protection significative contre des érythèmes cutanées chez des l'homme. Bonina *et al.* (2002) ont montré un effet hypoglycémiant à 20 mg/kg de l'extrait aqueux. Cette activité pharmacologique est indépendante de la sécrétion d'insuline. (Yaniv *et al.*, 1987 ; Eddouks *et al.*, 2004). Une autre étude a montré que l'extrait aqueux de *Capparis spinosa* à 20 mg/kg présente une activité puissante sur la diminution des triglycérides et le cholestérol plasmatiques dans chez les rats diabétiques et normaux (Eddouks *et al.*, 2005).

Dans une étude sur des cochons d'Inde, la prise d'extrait de *Capparis spinosa*, administré par voie orale, a protégé les animaux contre le bronchospasme induit par la libération d'histamine. Cet effet a été confirmé chez des sujets volontaires : l'application d'extrait de *Capparis spinosa* sur la peau une heure avant celle d'histamine a inhibé l'érythème cutané induit par histamine (Trombetta *et al.*, 2005). L'effet protecteur de l'extrait méthanolique du bourgeon floral des câpres, était probablement du à un mécanisme indirect (inhibition de la libération de médiateurs à partir des mastocytes ou la production de métabolites de l'acide arachidonique (Trombetta *et al.*, 2005). La câpre est connue en région méditerranéenne pour son emploi dans l'hypertension, dans le traitement des pathologies liées aux lipides sériques et pour ses effets diurétiques (Zeggwagh *et al.*, 2007). L'expérience a été

menée par Panico *et al.* (2005) sur un extrait méthanolique lyophilisé des boutons floraux de câpres sur les chondrocytes stimulés par une cytokine l'interleukine-1bêta. L'extrait de câpre est en effet capable de s'opposer aux effets de l'IL-1bêta, et ce plus fortement que l'indométacine. Les auteurs estiment que l'extrait de câpre devrait être essayé en clinique pour vérifier son effet anti-arthrosique. L'effet anti-inflammatoire au niveau des chondrocytes de *Capparis spinosa* L, mérite une attention particulière. Cette plante contient des flavonoïdes comme le kaempférol et les dérivés de la quercétine, ainsi que des acides hydrocinnamiques qui sont connus pour leurs effets anti-inflammatoires et antioxydants (Panico *et al.*, 2005).

L'extrait éthanolique d'écorce de racine a révélé des effets hépato-protecteurs dose-dépendants contre des lésions provoquées par le CCl₄ (Aghel *et al.*, 2007). L'extrait aqueux des fruits a montré un effet diurétique accompagné d'une augmentation de la concentration de Na⁺, K⁺ et Cl⁻ dans les excréments urinaires du rat (Zeggwagh *et al.*, 2007). 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).

L'extrait méthanolique du bourgeon floral de *Capparis spinosa* peut être utile dans le traitement d'infections à Herpès simplex de type II chez les patients immunodéprimés puisqu'il est doté de propriétés antivirales et immuno-modulatrices (Arena *et al.*, 2008). *Capparis spinosa* possède d'autres activités : anti-Leishmania (Jacobson et Schlein, 1999), antimicrobienne (Mahasneh, 2002) et inhibitrices de la prolifération des fibroblastes et la production du collagène type 1 dans la sclérose systémique progressive (Cao *et al.*, 2008). Une protéine purifiée des grains de *Capparis spinosa*, possède un effet anti-proliférateur des cellules HepG2 (hépatome), des cellules HT29 (cancer du colon) et des MCF-7 (cancer du sein), (Lam et Ng 2008). Un effet antifongique inhibiteur de la transcriptase reverse de HIV-1 a été trouvé par Lam et Ng (2008). Matsuyama *et al.* (2009) ont rapporté que l'extrait de feuilles de *Capparis spinosa* peut stimuler la mélanogénèse d'une manière dose-dépendante

sans cytotoxicité en augmentant l'expression de la protéine tyrosinase, soit le potentiel d'être utilisé comme un agent de bronzage ou pour le traitement de la dépigmentation de cheveux.

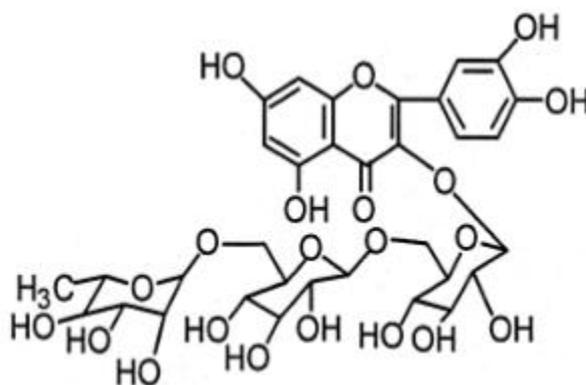
Sultan et Çelik (2009) ont évalué les effets génotoxiques et antimutagènes du boutons de fleurs sur les cellules L de méristèmes de pointe de racine d'*Allium cepa*. Un retard de croissance, une diminution significative de l'indice et des aberrations chromosomiques ont été observées dans la mitose des cellules. Ces effets sont dose dépendants. Les résultats de cette étude suggèrent que les extraits aqueux du bourgeon n'est pas génotoxique. Cependant, l'étude révèle que l'extrait aqueux de *Capparis* a un potentiel antimutagène contre les aberrations chromosomiques induites (Sultan et Çelik 2009). Enfin, Zhou *et al.* (2011) ont montré un effet inhibiteur du NF-kappa B par un biflavonoïde extrait des fruits de *Capparis spinosa*.

4.5. Etude phytochimique

La stachydrine alcaloïdes a été isolé des racines et feuilles de *Capparis spinosa* (Mukhamedova *et al.*, 1969). Treize glycosides flavonoïdes ont été isolés et identifiés de la partie aérienne de trois espèces de *Capparis* : kaempférol 7-rhamnoside, kaempférol 3-rutinoside, kaempférol 3,7-dirhamnoside, kaempférol 3-glucoside-7-rhamnoside, kaempférol 3-rhamnoside-7-glucoside, quercétine 7-rhamnoside, la quercétine 3-rutinoside, la quercétine 7-rutinoside, la quercétine 3,7-dirhamnoside, la quercétine 3-glucoside-7-rhamnoside, isorhamnétine 3-rutinoside, isorhamnétine 3,7-dirhamnoside et l'apigénine 6,8-di-C-glucoside (Sharaf *et al.*, 1997). Deux nouveaux hétérosides ont été identifiés dans les fruits mûres de *Capparis spinosa*; 1H-indole-3-acetonitrile capparilosides A et B, il s'agit du 1-H-indole-3-acetonitrile 4-O- β glucopyranoside et 1-H-indole-3-acetonitrile 4-O- β (6'-O- β glucopyranosyl) –glycopyranoside. (Ihsan 1999). Dans les câpres le contenu de la quercétine 3-rutinoside, kaempférol 3-rutinoside, et du kaempférol 3-rhamnosyl-rutinoside ainsi que les

aglycones (quercétine et kaempférol) ont été évalués par HPLC et ont montré que 10 g de câpres fournissent 65 mg de flavonoïdes glycosides dont 40 mg de quercétine (Inocencio *et al.*, 2000).

En plus de la rutine, la quercétine 3-O-glucoside et la quercétine 3-O-glucoside-7-O-rhamnoside, l'extrait méthanolique des parties aériennes de *Capparis spinosa* renferme un autre flavonoïde, la quercétine 3-O-[6'' α -L-ri-rhamnosyl-6'' β -D-glucosyl]- β -D-glucoside. (Sharaf *et al.*, 2000).



De plus, le 6-hydroxy-3-oxo-a-ionol glycosides avec corchoionoside C (6S, 9S) – roseoside et un glycoside prényl ont été isolés des fruits de *Capparis spinosa* (Çalis *et al.*, 2002). Les flavonoïdes glycosylées comme la Rutine, la Quercetine-3-rutinoside (Giuffrida *et al.*, 2002), le kaempferol -3-rutinoside, la Quercetin -7-0-glucorhamnoside (Artemva *et al.*, 1981) ont été isolés à partir de *Capparis spinosa*, et à partir de l'extrait éthanolique des parties aériennes le flavonol glycosilé Quercetin-7-0-B-D-glucopyranoside β -L-Rhamnopyranoside était identifié (Tomas et Ferres, 1976). Egalement, huit composés ont été isolés à partir des fruits de *Capparis spinosa* par des méthodes chromatographiques et leurs structures ont été établies par méthodes spectroscopiques comme β -sitostérol (1), l'acide vanillique (2), acide p-hydroxybenzoïque (3), l'acide protocatechuric (4), daucosterol (5), l'uracile (6), l'acide butanedioïque (7) et l'uridine (8), respectivement. Yu *et al.* (2006).

Ahmed *et al.* (2007) ont démontré la présence de glucoiberin, glucocapparin, sinigrine, glucocleomin, glucobrassicine et glucocapangulin. En 2007, un nouveau alcaloïde, la Cadabicine a été isolé à partir de *Capparis Spinosa* (Ahmed *et al.*, 2007). D'autres constituants sont connus dans l'extrait du *Capparis spinosa*, tel que : glucosinolates, glucocapparins, triterpenoïdes (α -amyrin) qui sont présents dans plusieurs espèces, stérols, β -carotène, saponins (Panico *et al.*, 2005, Satyanarayana *et al.*, 2008).

Trois nouveaux spermidines alcaloïdes ; capparispine, capparispine 26-O- β -D-glucoside et cadabicine 26 -O- β -D-glucoside hydrochloride ont été isolés à partir des racines de *Capparis spinosa* (Fu *et al.*, 2008).

Argentieri *et al.* (2012) ont montré que l'huile de graines est riche en lipides insaturés et rares tels que l'acide cis- vaccénique, le glucosinolates principale est glucocapperin. Mahdavi *et al.* (2013) ont étudié la composition des graines de *Capparis spinosa* qui s'avèrent très riche en ω 6 et ω 9 dont l'acide oléique, l'acide linoléique, ainsi que l'acide cis vaccénique et palmitique.

***MATERIELS
ET METHODES***

1. MATÉRIELS BIOLOGIQUES

1.1. Réactifs

Phényléphrine (PE), Acétylcholine chloride (Ach) Sigma Aldrich, NaCl, KCl, MgSO₄·7H₂O, KH₂PO₄, CaCl₂, NaHCO₃, glucose et pentobarbital de sodium proviennent de Sigma Aldrich. Quercétine, Rutine, acide Gallique, AlCl₃, K₃Fe(CN)₆, FeCl₃, Gomme arabique, 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), β-carotène, acide linoléique, ButylHydroxyToluène (BHT) (2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol ou 2,6-bis(1,1-diméthyléthyl)-4-méthylphénol), Férozine (3-(2-pyridyl)-5,6-bis(4-phényl-sulfonic-acid)-1,2,4-triazine), FeCl₂ et Tween 40 proviennent tous de Sigma-Aldrich, les autres réactifs et solvants (méthanol, chloroforme,) ont été obtenus de Prolabo et de Organics (Allemagne). HBSS (Hank's Balanced Salt modified avec rouge de phénol et bicarbonate de sodium, Sigma) DMEM modifié DMEM (Dulbeco's Modified Eagle's Medium, Sigma), SVF (Sérum de Veau Foetal Sigma), EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique), DMSO (Diméthylsulfoxyde), HEPE : 2-[4-(2-hydroxyéthyl) piperazin-1-yl] éthanesulfonic-acid, Rouge Neutre, Bleu de Trypan, Diétyléther, Collagénase de *Clostridium histolytium*, Trypsine du Pancréas de porc et le mélange d'antibiotiques Pénicilline-Streptomycine-Néomycine (Sigma, Allemagne).

1.2. Plante

Capparis spinosa (El Kabbar) (Capparidaceae), a été recueilli dans la région de Béni-Aziz, dans la wilaya de Sétif au nord-est de l'Algérie entre Mai et Juillet 2009, et authentifié par le Pr H. Laouer (Université Ferhat Abbas, Sétif). Un Voucher spécimen a été déposé au Laboratoire de Botanique, Département de Biologie Végétale et Ecologie, Faculté des

Sciences de la Vie et Nature Université Sétif 1. La figure 12 présente les différentes parties de la plantes utilisées dans notre étude.

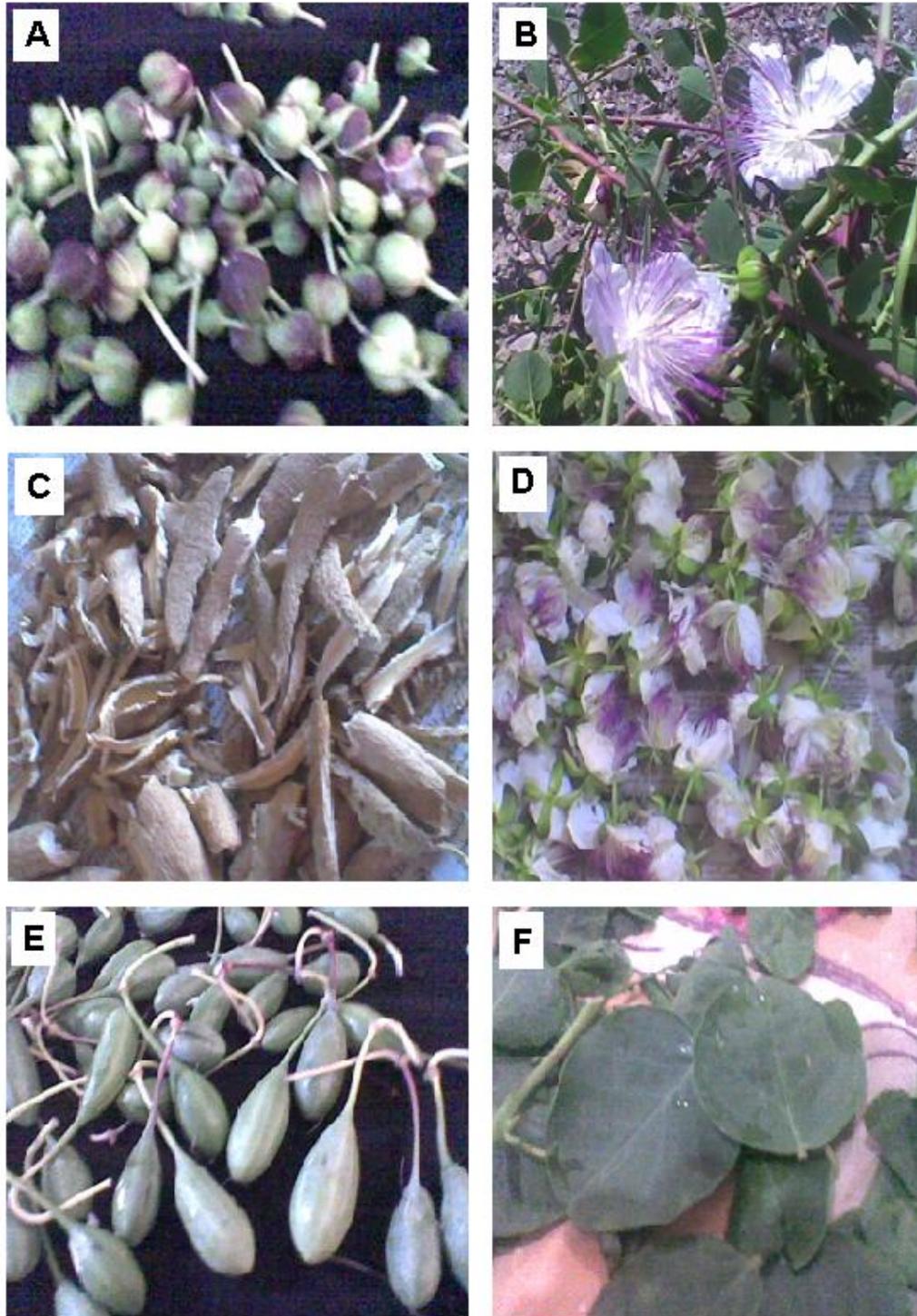


Figure 12 : Différentes parties de *Capparis spinosa* utilisées. A : Boutons floraux, B : Plantes entière, C : Ecorce de racine, D : Fleurs, E : Fruits, F : Feuilles.

Les parties de la plante utilisées sont les feuilles, l'écorce de la racine, les racines, les tiges, les boutons floraux (câpres), les fruits (câprons) et les fleurs. La récolte est effectuée en période de floraison, (maturité). Après la récolte, la plante est séchée à l'ombre broyée en poudre puis mise à macération.

1.3. Rats

Le modèle animal choisi est le rat blanc, *Wistar albinos*. Des rats mâles de 8 à 12 semaines, en bonne santé de 250-300 g utilisés dans cette expérience ont été fournis par la Faculté de Médecine, Laboratoire INSERM U698 CHU Xavier Bichat, Paris. Ils sont maintenus à une température constante de $24^{\circ}\pm 1^{\circ}$, avec un cycle de lumière / obscurité de 12 H.

2. METHODES

2.1. Extraction méthanolique

La méthode de Markham (1982) était suivie pour l'extraction des fractions riches en polyphénols en utilisant le méthanol. Suivant cette méthode, 100 g de la poudre des différentes parties de *Capparis spinosa* ont été complétés à 1 litre par le méthanol 85 % dans l'eau distillée. Le mélange a été soumis à une agitation pendant une semaine à température ambiante, puis laissé reposer quelques heures. La fraction flottante a été par la suite filtrée sur laine de verre, puis sur verre fritté N° 03 pour obtenir le filtrat (1). L'extraction a été répétée une deuxième fois où le précipité a été complété à 1 litre par le méthanol 85 % pour obtenir le filtrat (2) qui a été mélangé avec le filtrat (1). Le mélange a été filtré pour la dernière fois sur papier filtre et soumis à une évaporation rotative à 40 °C utilisant un rotavapor ((Büchi, Allemagne) pour obtenir l'extrait brut qui était conservé à - 20 °C jusqu'à son utilisation (Figure 13).

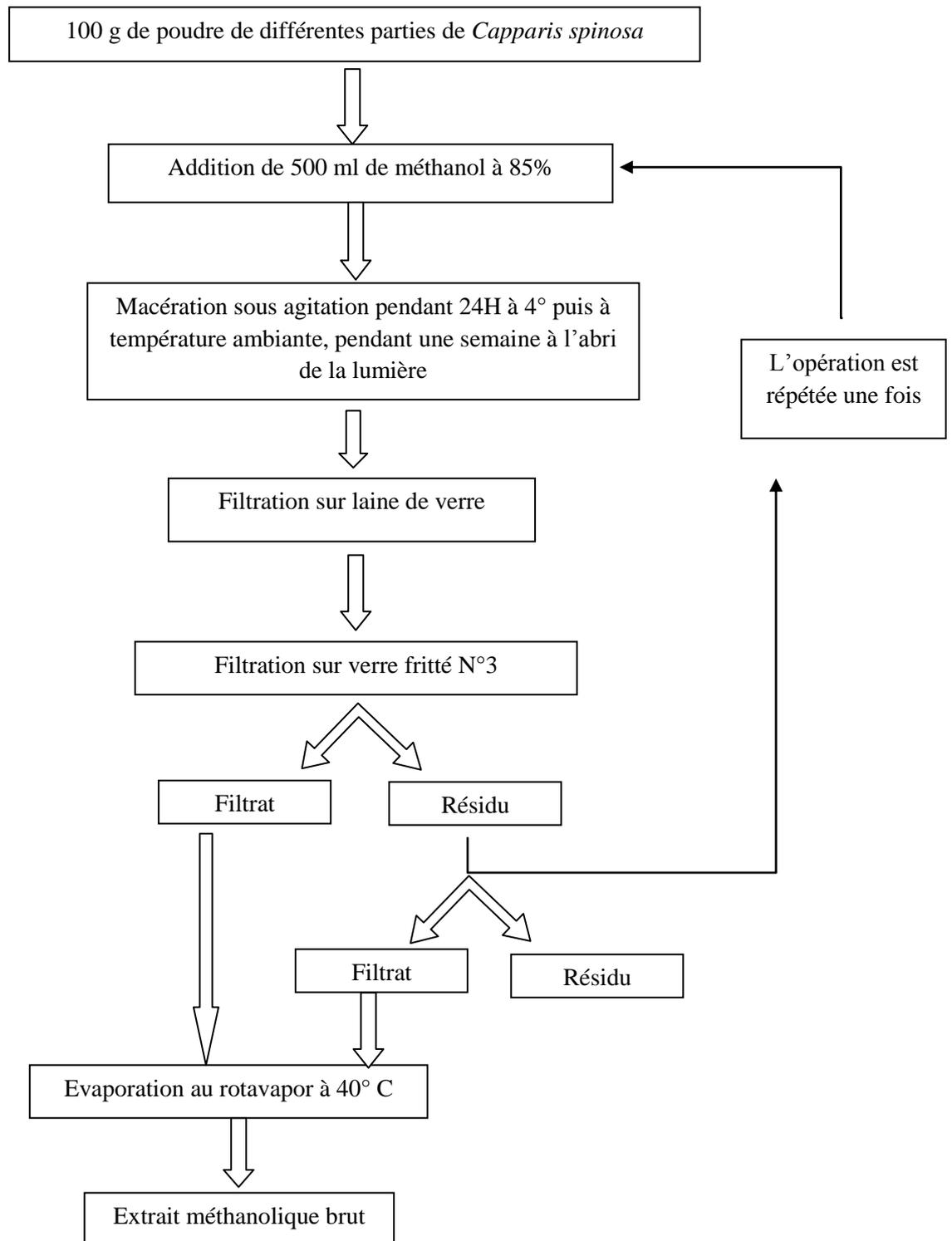


Figure 13 : Protocole de préparation de l'extrait méthanolique des différentes parties de *Capparis spinosa* (Markham, 1982 ; Zabri *et al.*, 2008).

2.2. Extraction aqueuse

Cent grammes (100 g) de la poudre sèche, de chacune des différentes parties de la plante ont été mélangés à 1000 ml d'eau distillée, chauffés pendant 15 mn puis mis en agitation pendant 24 heures à 4 °C (Ateyyat *et al.*, 2009 ; Bouzid *et al.*, 2011). L'extrait aqueux était ensuite filtré sur millipore 0,45 µm pour éliminer les particules. Le filtrat est lyophilisé (lyophilisateur Phywe Chrisa) pendant 18 heures. Le lyophilisat est pesé pour estimer le rendement et conservé à -20°C jusqu'à son utilisation.

2.3. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux de l'extrait méthanolique et aqueux de *Capparis spinosa* a été effectué selon la méthode au bleu de Prusse (Price and Butler, 1977) modifiée par Graham (1992) pour donner une meilleure stabilité de la couleur. La différence entre la méthode originale et la méthode modifiée réside dans l'utilisation du FeCl₃ à la place du FeNH₄(SO₄)₂ comme second réactif. Cette technique est basée sur le principe d'oxydation du ferricyanide de potassium, K₃Fe(CN)₆ par les polyphénols pour donner les ions ferreux (Fe²⁺), ces derniers réagissent avec le chlorure de fer (FeCl₃) et donne le complexe bleu de Prusse qui absorbe à 700 nm. Brièvement, 0.1 ml de l'extrait dilués dans le méthanol a été ajouté à 3 ml d'eau distillée. Après agitation, 1 ml du K₃Fe(CN)₆ (0.016 M) puis 1 ml du FeCl₃ (0.02 M dans HCl 0.1 N) ont été ajoutés successivement avec un intervalle d'une minute. Après 15 minutes, 5 ml de la solution stabilisante (contenant 30 ml de Gomme Arabique 1 %, 30 ml d'acide phosphorique 85 % et 90 ml d'eau distillée) ont été ajoutés et l'absorbance a été mesurée à 700 nm. La concentration des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (0 – 200 µg/ml) et exprimée en milligrammes équivalents d'acide gallique par grammes du poids sec de l'extrait (mg EAG/g Extrait), (Figure 14).

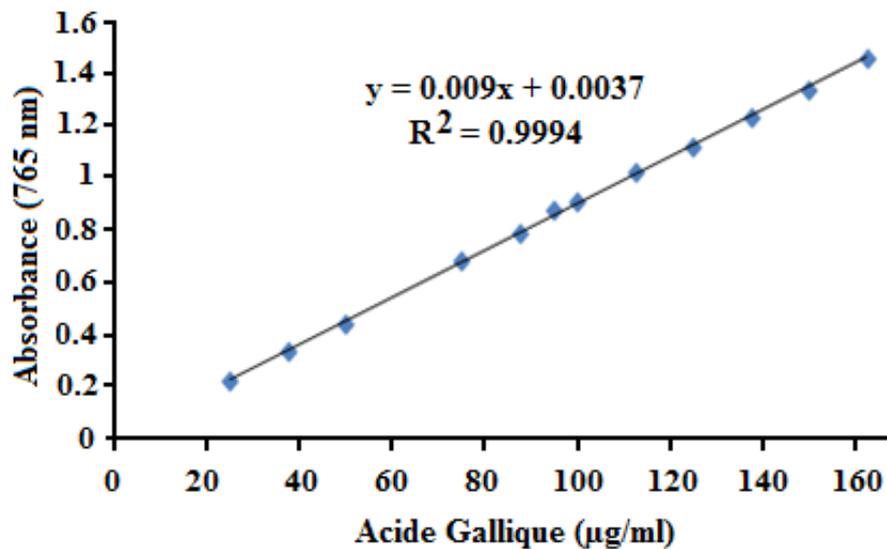


Figure 14 : Droite d'étalonnage utilisée pour le dosage des polyphénols totaux par la méthode au bleu de Prusse modifiée par Graham (1992).

2.4. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes de l'extrait de *Capparis spinosa* ont été quantifiés par la méthode au trichlorure d'aluminium (Bahorun *et al.*, 1996). Un ml de chaque échantillon (préparé dans le méthanol ou dans l'eau distillée) a été ajouté à 1 ml de la solution d' AlCl_3 (2 % dans le méthanol). Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance a été lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique a été calculée à partir de courbe d'étalonnage établie avec la rutine et la quercétine (0 – 40 µg/ml de chacune dans le méthanol) et exprimée en milligramme d'équivalent quercétine par gramme du poids d'extrait (mg ER ou EQ / g Extrait), (Figure 15).

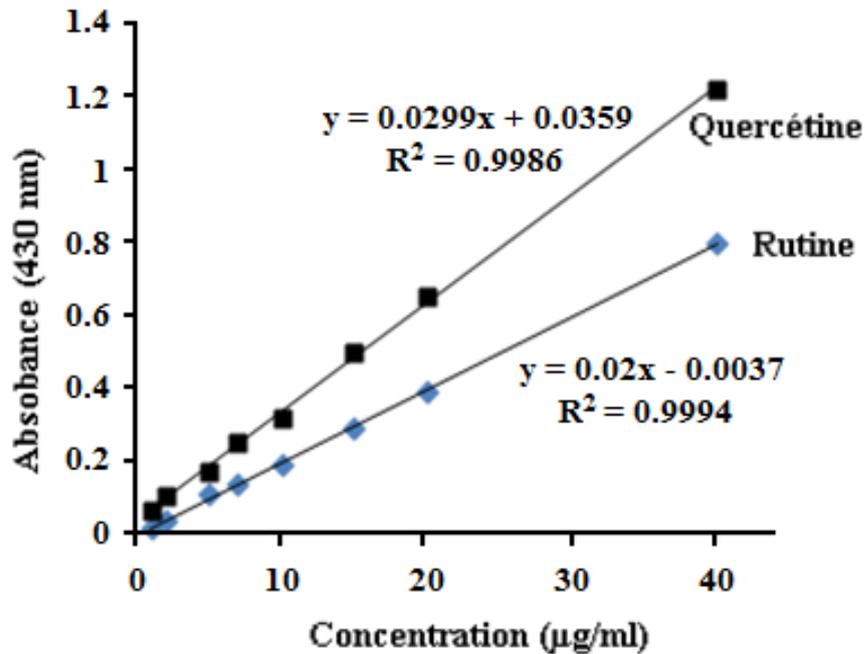


Figure 15 : Droite d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes par la méthode de Bahorun *et al.* (1996).

2.5. Activité antioxydante in vitro

Les extraits sont testés pour évaluer leur capacité antioxydante, deux différents tests d'évaluation sont utilisés, à savoir le test du DPPH qui permet de déterminer l'effet scavenger, le système β -carotène/acide linoléique qui détermine le pouvoir réducteur.

2.5.1. Evaluation de l'effet scavenger du radical DPPH

L'activité anti-radicalaire des différents extraits de *Capparis spinosa* a été évaluée, *in vitro*, par le test de DPPH. Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, et qui vire au jaune, en présence des capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine

(Cuendet *et al.*, 1997 ; Burits et Bucar, 2000). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. Cinquante (50) µl 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 BHT pris comme antioxydant de référence. Le pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH par les extraits *Capparis spinosa* a été calculé comme suit :

$$\% I = \left[\frac{(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}})}{A_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

La concentration inhibitrice de 50 % de l'activité du DPPH (IC₅₀) de chaque extrait a été par la suite calculée à partir de l'équation qui détermine le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur. Elle a été exprimée en µg / ml et comparée avec celle du BHT, (Figure 16).

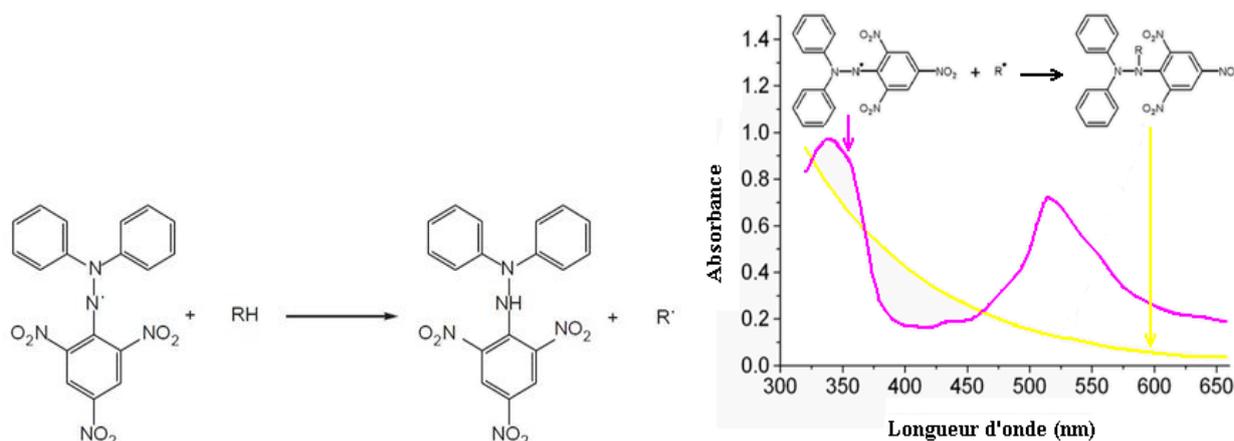


Figure 16 : A : Réduction du DPPH par un antioxydant (RH). B : Diminution de l'intensité de la couleur du DPPH en fonction de la concentration des substances antiradicalaires dans le milieu.

2.5.2. Test de β -carotène / acide linoléique

L'activité antioxydante des extraits de *Capparis spinosa* a été étudiée par le test au β -carotène / acide linoléique. Cette méthode est basée sur la capacité des extraits à inhiber la formation des hydroperoxydes diène conjugués durant l'oxydation de l'acide linoléique (Barriere *et al.*, 2001 ; Aslan *et al.*, 2006).

Une solution de β -carotène / acide linoléique a été préparée comme suit : 0.5 mg de β -carotène a été dissous dans 1 ml de chloroforme, ensuite 25 μ l d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40 ont été ajoutés. Le chloroforme a été évaporé à 40° C à l'aide d'un rotavapor. 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène (100 ml / min pendant 30 min) ont été ajoutées au mélange avec agitation vigoureuse. Le mélange réactionnel a été par la suite réparti en aliquotes de 2.5 ml dans des tubes à essai, et 350 μ l de chacun des extraits de *Capparis spinosa* (2 mg / ml, dans l'eau distillée ou dans le méthanol) ont été ajoutés. La même procédure a été répétée avec le BHT (2 mg/ml) comme un contrôle positif et avec le méthanol et l'eau distillée comme des contrôles négatifs. Les absorbances ont été lues à 490 nm, après 1 heure, 2 h, 3 h, 6 h, 24h et 48 h d'incubation à température ambiante à l'obscurité. Le pourcentage de l'activité antioxydante (AA %) a été calculé comme suit :

$$\% \text{ AA} = \left(\frac{A_{\text{extrait}}}{A_{\text{contrôle}}} \right) \times 100$$

A_E : absorbance en présence de l'extrait, A_C : absorbance en présence du contrôle positif BHT

2.5.3. Effet chélateur par la technique à la Férozine

La Férozine (3-2 pyridyl-5-6-bis (4-phényl-sulphonic-acid) 1, 2, 4 triazine) chélate le Fe^{2+} qui est un générateur des ROS. L'activité de chélateur d'ions a été mesurée par l'inhibition de la formation du complexe de fer (II)-Férozine après le traitement par diverses

concentrations d'extrait de différentes parties de *Capparis spinosa* avec Fe^{2+} , suivant la méthode décrite par Decker *et al.* (1990). Le mélange réactionnel (1,50 ml) contenant 500 d'extrait ou de l'EDTA, Quercétine, ou Rutine, 100 μ l de $FeCl_2$ (0,6 mM dans l'eau) et 900 μ l de MeOH. Le blanc (témoin négatif) contenait tous les réactifs de la réaction, à l'exception de l'extrait et de l'EDTA, Quercétine, ou Rutine. Le mélange a bien été agité et laissé réagir à la température ambiante pendant 5 min, 100 μ l de la Férozine (5mM dans du méthanol) ont été ensuite ajoutés et incubés pendant 10 mn à température ambiante permettant ainsi la complexion du fer résiduelle et la formation d'un chromophore rouge (Fe (II)-Férozine) ayant un maximum d'absorption à 562 nm. L'absorbance du complexe (Fe (II)-Férozine) a été mesurée à 562 nm. L'effet de chélation a été calculé en pourcentage, en utilisant l'équation ci-dessous, d'une valeur définie comme étant l'IC₅₀. L'effet chélateur est exprimé en % selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Effet chélateur} = \left(1 - \frac{A_{\lambda 562}^{\text{extrait}}}{A_{\lambda 562}^{\text{contrôle}}} \right) \times 100$$

2.6. Effets vasomoteurs et bronchoactifs

En pharmacologie vasculaire, un des modèles couramment utilisé est celui d'un vaisseau de conductance, l'aorte thoracique. Contrairement aux artères de résistance, ce type d'artère n'est pas directement impliqué dans la régulation de la pression artérielle. Néanmoins, il constitue un modèle expérimental facile d'utilisation permettant d'analyser le rôle de divers médiateurs impliqués dans le contrôle de la vasomotricité. Le modèle utilisé ici est l'anneau d'aorte isolée de rat monté dans un système de cuves à organe isolé.

Des rats Wistar de 8 à 12 semaines ont été utilisés, anesthésiés avec le Pentobarbital de sodium (50 mg/kg de poids corporel). L'aorte et la trachée artère sont soigneusement prélevées. L'aorte et les trachées sont nettoyées, dégraissées, coupées en anneaux de 3-6 mm

de largeur, puis montées entre deux crochets permettant, à l'aide d'une chaîne de mesure, d'étudier les variations de tension. Les anneaux sont placés dans des bains d'organe contenant 10 ml de la solution physiologique de Krebs. Les anneaux sont maintenus à 37° et sont alimentés en carbogène (O₂ 95% et CO₂ 5%) permettant l'oxygénation et le maintien du pH à 7.4 (Figure 17). Pour étudier les effets vasomoteurs et bronchoactifs (constricteur ou dilatateur) des différentes parties de la plante de *Capparis spinosa* : câpres (boutons floraux), feuilles, câprons (fruits), fleurs, racines et écorces de racines, sur un système d'organes isolés ont été utilisées.

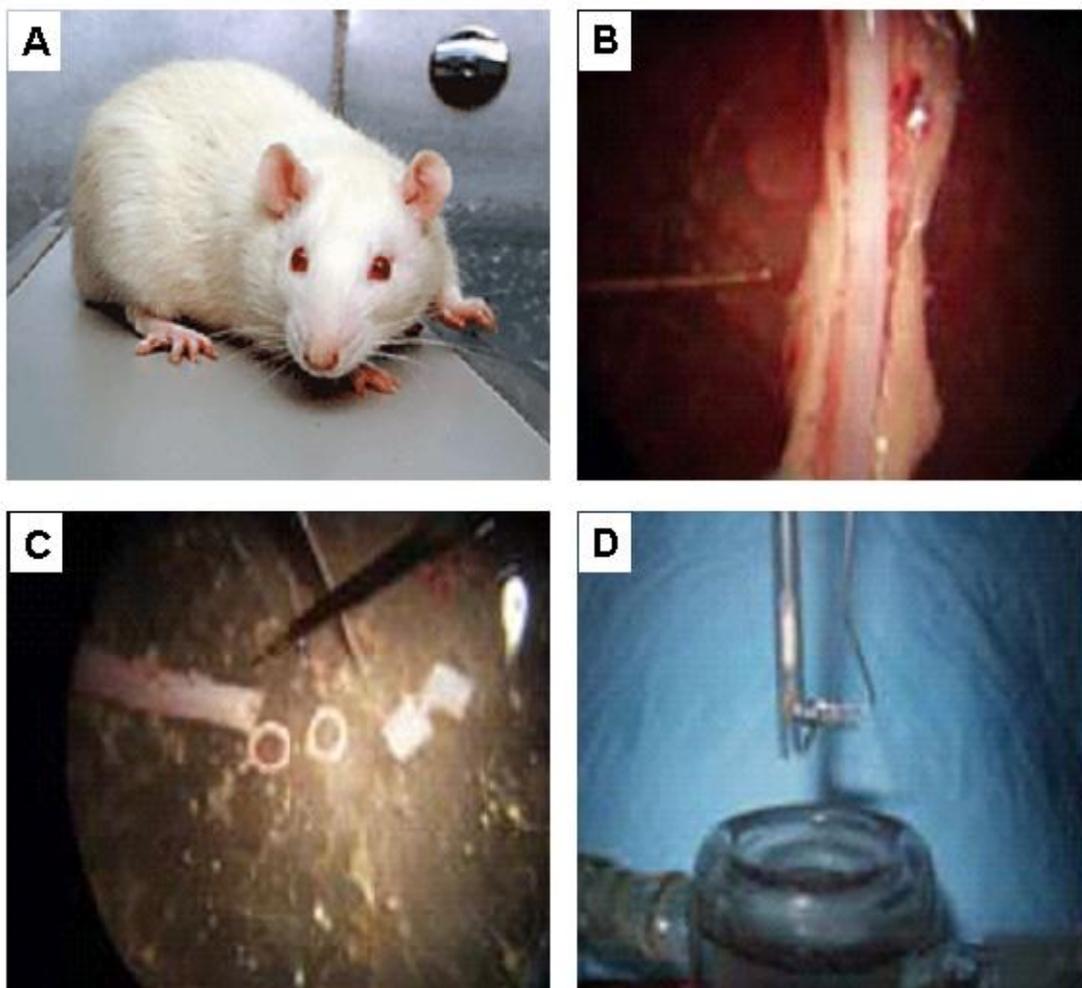


Figure 17 : Exploration de la fonction endothéliale. A : Rat Wistar, B : Aorte thoracique de rat, C : Anneaux d'artère de 3 à 5 mm, D : Bain d'organe et crochet pour fixer les anneaux.

Les anneaux d'aorte et trachée sont suspendus par des crochets en platine dans des bains d'organe (Figure 18) remplis d'une solution physiologique de Krebs de composition en mM comme suit : NaCl : 119, KCl : 4.7, NaHCO₃ : 24.9, MgSO₄ : 1.19, KH₂PO₄ : 1.19, CaCl₂ : 2.5, glucose : 11.1.

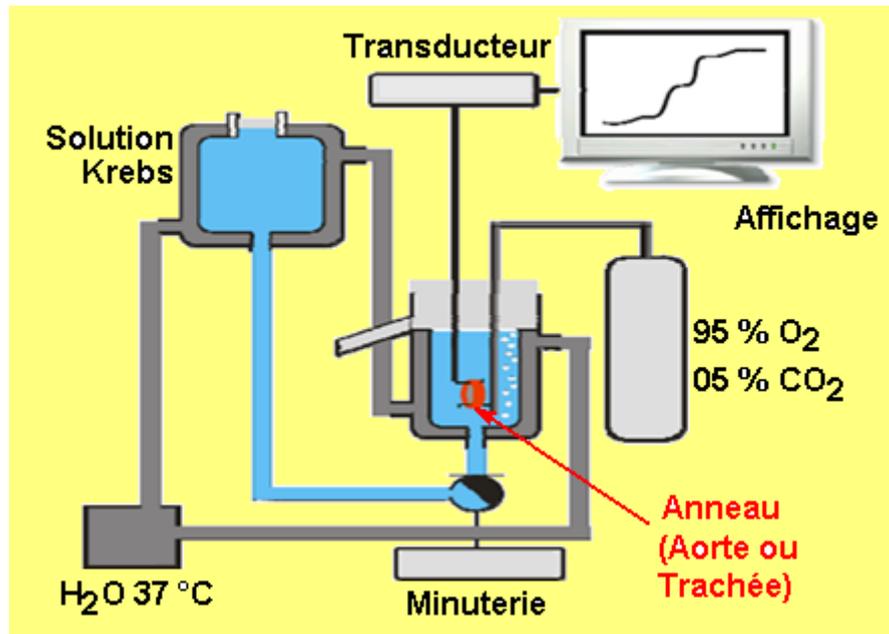


Figure 18 : Schéma du système de bain d'organe isolé. La minuterie permet de déclencher des lavages automatiques.

Initialement chaque anneau est tendu à une tension optimale (~1-2.5 g) pour assurer les réponses physiologiques aux différents extraits. Les variations de tension sont enregistrées par un capteur isométrique (*Narco F-60*) et un système d'acquisition de données sur ordinateur. Les anneaux sont ensuite équilibrés pendant 90 min avec les changements de la solution de Krebs chaque 10 min grâce à une minuterie. Les contractions initiales sont effectuées avec la phényléphrine (PE, Sigma Aldrich), 10⁻⁵ M pour les anneaux d'aorte thoracique et l'acétylcholine (Ach, Sigma Aldrich), 10⁻⁵ M pour les anneaux de trachée artère. Plusieurs lavages sont effectués, afin d'éliminer la PE ou Ach des bains d'organe.

Une fois le plateau atteint, des doses réponses de différentes concentrations des extraits sont ajoutées aux bains d'organe puis des doses croissantes de phényléphrine pour les aortes thoraciques et acétylcholine pour les trachées sont ajoutées de façon cumulative aux bains. Le même protocole est effectué, des concentrations de 0.1 mg/ml ; 1 mg/ml et 10 mg/ml de différents extraits sont incubées 30 minutes puis des concentrations cumulées d'acétylcholine pour la trachée et phényléphrine pour les aortes thoraciques sont additionnées, afin d'avoir des réponses spécifiques aux différentes concentrations d'extraits utilisés (Figure 19).

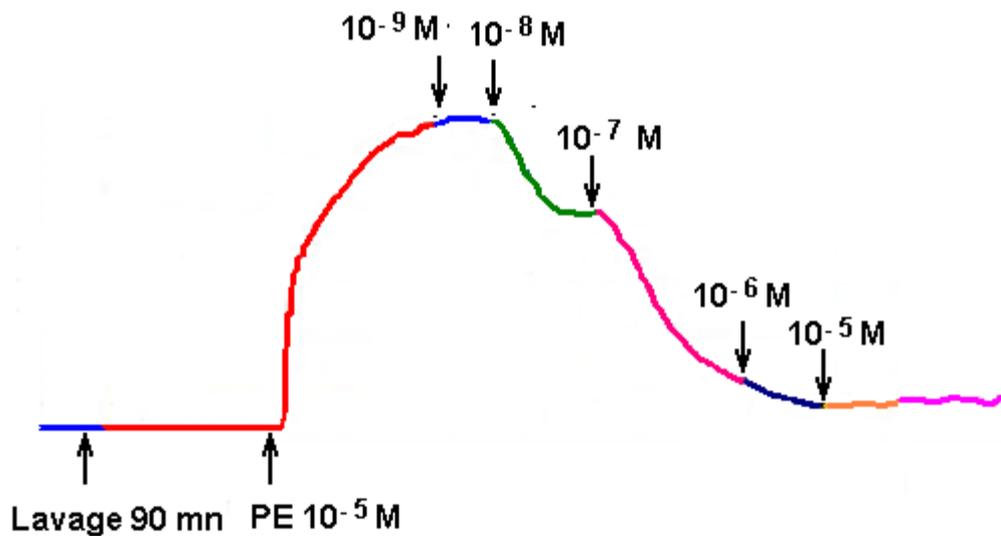


Figure 19 : Exemple d'un enregistrement obtenu dans le système d'organe isolé en utilisant la Phényléphrine 10^{-5} M.

Les effets induits par les différents extraits à différentes concentrations (0.1 mg/ml 1mg/ml et 10 mg/ml), mesurés par le logiciel IOX[®] software (EMKA Technologies), sont exprimés en grammes (g) ou normalisés (%) par rapport à la précontraction de la phényléphrine (PE 10 μ M) de l'aorte thoracique ou à la précontraction de l'acétylcholine (Ach 10 μ M) de la trachée. A partir de ces courbes concentration-effet, une régression

(sigmoïde de Hill) permet de calculer trois paramètres caractérisant cette courbe : l'effet maximum observable (Emax), la concentration permettant d'obtenir 50 % de l'effet maximum (EC₅₀) et % Emax pourcentage d'effet maximum.

2.7. Isolement des hépatocytes

Le foie de rat est isolé selon la méthode (Seglen, 1994 ; Anil Kumar *et al.*, 2002 ; Shen *et al.*, 2012) avec des modifications. Le rat est anesthésié au diétyléther, le foie est prélevé après dissection et mis dans la solution de Hank's Balanced Salt Solution HBSS (Sigma, Allemagne) ou PBS pH 7,4 (Na₂HPO₄ 10 mM, NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM KH₂PO₄ 1,76 mM) à 37 °C. Ensuite il est lavé avec le HBSS ou PBS (nettoyer et dégraisser) dans une boîte de Pétri et transféré dans un bécher stérile contenant 25 ml de solution de collagénase à 0,025 % dans HBSS. Le foie est minci en petits morceaux avec un ciseau stérile et étuvé à 37°C pendant 30 mn puis 75 ml DMEM froid sont ajoutés à la suspension cellulaire. Après un léger pipetage le filtrat est tamisé sur laine de verre pour éliminer le tissu conjonctif et les fragments de tissus non digérés. Le filtrat est transféré dans un tube conique de 15 ml puis centrifuger à 400 g pendant 3 mn à 4° C, le culot est repris dans 15 ml de DMEM. Le procédé de lavage est répété trois fois par HBSS ou DMEM à 400 g pendant 10 mn pour éliminer l'enzyme. Le culot est repris dans 12 ml de DMEM additionné de 10% sérum bovin fœtal (SVF) et 2% d'antibiotiques (pénicilline-streptomycine-néomycine (Sigma) et incubé à 37°C pendant 24 H (Stalinska *et al.*, 2005).

Les cellules s'adhèrent au fond de la boîte de Pétri dans quatre à six heures et arrivent à confluence dans 24 h. Le surnageant est alors éliminé et les cellules sont lavées trois fois avec 10 ml de HBSS ou PBS. La trypsine / EDTA 0,025% est ajoutée à raison de 3 ml par boîte sur la couche des cellules adhérentes et incubée à 37°C pendant moins de 3 mn. Entre 12 et 15 ml de milieu de culture DMEM supplémenté de 10% SVF sont ajoutés pour neutraliser l'enzyme

(Yin *et al.*, 2009). La suspension cellulaire est transférée dans un tube Falcon 15 ml et centrifugée 5 min à 1000 g. Le culot est repris dans le milieu de culture. La viabilité cellulaire est estimée par la méthode de coloration vitale au bleu de Trypan 0.4% (p/v) et le nombre de cellule est déterminé par un microscope optique à x 40 (Lillehaug *et al.*, 1979 ; Nicoluzzi *et al.*, 2000 ; Stober, 2001 ; Schacke *et al.*, 2009).

2.8. Test de viabilité au bleu Trypan

Le principe de cette technique est d'évaluer le nombre de cellules mortes ayant ingéré le bleu Trypan tandis que les cellules vivantes l'excluent. A 500 µl de suspension cellulaire sont ajoutés 50 µl de solution de Bleu Trypan à 0,4 % (Biomerieux), on homogénéise à la pipette et on attend 5 min. La numération des cellules est réalisée à l'aide de la cellule de Malassez. Les cellules colorées en bleu sont mortes (perméables au colorant), les cellules vivantes, non perméables restent claires et réfringentes. Les cellules (notées N) correspondant à un volume de 1 µl sont notées N. Le nombre de cellules est alors de N cellules / µl soit : $N \times 10^3$ cellules / ml. (Stober, 2001).

2.9. Evaluation de la cytotoxicité des extraits de *Capparis spinosa*

Un volume de 100 µl de la suspension cellulaires (250000 cellules /ml) sont déposées dans chaque puits de la microplaque 96 puits pendant 24 h à 37°C. Une gamme de concentrations à partir des extraits méthanoliques des feuilles, fruits et racines de *Capparis spinosa* (dissout dans un petit volume de PMSF) est préparée dans le milieu de culture (300, 150, 75, 37.5, 18.75, 9.375, 4.687 et 2.343 µg/ml). Un volume de 100 µl de chaque concentration sont ajoutés en triplicata aux puits de 100 µl de cellules Dans le contrôle positif les cellules sont additionnées de diméthylsulfoxyde (DMSO) 1% dans le milieu de culture. Les cellules sont incubées pendant 24 h à 37°C.

Après l'incubation, le milieu est soigneusement retiré (par dumping), les cellules sont très soigneusement lavées avec du PBS préchauffé (250 µl/cupule) et 250 µl de milieu rouge neutre (33µg/ml) sont ajoutés à chaque puits. A la fin de l'incubation à 37 ° C pendant 2 et 3 h, le NR repris dans une nouvelle plaque et les cellules sont lavées avec 250 µl PBS préchauffé. La solution NR Désorb (EtOH / acétique acide / Eau 50 : 1 : 49) est ajoutée à raison de 100 µl / puits. La plaque est agitée rapidement sur un agitateur de microplaques pendant 20-45 mn (à l'abri de la lumière) afin de dissoudre les cristaux formés et extraire le NR à partir des cellules. La plaque est ensuite retirée de l'incubateur et laissée reposée pendant 5 mn avant la lecture des absorbances 570 nm dans un lecteur de microplaques (Biotech, USA). D'autre part, les absorbances du rouge neutre avant et après la première incubation (avant l'ajout de la solution Désorb) sont lues et les différences sont calculées.

2.10. Analyse statistique

Tous les échantillons ont été analysés en triplicata et les données ont été exprimées en (moyenne ± SEM) en utilisant le logiciel InStat (Graph pad, San Diego, Californie). L'analyse de variance (ANOVA) a été utilisée pour tester les différences entre les groupes. Le test de comparaison multiple de Tukey-Kramer a été utilisé pour déterminer la signification des différences entre les valeurs moyennes des groupes de traitement au niveau de $p \leq 0,05$.

***RESULTATS
ET DISCUSSIONS***

1. CONTENUS EN POLYPHENOLS ET FLAVONOIDES

1.1. Extraits aqueux

Les résultats de l'analyse quantitative des composés phénoliques totaux, dans les extraits aqueux des différentes parties de *Capparis spinosa*, dosés avec la méthode au bleu de Prusse modifiée par Graham (1992), sont présentés dans le tableau 3. Les polyphénols totaux contenus dans la plante ont été déterminés en utilisant la courbe d'étalonnage et les résultats sont exprimés en mg d'équivalents d'acide gallique par gramme de poids sec. Les feuilles contiennent la plus grande quantité de polyphénols (56.98 ± 14.24 mg Eq -AG / g de l'extrait), suivies par les graines (35.85 ± 2.32 mg Eq -AG / g de l'extrait), les fleurs (34.14 ± 4.61 mg Eq -AG / g de l'extrait), les racines (15.46 ± 6.86 mg Eq -AG / g de l'extrait) puis les fruits (7.15 ± 0.63 mg Eq -AG / g de l'extrait).

Tableau 3 : Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits aqueux de différentes parties de *Capparis spinosa*. Les valeurs représentent les moyennes \pm SD de 3 répétitions.

Parties de la plantes	Polyphénols		Flavonoïdes
	mg Equivalent Acide Gallique / g d'extrait	mg Equivalent Rutine/ g d'extrait	mg Equivalent Quercétine / g d'extrait
Racines	15.46 ± 6.86	1.05 ± 0.63	Indéetectable
Fruits	7.15 ± 0.63	1.11 ± 1.28	Indéetectable
Feuilles	56.98 ± 14.24	11.21 ± 0.93	6.69 ± 0.24
Fleurs	34.14 ± 4.61	13.74 ± 1.74	8.94 ± 1.57
Graines	35.85 ± 2.32	2.35 ± 1.78	0.77 ± 0.81

La détermination des teneurs des extraits en flavonoïdes montre que l'extrait aqueux de fleurs est plus riche que les feuilles et les grains, la teneur des racines et câpres est la plus faible.

1.2. Extraits méthanoliques

Les extraits méthanoliques renferment des taux en polyphénols et flavonoïdes décroissants feuilles > fruits > fleurs > graines > racines (Tableau 4). Les résultats montrent des teneurs en polyphénols et flavonoïdes supérieures que dans les extraits aqueux (Figure 20). Ceci pourrait être dû au fait que le méthanol solubilise la majorité des constituants de la plante alors que l'eau, extrait les substances très polaires. En effet, Iqbal *et al.*, (2006) ont observé que l'extrait méthanolique (80 %) de *Rhazya stricta* est plus riche en polyphénols et flavonoïdes que l'extrait aqueux.

Tableau 4 : Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits méthanoliques des différentes parties de *Capparis spinosa*. Les valeurs représentent les moyennes \pm SD de 3 répétitions.

Parties de la plantes	Polyphénols		Flavonoïdes	
	mg Equivalent Acide Gallique / g d'extrait	mg Equivalent Rutine / g d'extrait	mg Equivalent Quercétine / g d'extrait	
Racines	9.2 \pm 2.2	0.27 \pm 0.147	Indélectable	
Fruits	58.76 \pm 4.74	41.94 \pm 8.58	27.25 \pm 5.36	
Feuilles	133.62 \pm 58.84	38.015 \pm 5.09	24.62 \pm 3.024	
Fleurs	33.46 \pm 3.36	15.80 \pm 3.83	9.76 \pm 2.18	
Graines	29.06 \pm 10.46	6.27 \pm 1.18	3.39 \pm 1.17	

Bonina *et al.* (2002) ont également trouvé que l'extrait méthanolique lyophilisé du *C. spinosa* est riche en polyphénols (65.13 ± 5.53 mg/g), les résultats de nos travaux sont en parfait accord avec ceux de Bonina *et al.* (2002). La différence des teneurs trouve son explication dans la différence des parties de la plante étudiées et probablement dans la différence en standard utilisé pour le dosage des polyphénols.

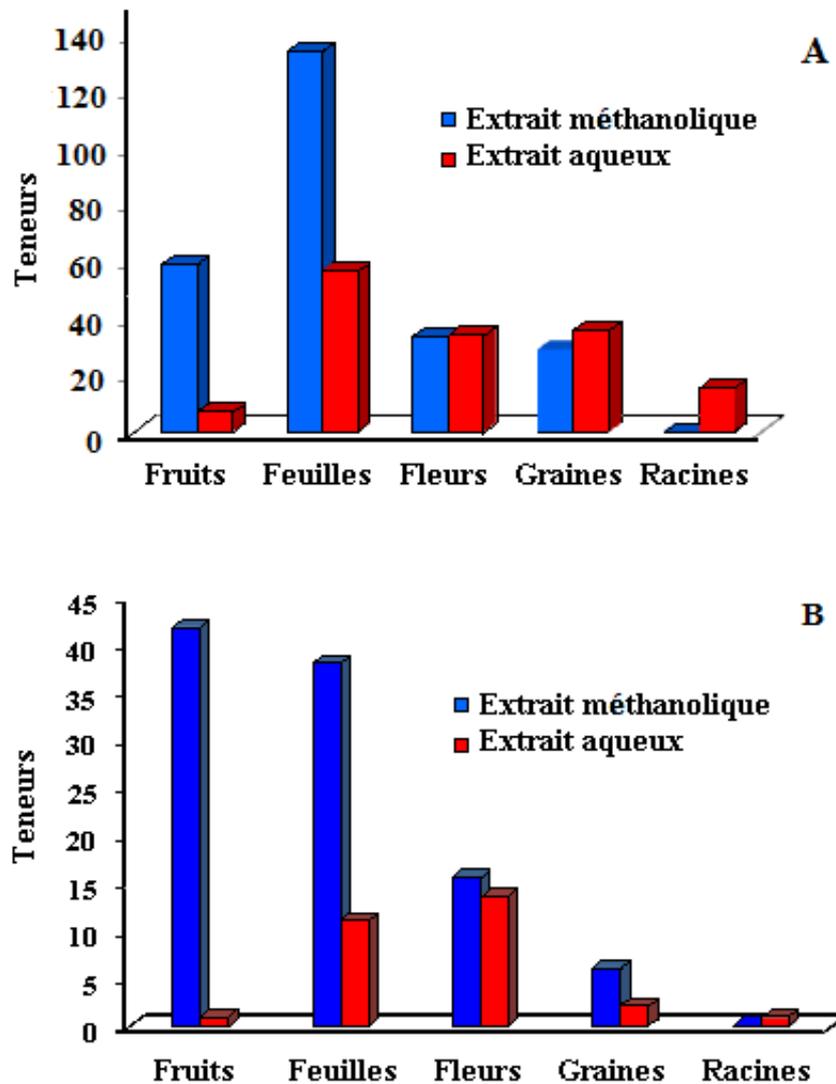


Figure 20 : Comparaison de la teneur en polyphénols (A) et flavonoïdes (B) des extraits aqueux et méthanoliques dans les différentes parties du câprier. Les données sont exprimées en moyenne \pm SD ($n = 3$) de mg d'équivalents d'acide gallique (polyphénols) et de rutine (flavonoïdes) par g d'extrait.

5. EFFETS ANTIOXYDANTS

Les effets antioxydants des différents extraits sont évalués par trois méthodes complémentaires : scavenging des radicaux DPPH, blanchissement du bêta carotène et la Férozine.

2.1. Effets scavenger des extraits de *Capparis spinosa*

Le radical DPPH est souvent utilisé comme un indicateur pour tester la capacité de l'extrait à donner un atome d'hydrogène ou un électron et donc de sa capacité antiradicalaire ou antioxydante (Oyaizu, 1986 ; Soares *et al.*, 1997). Pour évaluer l'activité antioxydante (anti-radicalaire) des différents extraits, la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) a été utilisée. Le DPPH[•] de couleur violette vire au jaune en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2.2 diphényl 1 picryl hydrazine. Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 518 nm. Une diminution de l'intensité de la couleur du DPPH reflète la présence de substances antiradicalaires dans le milieu. Parallèlement aux différents extraits, la quercétine, l'acide gallique, la rutine et le BHT ont été utilisés comme témoins positifs.

2.1.1 Extrait aqueux

Les résultats montrent que tous les extraits testés ont une capacité anti-radicalaire dose-dépendante (Figure 21). Dans les extraits aqueux, l'ordre d'inhibition du radical DPPH était : $EAF_L = EAC > EAF > EAG > EAR$ avec des IC_{50} respectives de 0.256 ± 0.002 , 0.258 ± 0.002 , 0.295 ± 0.011 puis 0.657 ± 0.022 et enfin 1.572 ± 0.031 mg/ml. Cette activité anti-radicalaire des extraits pourrait être dépendante de la richesse surtout en flavonoïdes. En effet, les feuilles riches en polyphénols montrent un effet scavenger moins élevé que celui des fleurs plus riches en flavonoïdes malgré qu'elles contiennent un taux plus faible en polyphénols.

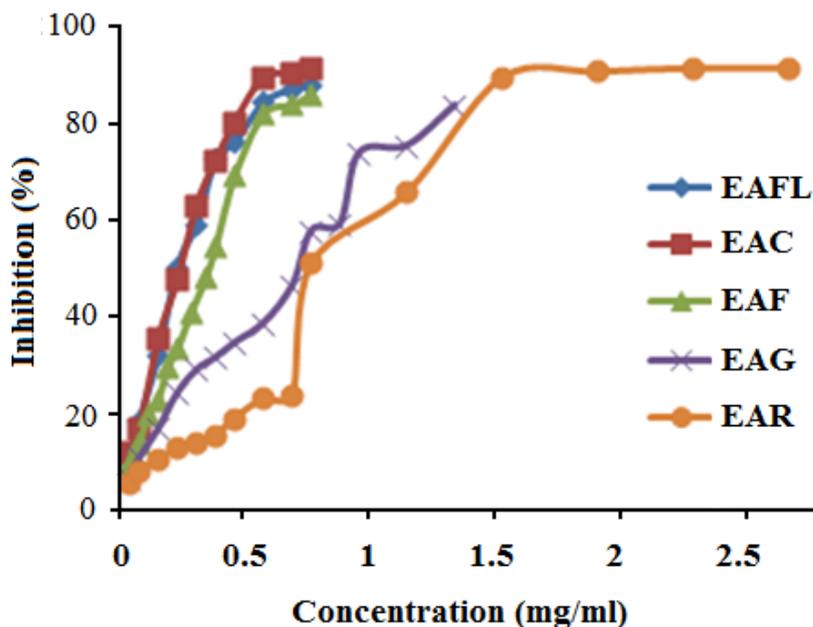


Figure 21 : Le pourcentage d'inhibition de DPPH en présence de concentration différentes d'extraits aqueux EAFL : Extrait aqueux de fleurs, EAC : Extrait aqueux de câpres, EAF : Extrait aqueux de feuille, EAG : Extrait aqueux de graine. Chaque point représente la moyenne \pm SEM (n = 3)

2.1.2 Extrait méthanolique

Les extraits méthanoliques de feuilles, de fleurs et de câpres représentent l'effet scavenger dose dépendante le plus puissant par rapport aux autres extraits. Pour les extraits méthanoliques, l'activité de piégeur de radicaux libres a diminué dans l'ordre suivant : EMF > EMC > EMG > EMF > EMR. Les concentrations inhibitrice 50 (IC₅₀) ont montré que les valeurs des extraits méthanoliques des feuilles (EMF), ont le plus grand potentiel d'inhibition 0.024 ± 0.0005 mg / ml supérieure à celle du BHT (antioxydant synthétique puissant) témoin positif 0.0485 ± 0.0038 mg / ml (Figure 22).

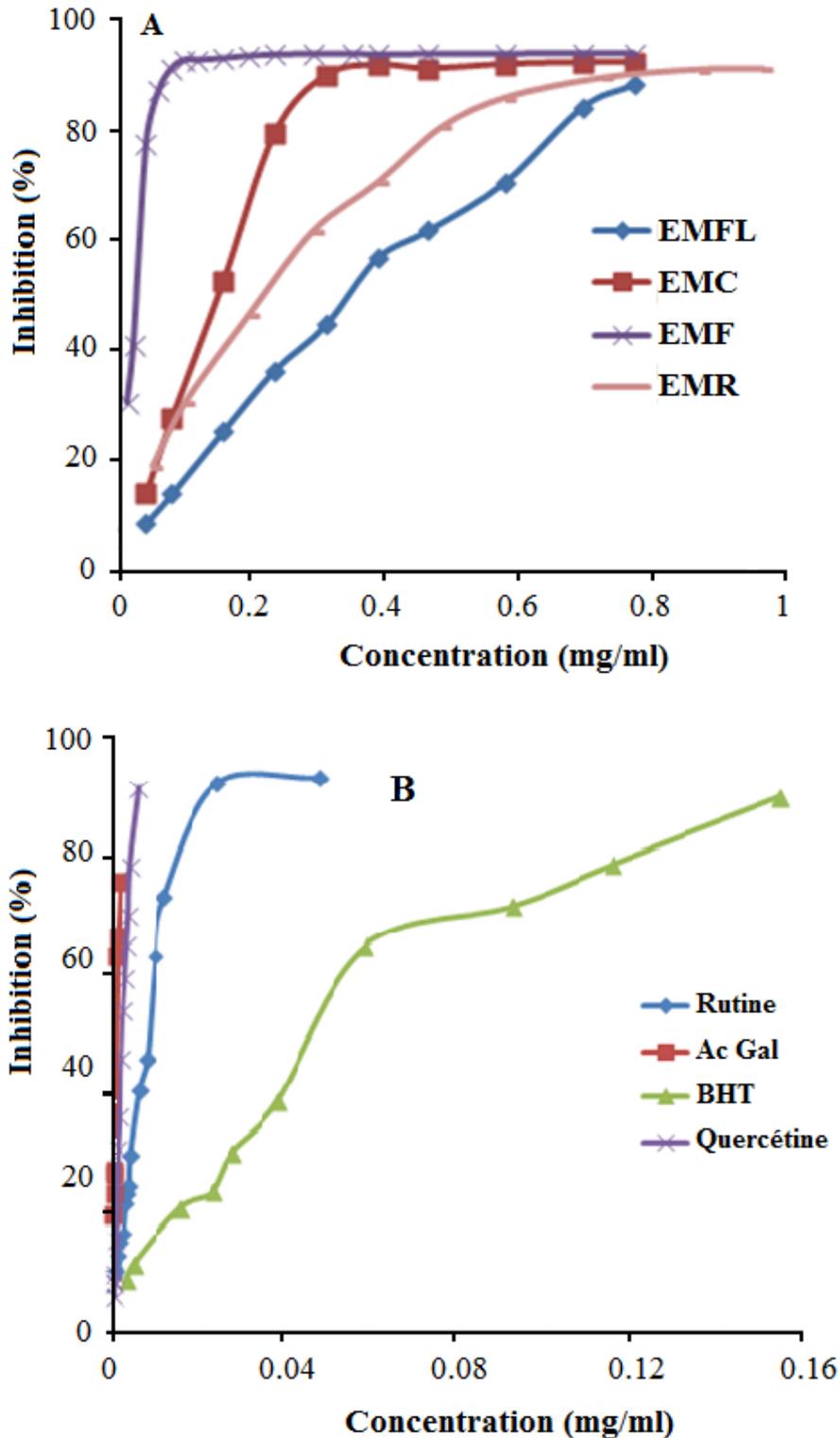


Figure 22 : Le pourcentage d'inhibition de DPPH en présence de concentration (A) différentes d'extraits méthanoliques de EMFL: fleurs, EMC : câpres, EMF : feuilles, EMG : graines, et (B) d'acide Gallique (Ac Gal), Quercétine, Rutine et BHT Chaque point représente la moyenne \pm SEM (n = 3).

Selon Turkmen *et al.* (2007), les polyphénols semblent être des donneurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale. Le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant. Williams *et al.* (2004) suggèrent d'autres expériences *in vivo* afin de confirmer l'effet scavenger de ces extraits. Des études sur la relation entre la structure chimique des composés phénoliques et leur pouvoir piègeur des radicaux libres ont montré que l'activité anti-radicalaire est dépendante du nombre, de la position et de la nature des substituants sur les cycles B et C (groupements hydroxyles, metaxylés, glycosylés) et le degré de polymérisation. La rutine a montré une grande efficacité anti-radicalaire *vis-à-vis* du radical DPPH par rapport au BHT (Baydar *et al.*, 2007), ce qui confirme les résultats de la présente étude, avec un pouvoir antiradicalaire presque 2 fois plus grand.

Des résultats d'une recherche entreprise par Kchaou *et al.* (2013) montrent que l'activité anti-radicalaire n'est pas uniquement dépendante de la concentration en composés phénoliques, mais aussi du degré d'hydroxylation et de polymérisation des composés contenu dans les extraits. Une autre étude a montré que les flavonoïdes les plus efficaces sont ceux qui renferment des groupements 3', 4'-dihydroxy sur le cycle B et/ou un groupement 3-OH sur le cycle C. La double liaison C₂-C₃ en conjugaison avec la fonction 4-oxo sur le cycle C augmente la capacité radical scavenger des flavonoïdes. La présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C₂-C₃ augmente également l'effet scavenger des flavonoïdes.

Les résultats de l'activité antiradicalaire obtenus sont en accord avec ceux de Bonina *et al.* (2002) et Yu *et al.* (2006). Ces derniers ont constaté que les extraits des bourgeons du *C. spinosa* ont montré des activités antioxydantes et antiradicalaires très fortes.

Les acides phénoliques sont des agents bioactifs, très souvent retrouvés à différentes concentrations dans les plantes. Ces derniers sont des protecteurs potentiels du stress oxydatif, contre le cancer, et différentes maladies cardiovasculaires. Plusieurs études *in vitro* ont prouvé que les flavonoïdes peuvent directement piéger des espèces moléculaires de l'oxygène actif comme les superoxydes (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et le radical hydroxyle (OH) (Yamasaki *et al.*, 1997).

L'activité antioxydante ne peut être attribuée seulement aux polyphénols (Tlili *et al.*, 2009). Les parties étudiées du *C. spinosa* contiennent d'autres composés ayant un effet antioxydant tels que les tocophérols, les caroténoïdes, les flavonoïdes et les glucosinolates (Tlili *et al.*, 2009 et 2011).

2.2. Effets anti-péroxydation lipidique

Dans cette analyse la capacité antioxydante des différents extraits de *Capparis spinosa* est déterminée par la mesure de l'inhibition des composés organiques volatils et les hydroperoxydes conjugués résultant de l'oxydation de l'acide linoléique. En absence des antioxydants, les radicaux libres formés provoquent l'oxydation du β -carotène et donc sa décoloration. Par contre, la présence des antioxydants dans l'extrait minimise l'oxydation du β -carotène qui conserve sa couleur (Tepe *et al.*, 2005). L'estimation de l'effet anti-radicalaire a été déterminée en suivant la décoloration du β carotène à 490 nm par spectrophotométrie et les résultats sont exprimés en pourcentages de l'activité en fonction du temps.

2.2.1. Extrait aqueux

La variation de l'absorbance avec le temps d'incubation des différents extraits est représentée sur la figure 24. Le pourcentage de l'activité antioxydante à 24 h (AA %) la plus élevée parmi les extraits est de l'extrait aqueux de fleurs EAF_L (64.66 ± 1.04 %), il est le meilleur inhibiteur de l'oxydation du β -carotène ($p < 0.05$, comparé avec les autres extraits),

suivi par extrait aqueux des feuilles qui possède une activité identique EAF ($64.58 \pm 2.12 \%$), puis l'extrait aqueux de graines EAG ($64.02 \pm 0.98 \%$), suivi de l'extrait aqueux de cônes EAC ($40.68 \pm 1.85 \%$), et enfin l'extrait aqueux de racine EAR ($21.24 \pm 0.19 \%$), qui exerce l'effet antioxydant le plus faible comparé aux autres extraits (Figure 23).

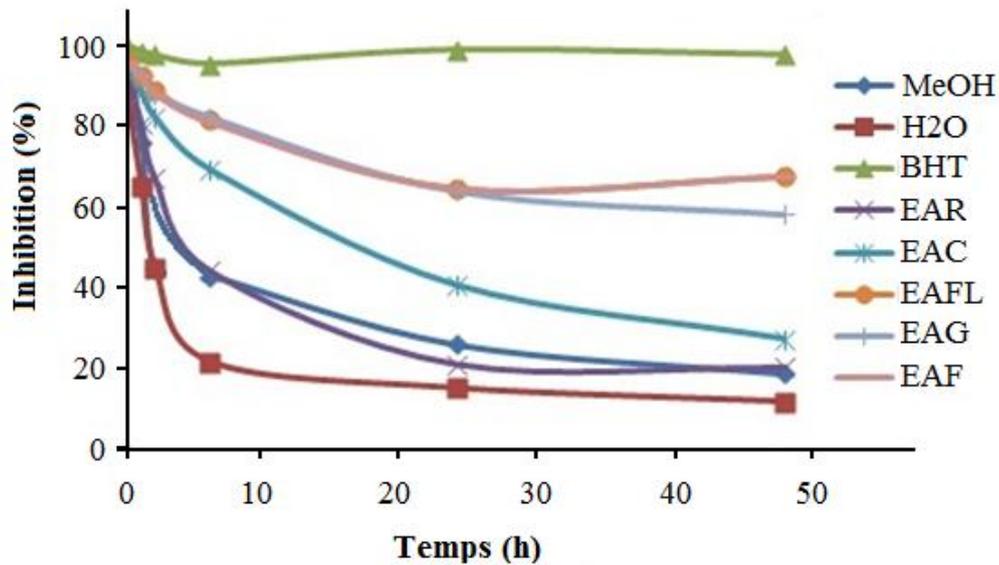


Figure 23 : La Capacité antioxydante exprimée en % d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique en présence de BHT, MeOH et H₂O et des différents extraits aqueux de *Capparis spinosa*. Chaque point représente la moyenne \pm SEM (n = 3).

En comparant les extraits de *Capparis spinosa* avec les contrôles on remarque une inhibition significative ($p < 0.05$) de l'oxydation du β -carotène. Ceci est dû soit au piégeage des radicaux hydroperoxydes formés durant la peroxydation de l'acide linoléique soit à l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique. (Aslan *et al.*, 2006).

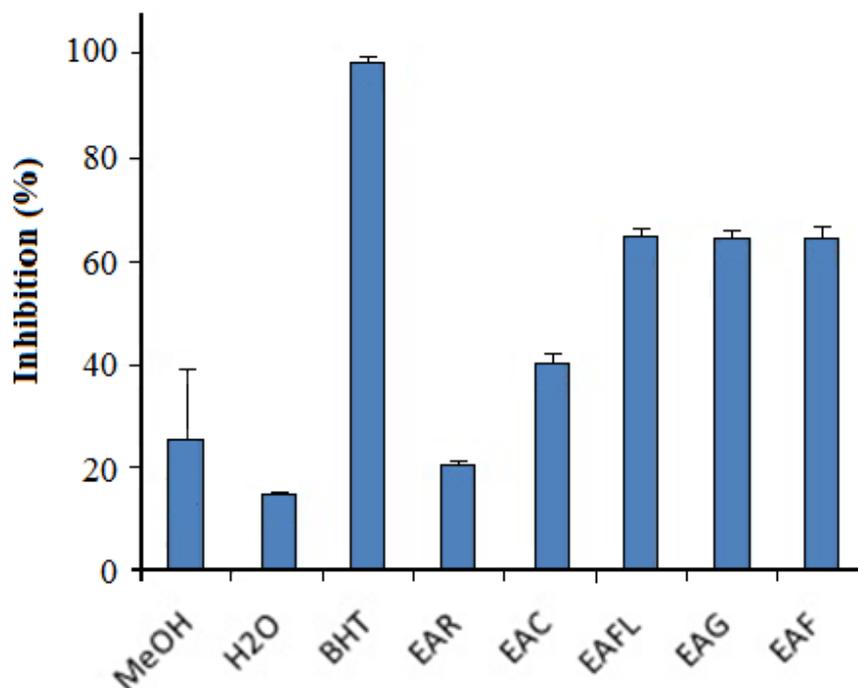


Figure 24 : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique par rapport au BHT, MeOH et H₂O par les extraits aqueux de *Capparis spinosa* après 24 heures. Chaque point représente la moyenne \pm SEM (n = 3).

2.2.2 Extrait méthanolique

Le changement d'absorbance à différents intervalles de temps du β carotène a montré que EMF_L et EMF semblent être les meilleurs inhibiteurs de la peroxydation de l'acide linoléique suivie EMG puis EMC et enfin EMR (Figure 25). Le pourcentage de l'activité antioxydante après 24 h d'incubation (AA %), est le plus élevée pour l'extrait méthanolique de fleurs EMF_L (82.78 ± 2.64 %), il est le meilleur inhibiteur de l'oxydation du β -carotène ($p < 0.05$, comparé avec les autres extraits), suivi par extrait méthanolique de feuilles EMF qui possède une activité de (80.94 ± 1.57 %), puis l'extrait méthanoliques de graines EMG (66.21 ± 1.62 %), suivi de l'extrait méthanolique de câpres EMC (55.33 ± 23 %), et enfin l'extrait méthanolique de racine EMR (48.82 ± 5.30 %), (Figure 26).

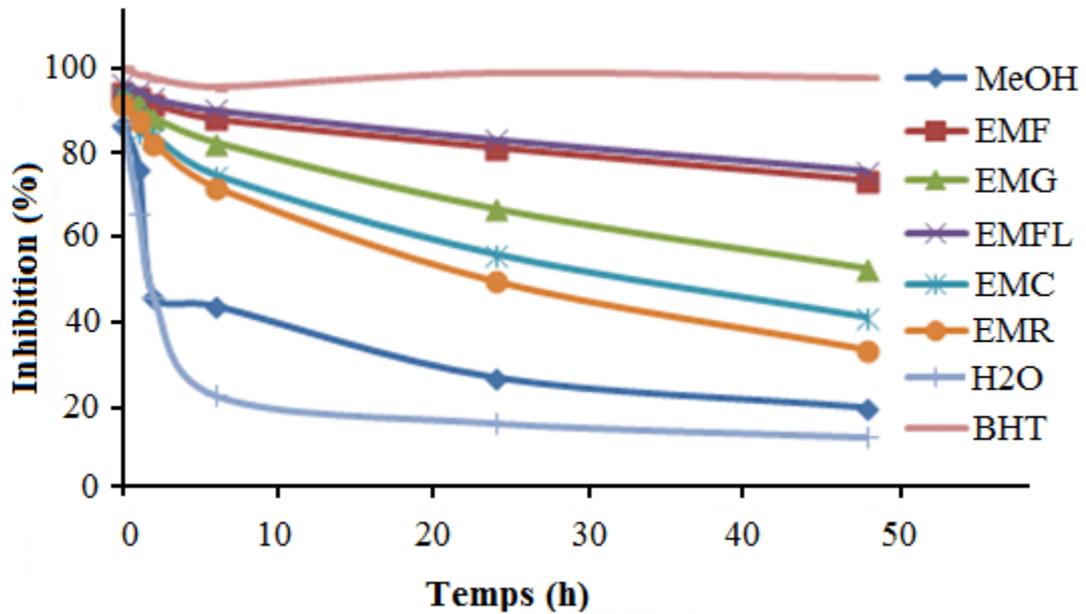


Figure 25 : La Capacité antioxydante exprimée en % d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique en présence de BHT, MeOH et H₂O des différents extraits méthanoliques de *Capparis spinosa*. Chaque point représente la moyenne \pm SEM (n = 3)

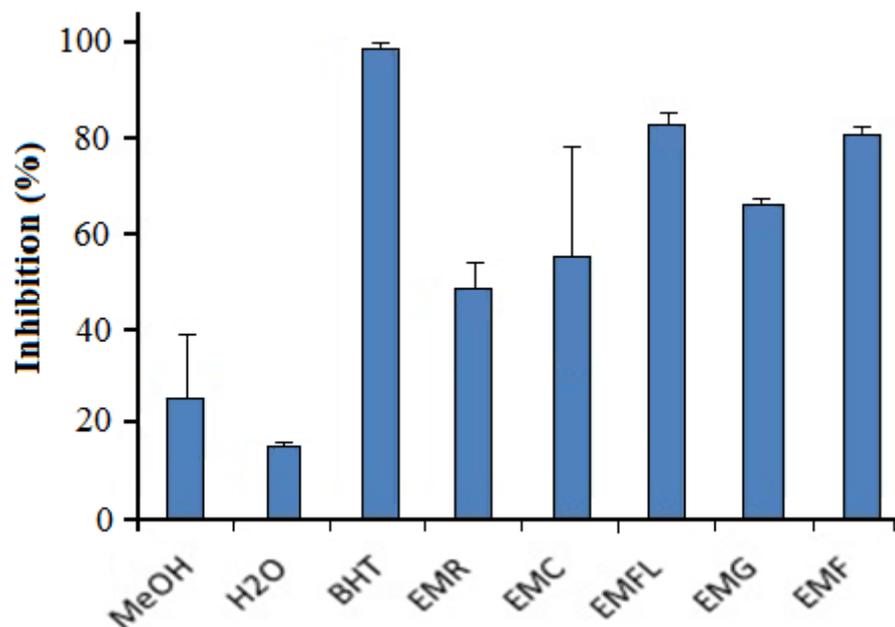


Figure 26 : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique par rapport au BHT, MeOH et H₂O par les extraits méthanolique de *Capparis spinosa* après 24 heures. Chaque point représente la moyenne \pm SEM (n = 3).

Les extraits méthanoliques de façon générale ont plus d'effet que les extraits aqueux. L'extrait de racine a montré une très faible inhibition par rapport aux autres extraits. Les extraits ont montré des activités antioxydantes marquées par rapport au BHT (butylhydroxytoluène) antioxydant synthétique qui à la même concentration 2mg/ml a inhibé à 98.88%. Les différents extraits : EMF_L, EMF, EMG, EAF, EAF_L, EAG, EMC, EMR, EAC et EAR ont montré une inhibition de 82.78% ± 2.64 ; 80.94% ± 1.57 ; 66.21 % ± 1.62 ; 64.58% ± 2.12 ; 64.66 % ± 1.04 ; 64.02 % ± 0.98 ; 55.33% ± 23.00 ; 48.82 % ± 5.30 ; 40.68 % ± 1.85 et 21.24% ± 0.19 respectivement.

L'extrait méthanolique de fleur a montré l'activité antioxydante la plus élevée (82.78 ± 2.64%), suivie de l'extrait de feuilles (80.94 ± 1.57%). Pour les extraits méthanoliques l'activité de peroxydation lipidique a diminué dans l'ordre suivant : EMF_L > EMF > EMG > EMC > EMR. Dans les extraits aqueux l'activité antioxydante est comme suit : EAF = EAG = EAF_L > EAC > EAR. La différence de l'activité antioxydante des différents extraits pourrait être attribuée à une différence de teneur en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes. Plusieurs études ont montré une corrélation entre l'activité antioxydante et la teneur en composés phénoliques (Kim *et al.*, 2011).

Frankel et Meyer (2000) ont proposé que les antioxydants apolaires exposent des propriétés antioxydantes plus importantes car ils sont concentrés au sein de l'interface lipide-eau, permettant ainsi de prévenir la formation de radicaux lipidiques et l'oxydation du β-carotène. Alors que les antioxydants polaires restent dilués dans la phase aqueuse et sont ainsi moins efficaces dans la protection des lipides.

2.3. Activité chélatrice des ions ferreux

L'effet chélateur des extraits de *Capparis spinosa* a été déterminé par la méthode décrite par Decker *et al.* (1990). La férrozine, acide 3-(2-pyridyl)-5,6-bis (4-phényl)-sulfonique, complexe le fer (II) et forme un composé rouge magenta (Fe^{2+} -Férozine) permettant un dosage colorimétrique avec un maximum d'absorption à 562 nm. La formation de ce complexe est perturbée en présence d'agents chélateurs aboutissant à une diminution de la couleur rouge, qui est suivie par spectrophotométrie.

Les résultats de notre étude montrent que les différents extraits de *Capparis spinosa* (feuilles, racines, câpres, fleurs et graines), ainsi que les standards (EDTA, quercétine et rutine), interfèrent d'une manière dose dépendante avec la formation du complexe Fe^{2+} -Férozine. Les différents extraits ont la capacité de capter l'ion ferreux d'où l'activité chélatrice tout en capturant l'ion ferreux avant qu'il soit complexé avec la Férozine. À partir des profils de chélation obtenus, la plus importante activité chélatrice des ions ferreux est celle de l'EDTA. Sa principale caractéristique, son fort pouvoir chélatant (ou complexant) par lequel il forme des complexes métalliques très stables. Dans les complexes, l'EDTA est lié aux cations métalliques sous la forme d'une de ses bases conjuguées.

2.3.1. Extrait aqueux

Les extraits aqueux ont montré une activité chélatrice importante avec des IC_{50} allant de 0.037 à 1.15 mg/ml. Cela reflète simplement la nature complexe des extraits contenant un ou plusieurs composé(s) chélateur(s) ayant des affinités différentes pour le fer, en concurrence avec la Férozine. Cette activité est dose-dépendante (Figure 27).

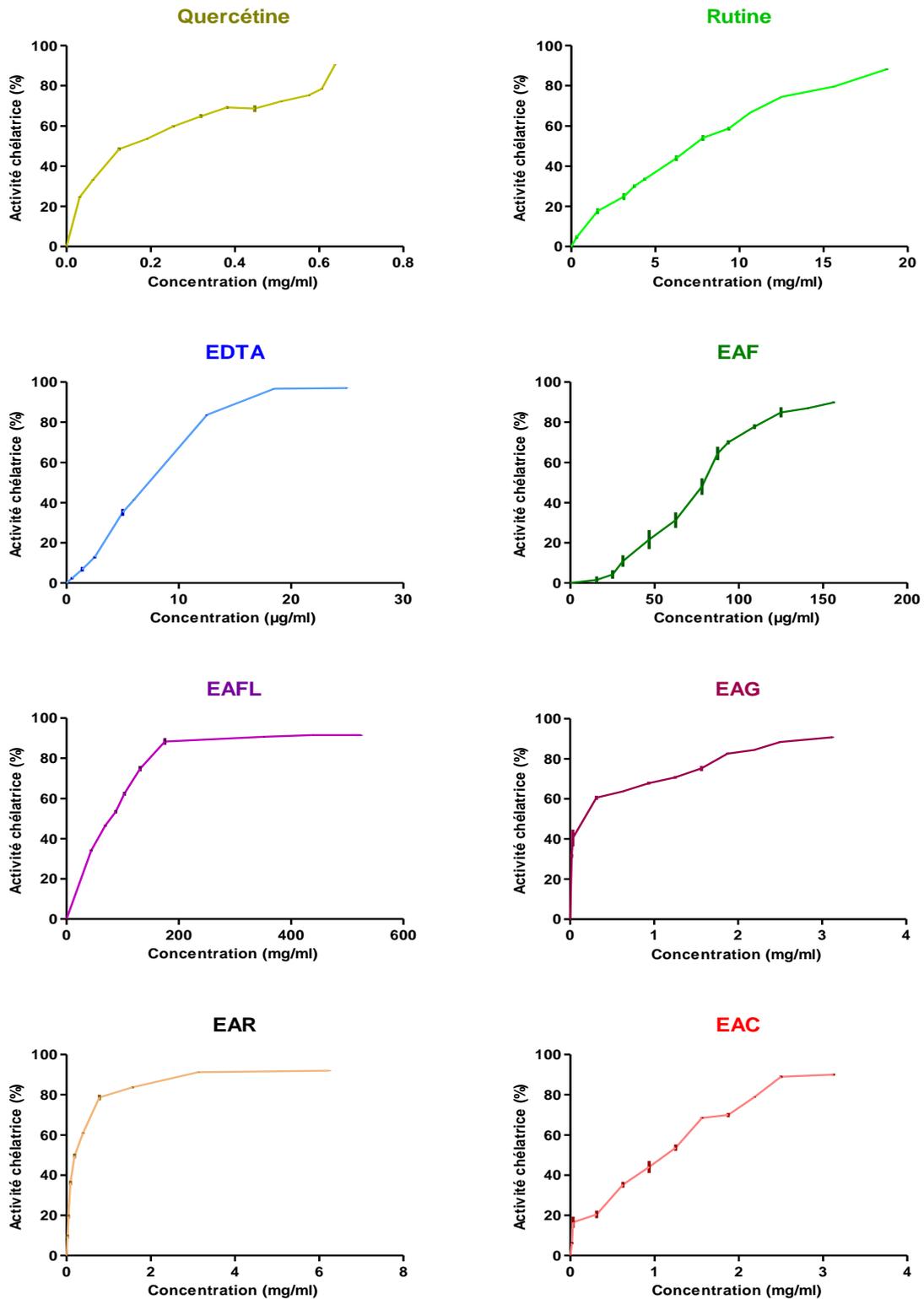


Figure 27 : Le pourcentage d'activité chélatrice en présence de différentes concentrations des extraits aqueux de fleurs (EAF_L), câpres (EAC), feuilles (EAF), graines (EAG), racines (EMR) et des standards (EDTA, Quercétine et Rutine). Chaque point représente la moyenne \pm SEM (n = 3).

Les extraits aqueux de feuilles possèdent l'activité chélatrice la plus importante, avec des IC_{50} de 0.037 mg/ml, moins importante que celle de l'EDTA avec une IC_{50} de 0.0074 mg/ml mais supérieure comparé à celle de la quercétine avec des $IC_{50} = 0.106$ mg/ml et de la rutine avec $IC_{50} = 7.55$ mg/ml, les deux connues comme antioxydants forts. Ceci s'explique par la richesse de l'extrait de feuilles en composés chélateurs de fer (Figure 28).

Les extraits aqueux de fleurs montrent aussi un grand pouvoir chélateur avec IC_{50} de 0.077 mg/ml, suivis par les graines puis les racines et enfin les câpres avec des IC_{50} respectives de ($IC_{50} = 0.1628$ mg/ml), ($IC_{50} = 0.1882$ mg/ml), ($IC_{50} = 1.155$ mg/ml). Le pouvoir chélateur des extraits aqueux des câpres est 150 fois plus faible que le pouvoir chélateur d'EDTA mais moins que la quercétine et plus actif que celui de la rutine.

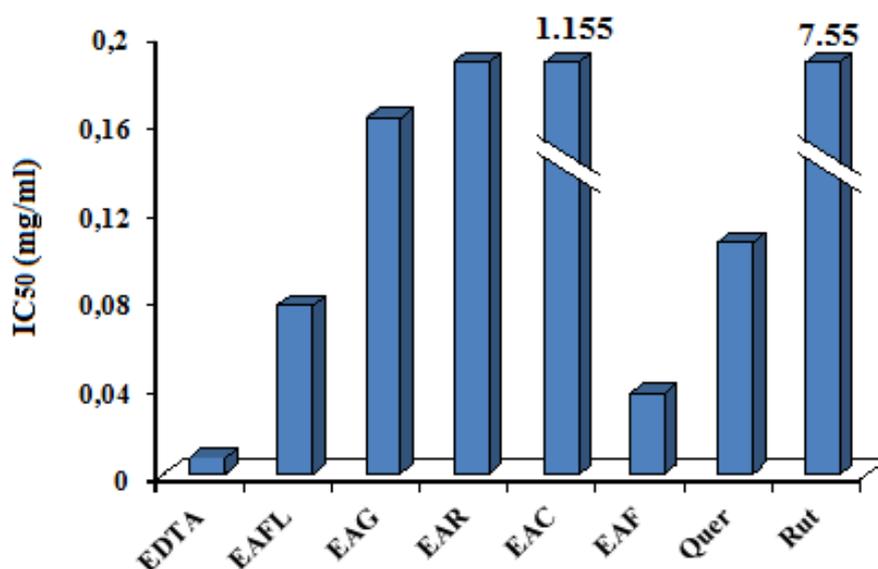


Figure 28 : Comparaison de l'activité chélatrice des ions métalliques de fer des différents extraits aqueux des différentes parties de *Capparis spinosa* avec les standards EDTA, Quercétine et Rutine. Chaque point représente la moyenne \pm SD (n = 3).

L'importance de cette capacité chélatrice réside dans son pouvoir de réduire la concentration de métaux de transitions catalyseurs de la peroxydation lipidique (Chang *et al.*, 2002). En effet, le fer peut stimuler l'oxydation des lipides par la réaction de Fenton, et accélérer également cette oxydation en décomposant les hydroperoxydes en radicaux peroxydes et alcoxydes qui peuvent à leur tour entretenir la réaction en chaîne. Les agents chélateurs qui forment une liaison de type σ avec les métaux sont actifs comme antioxydants secondaires car ils réduisent le potentiel redox et stabilisent la forme oxydée de l'ion métallique. Les travaux effectués ont élucidé l'importance des composés phénoliques qui s'avèrent de bons chélateurs des ions métalliques (Fernandez *et al.*, 2002). Les polyphénols peuvent piéger les métaux et éviter des réactions générant des radicaux libres.

Il a été prouvé que la quercétine chélate les ions métalliques de transition de fer intracellulaire, évitant ainsi son effet de catalyseur sur la formation des ROS. Il existe trois sites potentiels pour le métal à se lier à la quercétine (Figure 29) et le nombre des groupes OH et leur position sur le cycle de la molécule déterminent la capacité antioxydante des flavonols. (Leopoldine *et al.*, 2011).

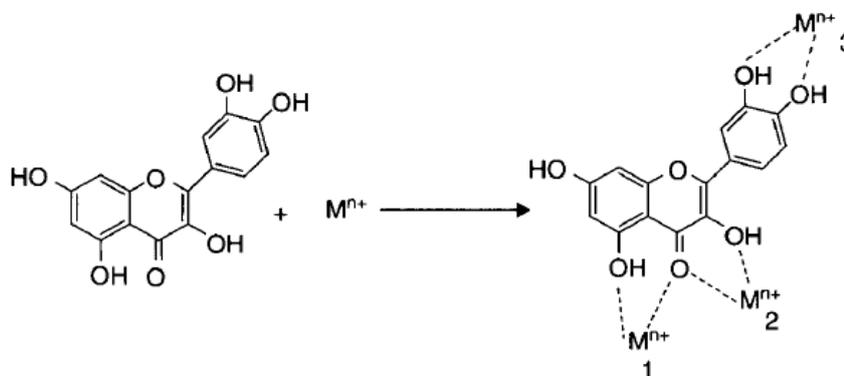


Figure 29 : Mécanisme de chélation des métaux de transition. (Leopoldine *et al.*, 2011)

2.3.2. Extrait méthanolique

Les extraits méthanoliques ont montré une activité chélatrice très importante avec des IC_{50} allant de 0.017 ± 0.001 jusqu'à 4.261 ± 0.111 mg/ml. Ceci s'explique par le fait que les extraits méthanoliques contiennent plus de composés à effet chélateur que les extraits aqueux et possèdent des affinités différentes pour le fer, en concurrence avec la Férozine. Les résultats obtenus montrent que les extraits méthanoliques de feuilles possèdent l'activité chélatrice la plus importante, avec des IC_{50} de 0.017 mg/ml inférieur à celle de l'EDTA standard avec une IC_{50} de 0.0074 mg/ml mais supérieure comparé à celle de quercétine et rutine (Figure 30). Ceci s'explique par la richesse de l'extrait de feuille en composés chélateur de fer suivie par les fleurs (0.048 ± 0.002 mg/ml), les graines (0.067 ± 0.009 mg/ml), les câpres (0.101 ± 0.029 mg/ml) et enfin les racines (4.261 ± 0.11 mg/ml) qui malgré cette activité faible par rapport aux autres extraits, reste toujours supérieure à celle de la rutine.

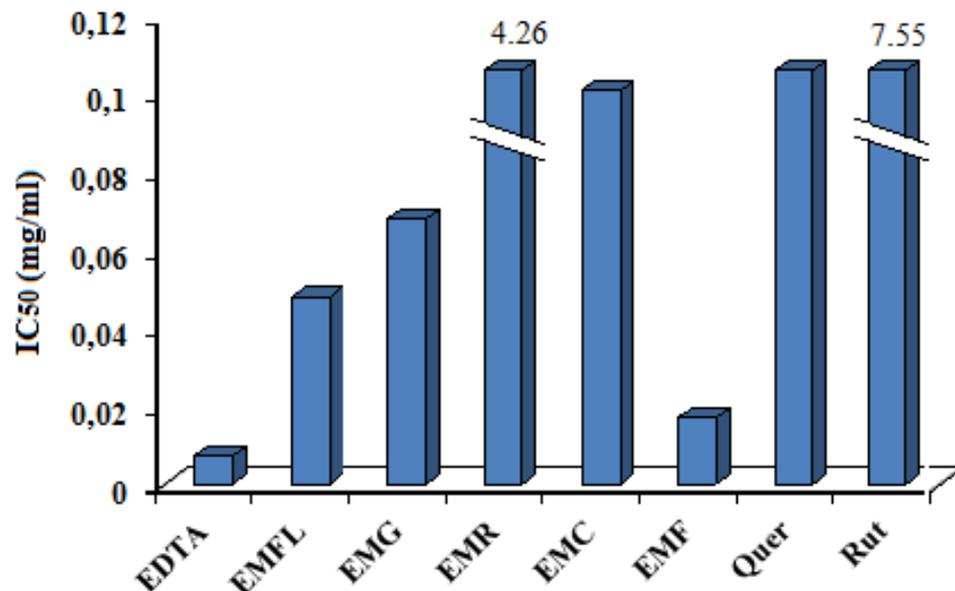


Figure 30 : Comparaison de l'activité chélatrice des ions métalliques de fer des différents extraits méthanoliques de *Capparis spinosa* avec les standards EDTA, Quercétine et Rutine. Chaque point représente la moyenne \pm SD (n = 3).

Les extraits méthanoliques de fleurs montrent aussi un grand pouvoir chélateur avec des IC_{50} de 0.017 mg/ml, mais presque 3 fois inférieur à celui de l'EDTA. Le pouvoir chélateur des extraits méthanoliques des racines reflètent le plus faibles pouvoir chélateur mais moins que la rutine ceci est confirmé par leur composition en polyphénols et flavonoïdes qui s'avère la plus faible comparé aux autres extraits (Figure 31).

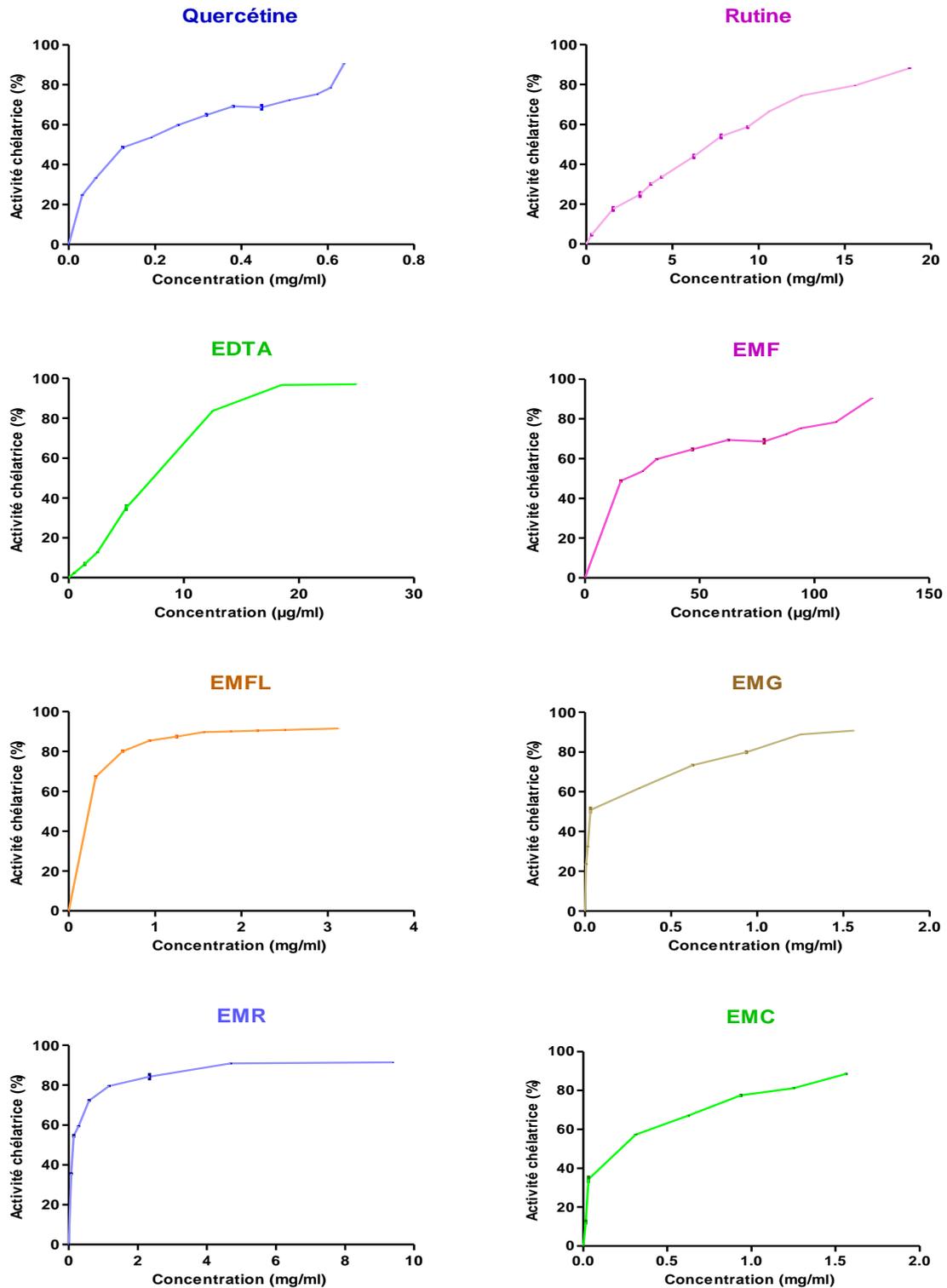


Figure 31 : Le pourcentage d'activité chélatrice en présence de concentration différentes d'extraits méthanoliques de EMF_L: fleurs, EMC : câpres, EMF : feuilles, EMG : graines, EMR : racines et les standards : d'EDTA, la Quercétine et la Rutine. Chaque point représente la moyenne \pm SD (n = 3).

6. EFFETS BRONCHORELAXANTS

L'objectif consiste à évaluer et comparer les effets relaxant ou contractant des extraits aqueux sur une réponse contractile induite par une solution physiologique contenant un agoniste des récepteurs muscariniques M_3 . Afin d'étudier cet effet relaxant ou contractant, différentes parties des extraits de *Capparis spinosa* à plusieurs concentrations ont été utilisées. Des trachées artères de rats de 8 à 12 semaines sont mises à l'épreuve. Dans un premier temps, on ajoute dans les systèmes de bains d'organe qui contiennent du milieu Krebs, de l'acétylcholine (Ach) à une concentration de 10 μ M, classiquement utilisé en pharmacologie pulmonaire comme agent broncho-constricteur impliqué dans la contraction des trachées chez l'homme. Pour analyser la réactivité des trachées. Une contraction réponse de cet agoniste indique que ces dernières sont réactives. Après atteinte du plateau de la contraction maximale, plusieurs lavages sont effectués, afin d'éliminer l'Ach des bains d'organe et d'induire la relaxation des trachées jusqu'au tonus basal.

Une fois le plateau atteint, des doses réponses croissantes des extraits sont ajoutées aux bains d'organe puis des doses croissantes d'acétylcholine (Ach) sont ajoutées de façon cumulative aux bains. Dans un deuxième temps, Le même protocole est effectué, des concentrations de 0.1 ; 1 et 10 mg/ml avec les différentes concentrations d'extraits sont ajoutées dans les bains et mises en incubation pendant 30 min. Des concentrations cumulatives d'acétylcholine sont ajoutés dans les systèmes d'organe isolés afin d'avoir des réponses biologiques spécifiques soit des effets relaxants ou contractants.

L'acétylcholine est un agoniste des récepteurs muscariniques M_3 couplés aux protéines G_q , par stimulation de la phospholipase C, elle provoque au niveau des bronches une bronchoconstriction. Il est à noter que la phospholipase C est responsable de la dégradation du phospho-inositol phosphate PIP membranaire en inositol-triphosphate (IP_3) et

diacylglycérol (DAG) entraînant par la suite la libération du Ca^{2+} (Senejoux *et al.*, 2013). L'accumulation de calcium dans le cytoplasme, en se liant avec la calmoduline, provoque la phosphorylation de la MLCK. Celle-ci se détache de la myosine, qui peut alors se lier à l'actine, ce qui provoque une constriction.

3.1. Effets des extraits aqueux sur la courbe dose-réponse

Les résultats des effets des extraits de *C. spinosa* sur les courbes dose-réponse induite par l'acétylcholine dans la trachée de rat sont présentés dans les tableaux 5, 6 et 7. Il est clair que les pEC50 étaient presque similaires, mais l'effet maximum (Emax) a montré un effet relaxant exercé par l'extrait aqueux de cêpre.

Tableau 5 : Valeurs de pEC50, Emax et % Emax à 0,1 mg/ml des feuilles (EAF), des cêpres (EAC) et des graines (EAG) sur la courbe de la concentration obtenue avec l'acétylcholine dans la trachée de rat pCE50 (-log EC50) et effet maximum (la réponse maximale) et % d'effet maximum ont été calculées par régression non linéaire des données expérimentales. La réponse maximale est exprimée comme le pourcentage de la contraction maximale à l'acétylcholine.

Extrait 0,1mg/ml	Contrôle	EAG	EAF	EAC
pEC50	3.28 ± 0.11	3.55 ± 0.32	3.41 ± 0.02	3.66 ± 0.24
Emax	1.76 ± 0.31	1.17 ± 0.37	2.56 ± 0.19	2.10 ± 0.54
% Emax	141.3 ± 18.93	147.35 ± 32.1	164.41 ± 5.35	157.11 ± 14.4

Tableau 6 : Valeurs de pEC50, Emax et % Emax à 1mg/ml des feuilles (EAF), des câpres (EAC) et des graines (EAG) sur la courbe de la concentration obtenue avec l'acétylcholine dans la trachée de rat pCE50 (-log EC₅₀) et effet maximum (la réponse maximale) et % d'effet maximum ont été calculées par régression non linéaire des données expérimentales. La réponse maximale est exprimée comme le pourcentage de la contraction maximale à l'acétylcholine.

Extrait 1mg/ml	Contrôle	EAG	EAF	EAC
pEC50	5.79 ± 0.30	5.68 ± 0.37	5.58 ± 0.26	5.63 ± 0.25
Emax	1.90 ± 0.15	1.94 ± 0.03	1.33 ± 0.36	0.91 ± 0.33
% Emax	128.4 ± 0.19	141.24 ± 29	198.07 ± 22	101.5 ± 6.4

Tableau 7 : Valeurs de pEC50, Emax et % Emax à 10 mg/ml des feuilles (EAF), des câpres (EAC) et des graines (EAG) sur la courbe de la concentration obtenue avec l'acétylcholine dans la trachée de rat pCE50 (-log EC₅₀) et effet maximum (la réponse maximale) et % d'effet maximum ont été calculées par régression non linéaire des données expérimentales. La réponse maximale est exprimée comme le pourcentage de la contraction maximale à l'acétylcholine.

Extrait 10 mg/ml	Contrôle	EAG	EAF	EAC
pEC50	3.03 ± 1.54	5.14 ± 0.56	3.66 ± 1.68	4.17 ± 0.68
Emax	0.84 ± 0.26	1.81 ± 0.61	0.33 ± 0.08	0.95 ± 0.41
% Emax	183.4 ± 43.77	104.34 ± 27.44	181.73 ± 22	46.77 ± 1.52

A faible concentration des extraits à 0.1 mg / ml (Figure 32A), aucun effet significatif n'a été observé à toutes les concentrations cumulés d'acétylcholine (10^{-9} à 10^{-4} M) . Lorsque une concentration d'extrait utilisée à 1 mg/ml (Figure 32B), un effet relaxant, mais seulement à des concentrations élevées d'acétylcholine (10^{-6} à 10^{-4} M) a été montré par l'extrait de fruits qui a donné le même effet à 10 mg/ml. En revanche, l'extrait de feuilles a montré un effet contractile. Cependant, à la concentration de 10 mg/ml (figure 32C), l'extrait de feuilles donne un effet contractile à toutes les doses d'acétylcholine (effet synergique).

On peut suggérer que les extraits de grains et de côpres possèdent une action stimulatrice de la contraction à faible concentration et inhibitrice à forte concentration. Contrairement aux côpres et aux graines, les extraits de feuilles ont montré des effets bronchocontractants soit à faible ou à forte concentration.

Les extraits aqueux de côpres à des concentrations de 1mg/ml inhibent la bronchoconstriction induite par l'acétylcholine, qui est intimement impliquée dans la constriction des muscles lisses des voies respiratoires accompagnant l'asthme.

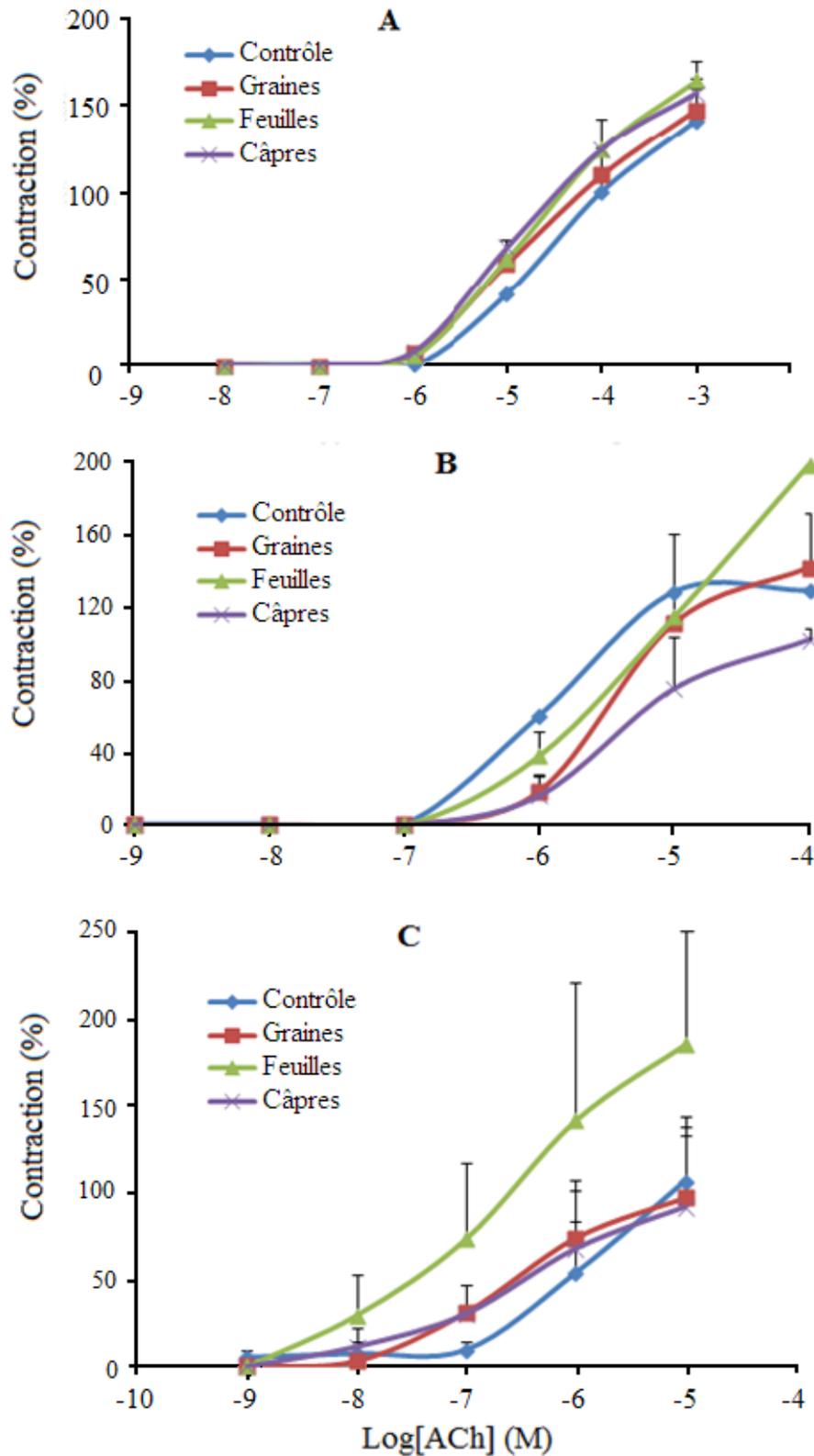


Figure 32 : Effets des extraits aqueux de fruits, graines et feuilles aux concentration 0.1 (A), 1 (B) et 10 mg/ml (C) sur la trachée artère de rat sur la concentration réponse à l'acétylcholine. Les résultats sont exprimés en pourcentage maximal de la réponse obtenue. Chaque point est la moyenne \pm SEM (n = 6).

Les extraits aqueux des fruits de *Capparis spinosa* s'avèrent posséder un effet bronchodilatateur des trachées précontractées par l'acétylcholine comme indiqué dans la figure 33. Cet effet ne pouvait être attribué à la quantité de polyphénols et les flavonoïdes, mais à leur qualité. Nous avons précédemment estimé (voir plus haut) que la cône contenait 7.2 mg Eq-AG / g d'extrait sec et seulement 1.1 mg Eq-R / g d'extrait sec . Cependant, les extraits de feuilles et des graines contiennent plus de polyphénols (56.98 et 35.85 Eq-GAC / g d'extrait sec, respectivement) et les flavonoïdes (11.2 et 2.35 mg Eq-R / g d'extrait sec, respectivement).

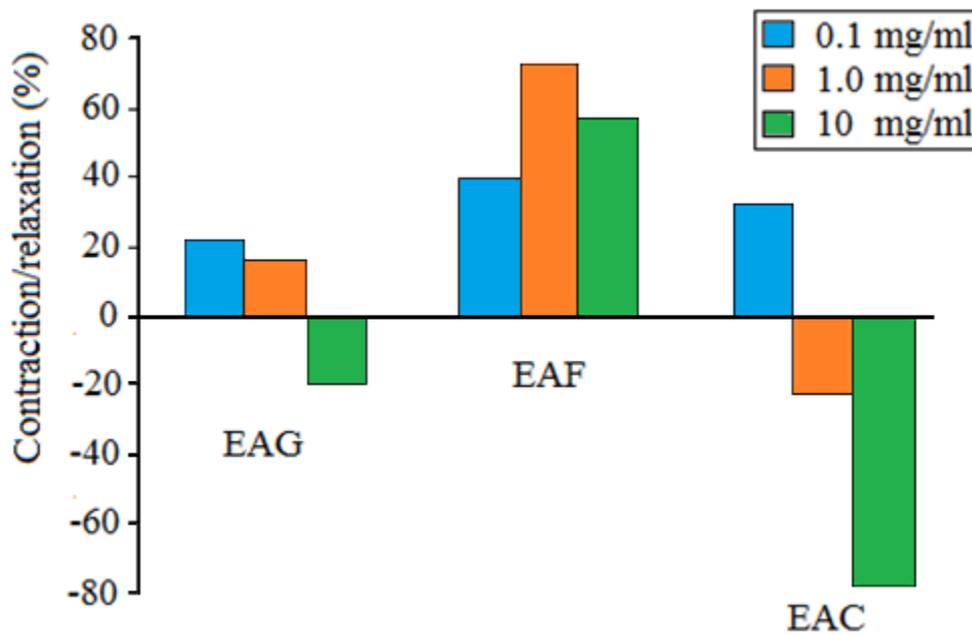


Figure 33 : Effets des extraits aqueux de *Capparis spinosa* après addition des concentrations 0.1, 1 et 10 mg/ml, des extraits aqueux de graines (EAG), de feuilles (EAF) et de cônes (EAC) au plateau de contraction induite par l'Acétylcholine (10^{-4} M) sur les anneaux de trachée de rat. Les résultats sont exprimés en différences entre les pourcentages de la réponse maximale des anneaux traités et le contrôle obtenus après 30 mn d'incubation. (n = 6)

Le blocage des récepteurs muscariniques a été suggéré pour l'effet de l'extrait puisque ces récepteurs sont responsables de la contraction du muscle lisse bronchique et trachéique et cette contraction est évidente d'après les affinités fonctionnelles d'une variété d'antagonistes sélectifs dans les voies respiratoires des tissus de divers espèces, y compris les humains (Van Nieuwstadt *et al.*, 1997 ; Roffel *et al.*, 1990). Les effets bronchorelaxants de l'extrait de fruits observés dans le présente étude pourrait être une puissance et un avantage potentiels chez les patients asthmatiques qui souffrent d'un rétrécissement du calibre des bronches ce qui réduit le débit de l'air inspiré et respiré (Barnes *et al.*, 2002).

4. EFFETS VASOMOTEURS

La contraction des vaisseaux est soumise à une régulation nerveuse par le système nerveux sympathique notamment et à une régulation humorale (par des facteurs libérés dans la circulation sanguine ou localement au sein même des tissus vasculaires ou cardiaques). Cette contraction survient lorsque la concentration calcique intra-cytoplasmique de la cellule musculaire lisse augmente. L'ouverture des canaux calciques membranaires intervient notamment dans ce processus. Certaines molécules possèdent la propriété de bloquer ces canaux calciques, inhibant ainsi l'influx calcique dans la cellule et réduisant le tonus contractile du vaisseau (Wright *et al.*, 2011). Ces inhibiteurs d'influx calcique sont utilisés en thérapeutique cardiovasculaire, notamment comme antihypertenseurs.

L'objectif de cette étude consiste à évaluer les effets des différents extraits de *Capparis spinosa* sur une réponse contractile induite par une solution physiologique par un agoniste des récepteurs α_1 -adrénergiques : la phényléphrine qui est principalement utilisée comme réactif pharmacologique. Elle est actuellement utilisée en thérapeutique essentiellement comme agent vasoconstricteur local. Pour l'étude des effets vasoactifs des

extraits aqueux de *Capparis spinosa*, les anneaux de l'aorte ont été montés dans les bains d'organe isolés, la tension était réglée à 2.5 g. Après un équilibrage pendant 1h 30 mn, les solutions de Krebs sont renouvelées tous les 10 mn. Avant de commencer les protocoles expérimentaux une dose de phényléphrine à 10^{-5} M était administrée pour tester la réactivité des anneaux vasculaire. Les anneaux sont équilibrés pendant 90 mn. Les extraits de fleurs sont alors ajoutés en même temps que des concentrations cumulatives de phényléphrine en vue d'estimer leurs effets synergiques ou antagonistes à ce vasoconstricteur.

Dans cette partie de travail, nous n'avons examiné que l'extrait de fleurs qui a manifesté un puissant potentiel vasorelaxant sur l'aorte thoracique de rat Wistar, par épuisement des autres extraits, nous devons attendre le mois de juin pour continuer cette partie de l'étude.

4.1. Effet de *Capparis spinosa* sur la dose-réponse induite par la phényléphrine sur l'anneau aortique

La dose de phényléphrine 10^{-5} M ajoutée pendant la phase de plateau a induit une contraction (vasoconstriction). Après 60 mn d'équilibrage, et retour au plateau on ajoute dans les bains d'organe isolés, l'extrait aqueux à des concentrations 1mg/ml et 10 mg/ml pour déterminer si ces extraits possèdent un effet relaxant/contractant à une dose de phényléphrine de 10^{-5} M.

Une autre expérience avec incubation de 30 mn des anneaux aortiques avec les extraits de fleurs à deux concentrations : 1 mg/ml et 10 mg/ml puis des concentrations cumulatives de phényléphrine sont ajoutées dans les bains à concentrations croissantes allant de (10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} et 10^{-6} M) (Figure 34).

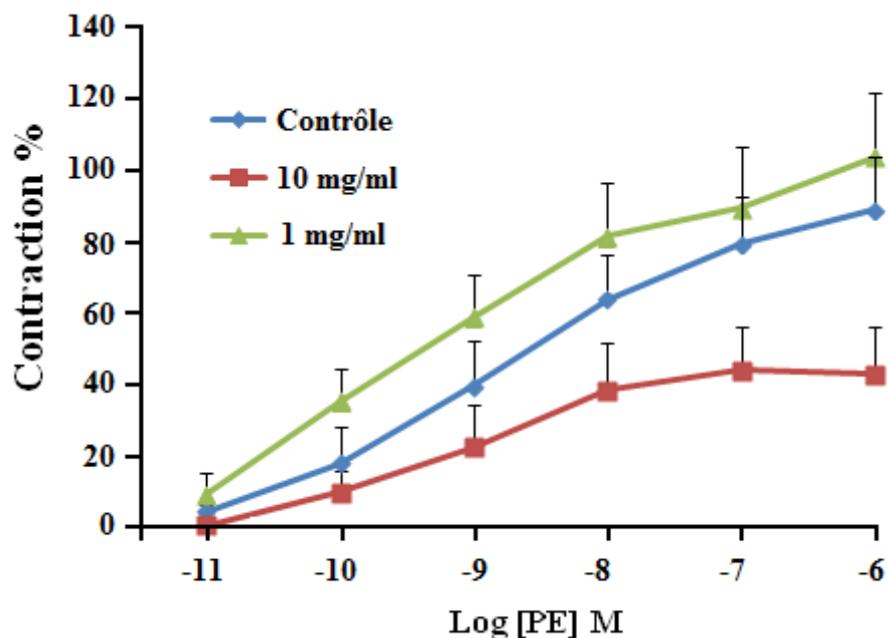


Figure 34 : Effet des EAF_L à 1mg / ml et 10 mg/ml par rapport au contrôle dans le plateau de contraction induite par phényléphrine (PE) sur anneau d'aorte thoracique. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la réponse maximale obtenue dans la stimulation initiale. (n = 7)

Les préparations des anneaux d'aorte thoracique de rats précontractées avec de la phényléphrine (10^{-5} M) ont subi en présence de concentration d'extraits 10 mg/ml une inhibition des contractions induites de manière dose-dépendante (Tableau 8).

Tableau 8 : Les valeurs de pEC₅₀, E_{max} et % E_{max} des extraits aqueux, EAF_L 1 et 10 mg/ml sur la courbe de concentration obtenue avec la phényléphrine dans l'aorte de rat p EC₅₀ (-log EC₅₀) et la réponse maximale sont calculés par régression non-linéaire des données expérimentales. Contraction maximum obtenue à la première stimulation à la phényléphrine.

Extrait de Fleurs	pEC ₅₀	E _{max} (g)	% E _{max}
Contrôle	7.00 ± 0.29	1.04 ± 0.21	89 ± 14
1 mg/ml	7.78 ± 0.26	2.10 ± 1.77	102 ± 15
10 mg/ml	7.36 ± 1.91	1.13 ± 0.26	70 ± 11

La comparaison de l'effet maximal exercé par l'extrait de fleurs de *Capparis spinosa* sur les anneaux aortiques permet de constater que cet extrait possède un effet légèrement synergique à la phényléphrine (effet contracteur) lorsqu'il est ajouté avec une concentration de 1 mg/ml, alors qu'il montre un effet antagoniste (relaxant) lorsqu'il est additionné à la concentration de 10 mg/ml (Figure 35).

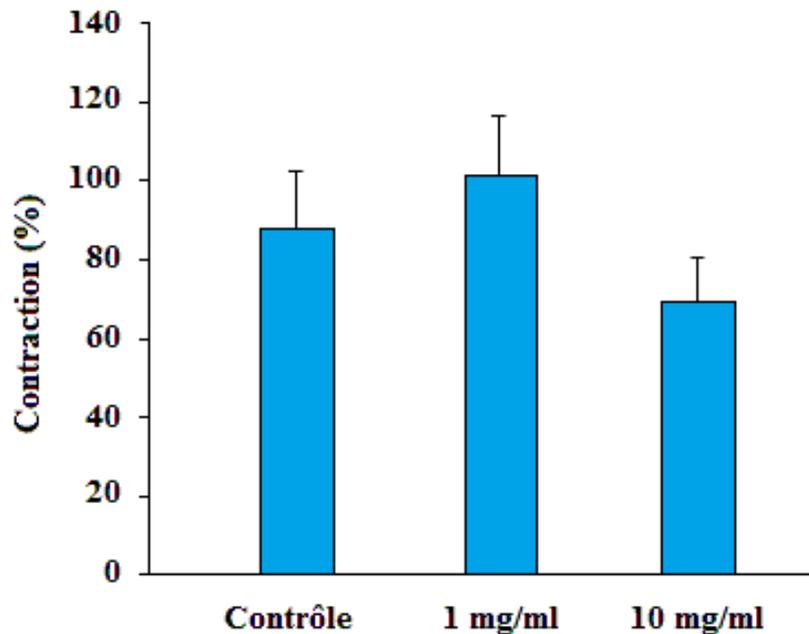


Figure 35 : Effet des extraits aqueux de fleurs EAF_L à la dose de 1 mg / ml et 10 mg/ml additionné à la phase de la contraction induite par phényléphrine sur l'anneau d'aorte de rat. Les résultats sont exprimés en différence entre pourcentage de la réponse maximale obtenue après 30 mn d'incubation. Chaque point est la moyenne \pm SEM (n = 7)

Les substances ayant des effets vasodilatateurs exercent le plus souvent leurs effets sur les cellules endothéliales. Les CE vont ensuite libérer le NO responsable de la relaxation des CMLV (Monteiro *et al.*, 2012 ; Manga *et al.*, 2013). Les récepteurs de ces substances sont,

dans ce cas, surtout localisés au niveau des CE, les CMLV ne possédant pas ou peu de récepteurs. Afin de compléter ses travaux, une étude sur la caractérisation des récepteurs ou les médiateurs impliqués dans une réponse donnée doit compléter nos travaux. Beaucoup de travaux ont déterminé le rôle fondamental de quelques substances vasodilatatrices qui sont synthétisées et libérées par endothélium dans la régulation de la vasomotricité. Les plus connues sont l'oxyde nitrique (NO), la prostacycline (PGI₂) et le facteur hyperpolarisant d'origine endothéliale (EDHF). Dans notre étude, les substances contenues dans l'extrait soit des flavonoïdes ou des polyphénols sont impliquées dans cette propriété relaxante.

Il est établi que le calcium joue un rôle important dans la contraction musculaire. La relaxation de la cellule musculaire lisse vasculaire serait liée à la baisse de la concentration intracellulaire en calcium. La baisse de la concentration intracellulaire en Ca²⁺ a lieu, soit par expulsion du calcium intracellulaire à l'extérieure de la cellule, soit par recaptage du calcium intracellulaire dans le réticulum sarco-endoplasmique principalement par l'intermédiaire des ATPases dépendantes du Ca²⁺. Un tel mécanisme pourrait être impliqué dans la propriété observée de l'extrait de plante. On sait aussi que la phosphorylation du phospholambane est un facteur important de la vasorelaxation. Beaucoup de vasorelaxants utilisent cette voie de phosphorylation après augmentation de l'AMPc ou du GMPc intracellulaire et après activation des protéines kinases qui leurs sont spécifiques. Une implication de ces mécanismes de régulation dans les propriétés vasorelaxantes des extraits aqueux de fleurs (EAF_L) reste également à explorer.

5. EVALUATION DE LA CYTOTOXICITE DES EXTRAITS DE *CAPPARIS SPINOSA*

Dans la présente étude, l'effet cytotoxique des extraits méthanoliques à partir des différentes parties de *Capparis spinosa* a été étudié sur des cellules hépatiques de rat en utilisant un test du rouge neutre (NR). Le test NR est couramment utilisé dans la biologie cellulaire pour l'étude des facteurs de croissance, des cytokines et la cytotoxicité d'agents chimio-thérapeutiques comme il offre une méthode quantitative et simple pour évaluer la réponse de la population de cellules à des facteurs extérieurs. Dans le protocole initial l'évaluation de l'activité cytotoxique des extraits est estimée à partir de la quantité de rouge neutre absorbée par les cellules représentant les cellules vivantes. Compte tenu de la très petite quantité du RN absorbée, nous avons évalué la quantité restante et par différence, la quantité absorbée est calculée. Les résultats présentés dans la figure 36 montrent les pourcentages des absorbances du NR restant par rapport au témoin cellulaire sans aucun traitement. Il s'est avéré que les petites concentrations des extraits ont peu d'effet alors qu'à partir de la concentration de 37.5 µg/ml, une différence significative est observée pour toutes les parties de la plante.

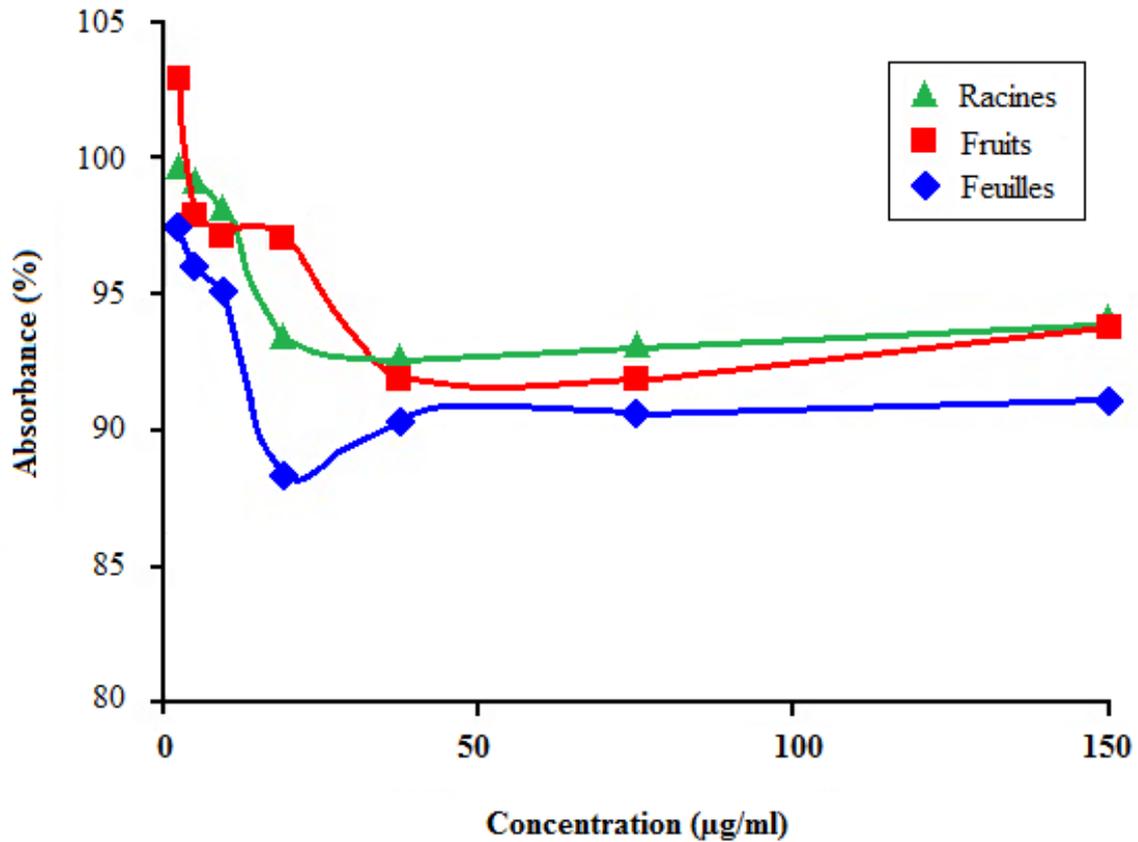


Figure 36 : Effet des extraits méthanoliques des différentes parties de *Capparis spinosa* avec différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en % des absorbances du rouge neutre non absorbé par les cellules hépatiques de rat en culture.

Contrairement à ce qui était attendu, les extraits paraissent posséder un effet prolifératif plutôt qu'un effet cytotoxique. Une augmentation progressive de la quantité du rouge neutre est observée témoignant d'un nombre de cellule plus important que dans les puits renfermant les cellules non traitées. A 150 µg/ml, l'effet est maximal (Figure 37).

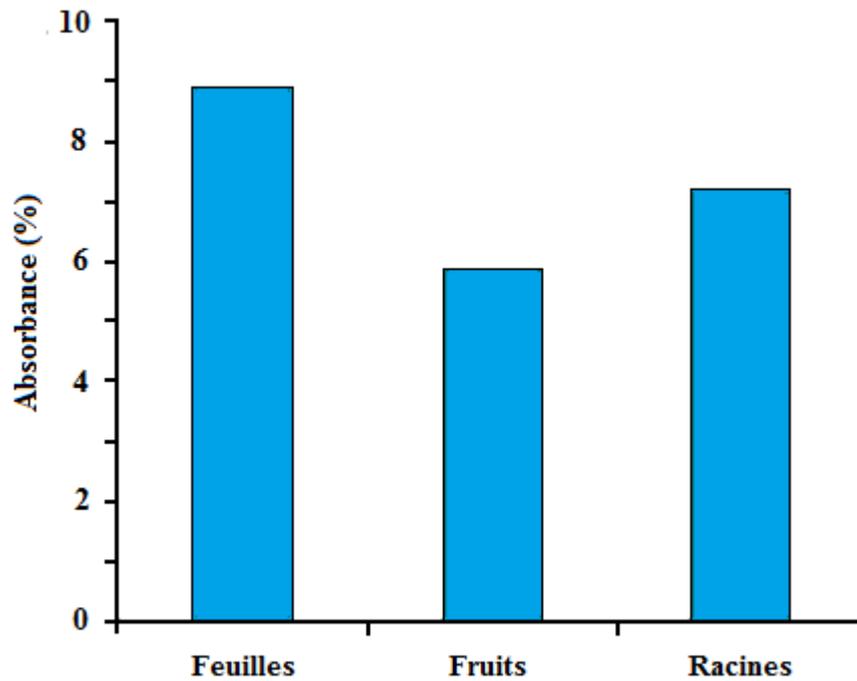


Figure 37 : Effet prolifératifs des extraits méthanoliques des différentes parties de *Capparis spinosa* avec la concentration 150 µg/ml. Les résultats sont exprimés en % des absorbances du rouge neutre absorbé par les cellules hépatiques de rat en culture calculées à partir des différences entre les absorbances initiales et après incubation avec le rouge neutre.

Les résultats dans cette partie du travail montrent bien que les extraits méthanoliques de *Capparis spinosa* ne sont pas cytotoxiques mais sont plutôt favorisant la multiplication cellulaire. Ce travail prometteur reste préliminaire et nécessite un approfondissement pour être confirmé et pour comprendre le mode d'action des extraits et leurs compositions pouvant renfermer des substances facteurs de croissance. Ces extraits peuvent être utilisés dans les cas de nécessité de division cellulaire accrue comme lors des blessures, déficits immunitaires...

DISCUSSION GENERALE

Dans la présente thèse, une étude comparative des effets des différentes parties de la plante médicinale *Capparis spinosa* a été effectuée. Les résultats de l'évaluation des effets antioxydants a montré de grandes différences entre les extraits des différentes parties, d'une part, et entre l'extrait méthanolique et aqueux d'autre part. Cette activité est due au fait que *Capparis spinosa* possède un potentiel antioxydant et une capacité de capter les radicaux libres, en raison de sa teneur en polyphénols et en flavonoïdes. Bhojar *et al.*, en 2011 ont aussi montré le potentiel antioxydant des extraits méthanoliques des feuilles de *Capparis spinosa*.

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test de DPPH, a révélé un grand pouvoir antioxydant surtout pour l'extrait méthanolique. Les extraits polaires se sont révélés moindre. Les extraits méthanoliques des feuilles et des fruits possèdent une forte activité antioxydante prouvée au DPPH et au béta carotène /acide linoléique. Les extraits aqueux renferment moins de polyphénols et de flavonoïdes et présentent des activités antioxydantes moins prononcées. Les extraits de racines en sont également pauvres et donc plus faible en activité.

Le rôle antioxydant de ces composés était montré par plusieurs auteurs (Kahkonen *et al.*, 1999 ; Williams *et al.*, 2004). En effet, selon Turkmen *et al.* (2007), les polyphénols sont des donneurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH. Cependant, le mécanisme d'action et le type précis de réaction entre les antioxydants présents dans les extraits de *Capparis spinosa* et le DPPH dépendent de conformation spatiale de chacun d'entre eux.

De plus, le nombre d'hydroxyles est l'élément structural qui détermine la capacité des composés à piéger le radical DPPH, comme cela est classiquement observé pour un certain nombre de composés (Halbwirth, 2010). Mais du fait de la diversité du contenu en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits, il est difficile de prédire le mode d'action impliqué dans ce cas précis.

De nombreuses études ont mis en exergue l'importance du rôle des polyphénols dans la prévention et /ou contre la progression de plusieurs maladies humaines (Halliwell *et al.*, 1989 & 1999). L'effet prometteur des antioxydants issus des plantes sur la santé peut résulter de leur effet protecteur basé sur leur capacité d'éliminer les ROS.

Les études sur les effets antioxydants des extraits de plantes médicinales et la recherche de produits naturels occupent actuellement une place très avancée. Le but essentiel est de les substituer aux antioxydants de synthèse ayant des effets secondaires variés. La présente étude montre bien que *Capparis spinosa*, est une plante qui pourrait sans doute faire partie des plantes médicinales à exploiter. En outre, certaines vertus médicinales révélées par les tradipraticiens sont probablement dues à leurs propriétés antioxydantes.

Le test de l'activité chélatrice a révélé que les différents extraits aqueux manifestent une grande activité chélatrice relativement supérieur à celle de la quercétine et la rutine. On constate une grande corrélation entre l'activité chélatrice des extraits aqueux de *Capparis spinosa* et leurs teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes. Cela laisse supposer que cette activité est due principalement à ces composés.

Les profils chélateurs des extraits méthanoliques montrent aussi que les différents extraits de *Capparis spinosa* interfèrent d'une manière dose-dépendante avec la formation du complexe (Fe²⁺-Férozine), avec un potentiel chélateur plus grand comparé à celui des extraits aqueux. Ceci peut être expliqué par leur richesse en polyphénols et en flavonoïdes.

Grâce à leur structure chimique spécifique, les flavonoïdes peuvent facilement chélater les ions métalliques en créant des composés complexes inactifs. La capacité de chélation des ions métalliques par les flavonoïdes est très largement dépendante du nombre d'hydroxyles dans la molécule (Halbwirth, 2010). Les 3 sites de chélation principaux se situent (1) entre

l'hydroxyle en 5 et le carbonyle en position 4, (2) entre l'hydroxyle en position 3 et le carbonyle en 4 et (3) entre les deux hydroxyles en position 3' et 4' sur le cycle B.

Il a été rapporté que la chélation d'ions métalliques est à l'origine de l'inhibition des lipoxygénases par les flavonoïdes. Les lipoxygénases, des enzymes contenant du fer, catalysent l'incorporation stéréospécifique de l'oxygène moléculaire sur l'acide arachidonique pour obtenir des acides gras polyinsaturés avec un motif 1,4-cis, cis-pentadiène. Six (humaines) /7 (souris) membres de la famille des lipoxygénases sont connues pour leurs profils d'expression dans les cellules inflammatoires et de certains paramètres dans les cellules endothéliales (Funk, 2006). Ce phénomène peut être généralisé à toutes les métalloenzymes.

La recherche de l'effet bronchoactif a montré que les extraits aqueux des feuilles de *Capparis spinosa* ont une action broncho-constrictive. Par contre, les fruits possèdent un effet broncho-relaxant. Ces résultats suggèrent que les extraits contiennent un antagoniste des récepteurs activés par l'acétylcholine dans la trachée. Le blocage de l'influx de Ca^{2+} à travers les canaux calciques voltage-dépendants peut être impliqués. L'activation de ces récepteurs par l'Ach provoque une entrée / libération d'ions Ca^{2+} due à une dépolarisation membranaire qui est à l'origine de la contraction (Boskabady *et al.*, 2004 ; 2007).

Les effets des extraits de *Capparis spinosa* en milieu physiologique de Krebs provoquent au niveau des aortes thoraciques une vasodilatation. Cet effet de l'extrait sur la contraction de l'aorte pourrait évoquer quelques propriétés vasomotrices, ce qui expliquerait son utilisation dans le traitement de certains troubles cardiaques ou vasculaires.

Ces résultats suggèrent une action des principes actifs des extraits mis à l'épreuve sur les récepteurs muscariniques. La mobilisation des ions Ca^{2+} des sites intracellulaires ne serait

pas à exclure. On suppose que l'extrait de *C. spinosa* agirait en augmentant l'échange $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, mobilisant le Ca^{2+} intracellulaire.

Herrera *et al.* (1996) ont décrit, les effets vasodilatateurs de sept flavonoïdes dans les anneaux aortiques de rats sur les contractions induites par la noradrénaline, KCl et le PMA dérivé d'ester de phorbol. Plusieurs mécanismes sont impliqués dans les effets vasodilatateurs des flavonoïdes : (1) inhibition de la protéine kinase C, (2) inhibition des phosphodiesterases des nucléotides cycliques GMP_c et AMP_c , et/ou (3) diminution des ions Ca^{2+} . La présence de liaison double en position $\text{C}_2\text{-C}_3$ du système cyclique de benzopyrane augmente le potentiel vasodilatateur des molécules testées.

De nombreuses études ont suggéré que les flavonoïdes présentent une large activité pharmacologique, y compris antiallergique, antivirale, anti-inflammatoire, antidiabétique, un effet protecteur des maladies cardio-vasculaires, vasodilatateurs, entre autres Harborne et Williams (2000).

***CONCLUSION
ET PERSPECTIVES***

1. CONCLUSION

Le « stress oxydant » est la rupture d'équilibre en faveur des antioxydants. Cette dernière est due, soit à un déficit en antioxydant soit à une surproduction des radicaux libres, ou aux deux à la fois. Ce déséquilibre a pour conséquence des maladies comme l'hypertension artérielle : maladie cardio-vasculaire avec l'impact le plus épidémiologique dans le monde. Elle représente de surcroît un facteur de risque majeur pour le développement d'autres maladies telles la dysfonction endothéliale, le syndrome métabolique, le diabète, l'insuffisance rénale, l'insuffisance cardiaque congestive, la maladie coronarienne et l'accident vasculaire cérébral.

Actuellement, il existe des médicaments antihypertenseurs utilisés pour contrôler la pression artérielle. Ils sont classés comme vasodilatateurs. A titre indicatif, les médicaments inhibiteurs sympatholytiques – calciques, qui agissent sur le système rénine-angiotensine et diurétiques. Malgré cela, les compagnies pharmaceutiques ont montré que les produits naturels représentent toujours la source extrêmement précieuse pour la production de nouvelles entités chimiques pour le traitement des maladies.

A ce propos, la prise de conscience du rôle du câprier dans le développement durable des territoires ruraux d'Afrique du Nord et de l'Algérie en particulier. Les fonctions écologiques, médicinales et socio-économiques nous ont amenée à élire cette plante médicinale comme objet de nos recherches.

Les résultats de nos travaux ont montré que les différents extraits aqueux et méthanoliques de *Capparis spinosa* présentent une activité vasorelaxante sur des aortes thoraciques et broncho relaxante, sur des trachées de rats. La dose-dépendante rend intéressant son emploi dans le traitement des maladies cardiovasculaires, les hypertensions artérielles, broncho-pneumonie-chronique-obstructive, asthme etc *Capparis spinosa*

semble présenter des intérêts réels et potentiels par leurs activités remarquables : antioxydantes, pour contrer les effets néfastes des radicaux libres, inhibitrices de la peroxydation lipidique pour la protection de l'oxydation des membranes. Les pouvoirs piégeurs du radical DPPH dû à ses richesses en composés phénoliques et flavonoïques, fait de cette plante une source prometteuse pour le traitement de beaucoup de maladies.

Cette plante possède aussi d'excellentes activités de chélateurs qui pourraient être dues aux composés tels que les flavonoïdes, les phénols et les tanins. L'importance de cette capacité chélatrice réside dans son pouvoir de réduire la concentration de métaux de transitions catalyseurs de la peroxydation lipidique. En effet, le fer peut stimuler l'oxydation des lipides par la réaction de Fenton, Il accélère également cette oxydation en décomposant les hydroperoxydes en radicaux peroxydes et alcoxydes qui peuvent à leur tour entretenir la réaction en chaîne.

2. PERSPECTIVES

- Valoriser le potentiel de *Capparis spinosa* par des études approfondies sur la pharmacocinétique et la pharmacodynamique.
- Isoler le ou les principe (s) actif (s) responsables des différentes activités.
- Etudier le mode d'action et les facteurs influençant leur efficacité.
- Déterminer la toxicité potentielle chez l'animal et la posologie adéquate.
- Elucider les mécanismes par lesquels *C. spinosa* provoque une relaxation : les propriétés anti-cholinergiques de l'extrait aqueux.
- Etudier la cytotoxicité des différents extraits sur la culture des hépatocytes et splénocytes.
- Employer cette plante pour la fabrication des phytomédicaments.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aghel N, Rashidi I and Mombeini A (2007). Hepatoprotective Activity of *Capparis Spinosa* Root Bark Against CCl₄ Induced Hepatic Damage in Mice. *Iranian J. Pharmaceut. Res.* 6(4):285–290.
- Aguilaniu B, Flore P, Page E, Maitre J, Lacour JR and Perrault H (1998). Effects of indomethacin and polyunsaturated fatty acid diet on exercise-induced hypoxaemia in master athletes. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 77(1-2) :81-88.
- Al-Asady AAB, Khalil KH and Barwari SSM (2012). Cytotoxic and Cytogenetics Effects of Aqueous, Methanolic and Secondary Metabolites Extracts of *Capparis Spinosa* on Tumor Cell Lines *in vitro*. *JJBS Jordan Journal of Biological Sciences.* 5(1): 15 – 30.
- Ali-Shtayeh SM and Abu Ghdeib SI (1999). Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses.* 42(11-12):665-672.
- Al-Jawad FH, Al-Razzuqi RA, Hashim HM and Ismael AH (2012). Broncho-relaxant activity of *Nigella sativa* versus *Anthemis nobilis* in chronic bronchial asthma; a comparative study of efficacy. *IOSR Journal of Pharmacy (IOSRPHR).* 2(4): 81-83.
- Anderson CM, Hallberg A and Hogberg T (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug Res.* 28: 65-180.
- AnilKumar PR, Bindu M, Kumar ATV and Kumari TV (2002). Culture of neonatal rat liver cells: A preliminary observation. *Trends Biomater. Artif. Organs.* 16 (1): 34-37.
- Arena A, Bisignano G, Pavone B, Tomaino A, Bonina FP, Saija A, Cristani M, D'Arrigo M and Trombetta D (2008). Antiviral and immunomodulatory effect of a lyophilized extract of *Capparis Spinosa* L. buds. *Phytother Res.* 22 (3): 313-317.
- Argentieri M, Macchia F, Papadia P, Fanizzi FP and Avato P (2012). Bioactive compounds from *Capparis Spinosa* subsp. *Rupestris*. *Industrial Crops and Products.* 36: 65–69.
- Aslan A, Güllüce M, Sökmen M, Adigüzel A, Sahin F and Özkan H (2006). Antioxidant and antimicrobial properties of lichens *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon miniatum*, *Everinia divaricata*, *Everinia prunastri* and *Neofuscella pulla*. *Pharmaceutical and Biology.* 44: 247-252.
- Ateyyat MA, Al-Mazra'awi M, Abu-Rjai T and Shatnawi MA (2009). Aqueous extracts of some medicinal plants are as toxic as Imidacloprid to the sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci*. *Journal of Insect Science.* 9: 1-6.
- Avila-Villarreal G, Hernández-Abreu O, Hidalgo-Figueroa S, Navarrete-Vázquez G, Escalante-Erosa F, Peña-Rodríguez LM, Villalobos-Molina R, Estrada-Soto S (2013). Antihypertensive and vasorelaxant effects of dihydropinochalcone-A isolated from *Lonchocarpus xuul* Lundell by NO production: Computational and ex vivo approaches. *Phytomedicine.* 20: 1241– 1246.
- Azzi A (2007). Molecular mechanism of α -tocopherol action. *Free Radic Biol Med.* 43 :16–21.
- Baghiani A, Ameni D, Boumerfeg S, Adjadj M, Djarmouni M, Charef N, Khennouf S and Arrar L (2012). Studies of Antioxidants and Xanthine Oxidase Inhibitory Potentials of Root and Aerial Parts of Medicinal Plant *Capparis Spinosa* L. *Am. J. Med. Medical Sci.* 2(1): 25–32.

- Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunete C, Dine T, Vasseur J, Gazin JC, Pinkas M, Luycky M and Gazin M (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneim Forsch/Drug Res.* 1-6.
- Baillie JK, Bates MGD, Thompson AAR, Waring WS, Partridge RW, Schnopp MF, Simpson A, Gulliver-Sloan F, Maxwell SRJ and Webb DJ (2007). Lowland Subjects Exposed to High Altitude Plasma Antioxidant Capacity in Healthy Endogenous Urate Production Augments. *Chest.* 131:1473-78
- Barnes JP (2000). Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Lancet.* 343 : 269-280.
- Barnes JP (2002). New Treatments For COPD. *Nat Rev Drug Discov.* 1 : 437-445.
- Barnes JP (2010). New therapies for chronic obstructive pulmonary disease. *Med Princ Pract* 19: 330-338.
- Baydar NG, Ozkan G and Yasar S (2007). Evaluation of flavonoids and antioxidant potential of grape extracts. *Food Control.* 18: 1131-1136.
- Behnaz M, Asli E, Davood and Anoosh E (2012). Caper the Mystique of the recent century. *Intl. J. Agric. Crop Sci.* Vol 4:10 604-608.
- Belvisi MG and Bottomley KM (2003). The Role Of Matrix Metalloproteinases (Mmps) In The Pathophysiology Of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD): A Therapeutic Role For Inhibitors Of Mmps? *Inflamm Res.* 52 : 95-100.
- Benseghir-Boukhari LA et Seridi R (2007). Le câprier, une espèce arbustive pour le développement rural durable en Algérie. *Méditerranée* 109.
- Bergeron C and Boulet LP (2006). Structural Changes In Airway Diseases: Characteristics, Mechanisms, Consequences, And Pharmacologic Modulation. *Chest.* 129 : 1068-1087.
- Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Watson AD and Lusis AJ (1995). Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation.* 91: 2488-96.
- Bhojar MS, Mishra GP, Naik PK and Srivastava RB (2011). Estimation of antioxidant activity and total phenolics among natural populations of Caper (*Capparis Spinosa*) leaves collected from cold arid desert of trans-Himalayas. *AJCS.* 5(7): 912-919.
- Biesalski HK and Grimm P (2001). Atlas de poche de Nutrition. *Maloine* : Paris.
- Bloomer RJ and Fisher-Wellman KH (2008). Blood Oxidative Stress Biomarkers: Influence of Sex, Training Status, and Dietary Intake. *Gender Medicine.* 5(3): 218-28.
- Bloomer RJ and Goldfarb AH (2004a). Anaerobic exercise and oxidative stress: A review. *Can J Appl Physiol.* 29(3): 245-263.
- Bloomer RJ, Goldfarb AH, McKenzie MJ, You T and Nguyen L (2004b). Effects of antioxidant therapy in women exposed to eccentric exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 14(4) :377-88.
- Bonina F, Puglia C, Ventura D, Aquino R, Tortora S, Sacchi A, Saija A, Tomaino A, Pellegrino ML and Caprariis 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.
- Boskabady MH, Shirmohammadi B, Jandaghi P and Kiani S (2004). Possible mechanism (s) for relaxant effect of aqueous and macerated extracts from *Nigella sativa* on tracheal chains of guinea pig. *BMC Pharmacol* 4: 3.

- Boskabady MH, Aslani MR, Mansuri F and Amery S (2007). Relaxant effect of *Satureja hortensis* on guinea pig tracheal chains and its possible mechanism(s). *DARU*. 15(4): 199-204.
- Boumerfeg S, Ameni D, Adjadj M, Djarmouni M, Khennouf S, Arrar L and Baghiani A (2012). Antihymolytic and Antioxidant Effects of Medicinal Plant *Capparis Spinosa* L. *Journal of Life Sciences*. 6 : 637-643
- Bouزيد W, Yahia M, Abdeddaim M, Aberkane MC and Ayachi A (2011). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'*Aubepine monogyne*. *Lebanese Science Journal*. 12(1): 59-69.
- Bruneval P (2003). Structure de la paroi artérielle normale: notions pratiques. L'athérosclérose : Physiopathologie, Diagnostics, Thérapeutiques., J.F., Toussaint, M.P., Jacob, L., Lagrost, J., Chapman, Eds. Masson: Paris, 1, 5-11.
- Brusasco V (2006). Reducing Cholinergic Constriction: The Major Reversible Mechanism In COPD. *Eur Respir Rev*. 15: 32-36.
- Burits M. and Bucar F (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*. 14: 323-328.
- Burke AP, Tracy RP, Kolodgie F, Malcom GT, Zieske A, Kutys R, Pestaner J, Smialek J and Virmani R (2002). Elevated C-reactive protein values and atherosclerosis in sudden coronary death: association with different pathologies. *Circulation*. 105, 2019-23.
- Calhoun WJ and Jarjour NN (1997). Macrophages And Macrophage Diversity In Asthma (Part 9). In: *Asthma And Rhinitis*. Busse WW Et Holgate ST. *Blackwell Scientific Publications*, London, Uk. 467-473.
- Çalis I, Kuruuzum-Uz A, Lorenzetto PA and Rûedi P (2002). (6S)-Hydroxy-3-oxo-a-ionol glucosides from *Capparis spinosa* fruits. *Phytochemistry* 59: 451-457
- Cao YL, Li X and Zheng M (2008). Effect of *Capparis spinosa* on fibroblast proliferation and type I collagen production in progressive systemic sclerosis. *ZhongguoZhong Yao ZaZhi*. 33(5): 560-563.
- Chait A, Han CY, Oram JF and Heinecke JW (2005). Thematic Review Series: The Immune System And Atherogenesis. Lipoprotein-Associated Inflammatory Proteins: Markers Or Mediators Of Cardiovascular Disease? *J Lipid Res*. 46: 389-403.
- Chang Q, Zuo Z, Harrisson F and Chow MS (2002). Hawthorn. *J.Clin. Pharmacol*. 42: 605-612.
- Chung KF (2005). The Role Of Airway Smooth Muscle In Pathogenesis Of Airway Wall Remodeling In Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Proc Am Thorac Soc*. 2 : 347-354.
- Chung KT, Wei CI and Johnson MG (1998). Are tannins a double-edged sword in biology and health? *Trends Food Sci. Techn*. 9: 168-175.
- Clarkson PM and Thompson HS (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *American Journal of Clinical Nutrition*. 72(2) :637- 646.
- Corrigan CJ and Kay AB (1997). T-Lymphocytes In Asthma Pathogenesis. In: *Asthma*. Ed (S) Barnes PJ, Grunstein MM, Leff AR, Woolcock AJ, *Lippencourt-Raven*. 433-451.
- Coulson FR and Fryer AD (2003). Muscarinic Acetylcholine Receptors And Airway Disease. *Pharmacol Ther*. 98 : 59-69.

- Couplan F (1986). Retrouvez Les Légumes Oubliés. 50 Légumes, Condiments Et Fruits. Culture, Historique, Propriétés, Recettes, Ed. *La Maison Rustique, Flammarion, Paris*.
- Crane FL (2001). Biochemical functions of coenzyme Q10. *J Am Coll Nutr.* 20(6) : 591-598.
- Cuendet M, Hostettmann K and Potterat O (1997). Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fragrea blumei*. *Helv Chim Acta.* 80: 1144–1151.
- Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA and Packer L (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun.* 31; 107(4):1198-205.
- De Moffarts B, Portier K, Kirschvink N, Coudert J, Fellmann N, van Erck E, Letellier C, Motta C, Pincemail J, Art T and Lekeux P (2007). Effects of exercise and oral antioxidant supplementation enriched in (n-3) fatty acids on blood oxidant markers and erythrocyte membrane fluidity in horses. *Vet J.* 174(1):113- 21.
- De Souza CF, Fernandes LC and Cyrino ES (2006). Produção de Espécies Reativas de Oxigênio Durante o Exercício Aerobie e Anaerobie. *Rev. Bras.Cineantropom. Desempenho Hum.* 8(2) :102-109.
- Decker A and Welch B (1990). Role of ferritin as lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 36: 674-677.
- Douris PC, Elokda AS, Handrakis JP, Principal S, Rondo E, Bovell J, Coughlin WP, Mastroianni CN, Wong MJ and Zimmerman T (2009). Martial art training enhances the glutathione antioxidant system in middle-aged adults. *J Strength Cond Res.* 23(5):1518-23.
- Duarte TL and Jones GDD (2007). Vitamin C modulation of H₂O₂-induced damage and iron homeostasis in human cells. *Free Radical Biology and Medicine.* 43:1165–1175.
- Durham SR (1990). Late Asthmatic Responses. *Resp. Med.* 84 : 263-268.
- Eddouks M, Lemhadri A and Michel JB (2004). Caraway and caper: Potential anti-hyperglycaemic plants in diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 94: 143–148.
- Eddouks M, Lemhadri A and Michel JB (2005). Hypolipidemic activity of aqueous extract of *Capparis Spinosa* L. in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology.* 98: 345–350.
- El Hilaly JE, Lyoussi B, Wibo M and Morel M (2004). Vasorelaxant effect of the aqueous extract of *Ajuga iva* in rat aorta. *Journal of Ethnopharmacology.* 93: 69–74.
- Ellis K and Fozard J R (2002). Species Differences In Bradykinin Receptor-Mediated Responses Of The Airways. *Autonomic Autacoid Pharmacol.* 22: 3-16.
- Fang Y-Z, Yang S and Wu G (2002). Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition.* 18: 872– 879.
- Feng X, Lu J, Xin H, Zhang L, Wang Y and Tang K (2011). Anti-arthritis active fraction of *Capparis Spinosa* L. fruits and its chemical constituents. *Yakugaku Zasshi J. Pharmaceut. Soc. Japan.* 131(3):423–429.
- Fernandez MT, Mira ML, Florencio MH and Jennings KR (2002). Iron and copper chelation by flavonoids: An electrospray mass spectrometry study. *Journal of Inorganic Biochemistry.* 92: 105-111.
- Finaud J, Degoutte F, Scislowski V, Rouveix M, Durand D and Filaire E (2006a) Competition and food restriction effects on oxidative stress in judo. *Int J Sports Med.* 27(10): 834-41.

- Finaud J, Lac G and Filaire E (2006b). Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. *Sports med.* 36 (4): 327-58.
- Fisher-Wellman K and Bloomer RJ (2009). Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic Medicine.* 8 : 1-25.
- Forsythe P and Ennis M (1999). Adenosine, Mast Cells And Asthma. *Inflamm. Res.* 48 : 301-307.
- Frankel EN and Meyer AS (2000). The problems of using one dimensional method to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J Sci Food Agric.* 80:1925–1941.
- Frayon S, Cueille C, Prat R and Garel J-M. (2005). La cellule musculaire lisse vasculaire (CMLV). Biologie et multimédia. Université Pierre et Marie Curie.
- Funk CD (2006). Lipoxygenase Pathways as Mediators of Early Inflammatory Events in Atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 26: 1204-1206
- Gadgoli C and Mishra SH (1999). Antihepatotoxic activity of p-methoxy benzoic acid from *Capparis Spinosa*. *J. Ethnopharmacol.* 66:187–192.
- Gardès-Albert M, Bonnefont-Rousselot D, Abedinzadeh Z and Jore D (2003). Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique.* 91-96.
- German JB (1999). Food processing and lipid oxidation. *Adv Exp Med Biol.* 459: 23-50.
- Gilani AH, Mandukhail R, Iqbal J, Yasinzai M, Aziz N, Khan A and Rehman N (2010). Antispasmodic and vasodilator activities of *Morinda citrifolia* root extract are mediated through blockade of voltage dependent calcium channels. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 10:2.
- Gilbert DL (2000). Fifty years of radical ideas. *Ann NY Acad Sci.* 899:1-14.
- Gina (2011). Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. P 18.
- Glomb MA and Monnier VM (1995). Mechanism of protein modification by glyoxal and glycolaldehyde, reactive intermediates of the Maillard reaction. *J Biol Chem.* 270(17): 10017-26.
- Gold (2006). Initiative For Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. www.goldcopd.com 2005.
- Gorini F (1984). Le Câprier, CTIFL B 2/TP, p. 1-3 (Traduit de l'italien par Henri Zuang).
- Gorzalczany S, Moscatelli V and Ferraro G (2013). *Artemisia copa* aqueous extract as vasorelaxant and hypotensive agent. *Journal of Ethnopharmacology.* 148:56–61.
- Goto M, Ueda K, Hashimoto T, Fujiwara S, Matsuyama K, Kometani T and Kanazaw K (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine.* 45 :1318–1325.
- Goto M, Ueda K, Hashimoto T, Fujiwara S, Matsuyama K, Kometani T and Kanazaw K (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine.* 45 :1318–1325.
- Graham HD (1992). Modified flavonoid assay for total phenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 40: 801-805.

- Gross NJ and Skorodin MS (1984). Role of the parasympathetic system in airway obstruction due to emphysema. *New Engl J Med*. 311:421-425.
- Guerrero MF, Carron R, Martin ML, San Roman L and Reguero MT (2001). Antihypertensive and vasorelaxant effects of aqueous extract from *Croton schiedeanus* Schlecht in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 75: 33–36
- Gutteridge JMC (1992). Invited review free radicals in disease processes : a compilation of cause and consequence. *Free Rad Res Comm*. 19:598-620.
- Gutteridge JMC and Halliwell B (1994). Antioxidants in Nutrition, Health and Disease. *Oxford University Press*, Oxford, UK.
- Halbwirth H (2010). The creation and physiological relevance of divergent hydroxylation patterns in the flavonoids pathway. *International Journal of Molecular Sciences*. 11: 595-621.
- Halliwell B (1995). How to characterize an antioxidant? An update. *Biochem. Soc. Symp*. 61: 73-101.
- Halliwell B and Gutteridge JMC (1989). Free radicals in biology and medicine (2nd ed). *Japan Scientific Societies Press*, Tokyo, Japan, 229-233
- Halliwell B and Gutteridge JMC (1999). *Free radicals in biology and medicine*. (3rd ed.). *Oxford University Press*, New York. Pp 936.
- Harborne JB and Williams CA (2000). Advances in flavonoids research since 1992. *Phytochemistry*. 55 :481-504.
- Hellsten Y, Svensson M, Sjödin B, Smith S, Christensen A, Richter E A and Bangsbo J (2001). Allantoin formation and urate and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. *Free Radic Biol Med*. 31(11): 1313- 22.
- Hempel N, Ye H, Abessi B, Mian B and Melendez JÁ (2009). Altered redox status accompanies progression to metastatic human bladder cancer. *Free Radical Biology and Medicine*. 46 : 42–50.
- Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Bertais S, Mennen L, Malvy D, Roussel AM, Favier A, and Briançon S (2004). The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med*. 164: 2335-2342.
- Herrera M D, Zarzuelo A, Jiménez J, Marhuenda E and Duarte J (1996). Effects of flavonoids on rat aortic smooth muscle contractility: structure-activity relationships. *Gen. Pharmac*. 27(2): 273-277.
- Ho JHC and Hong CY (2011). Salvianolic acids: small compounds with multiple mechanisms for cardiovascular protection. *Journal of Biomedical Science*. 18: 30.
- Hodek P, Trefil P and Stiborova M (2002). Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*. 139: 1-21.
- Huang MT and Ferraro T (1991). Phenolic compound in food and cancer prevention. Phenolic compounds in food and their effect on health, (Hang MT,HO CT and Lee CV, Edit.). *American Chemical Society*, Washington. (2) 8-34.
- Ibrahim OMS (2012). Evaluation of anti-bacterial activity of *Capparis Spinosa* (Al-Kabara) and *Aloe vera* extracts against Isolates Bacterial Skin Wound Infections in –vitro and in-vivo. *Kufa Journal For Veterinary Medical Sciences*. 3 (2): 23-35.

- Il-suk K, Mira Y, Tae-hwa G, Cheorun J, Dong-uk A, Jung-hyun P, Ok-hwan L and Suk-nam K (2011). Radical scavenging-linked antioxidant activities of commonly used herbs and spices in Korea. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*.
- Iqbal S, Bhangar MI, Akhtar M, Anwar F, Ahmed KR and Anwer T (2006). Antioxidant properties of methanolic extracts from leaves of *Rhazya stricta*. *J. Med. Food*. 9(2): 270-275.
- Inocencio C, Rivera D, Alcaraz F and Tomás-Barberán FA (2000). Flavonoid content of commercial capers (*Capparis Spinosa*, *C. sicula* and *C. orientalis*) produced in mediterranean countries. *Eur Food Res Technol*. 212: 70–74.
- Jacobson RL and Schlein Y (1999). Lectins and toxins in the plant diet of *Phlebotomus papatasi* Diptera: Psychodidae) can kill *Leishmania major* promastigotes in the sandfly and in culture. *Ann Trop Med Parasitol*. 93(4): 351-356.
- Jeffery PK (1998). Structural And Inflammatory Changes In COPD: A Comparaison With Asthma. *Thorax*. 53 : 129-136.
- Ji Y B, Dong F, Ma DB, Miao J, Jin LN, Liu ZF and Zhang LW (2012). Optimizing the Extraction of Anti-tumor Polysaccharides from the Fruit of *Capparis Spionosa* L. by Response Surface Methodology. *Molecules*. 17: 7323-7335.
- Johnson RJ, Sautin YY, Oliver WJ, Roncal C, Mu W, Gabriela Sanchez-Lozada L, Rodriguez-Iturbe B, Nakagawa T and Benner SA (2009). Lessons from comparative physiology: could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society? *J Comp Physiol B*. 179(1): 67-76.
- Jolivel A (2013). Glutathion : antioxydant, détoxiquant, immunostimulant. *Nature Algue*.
- Joos GF, O'connor B, Anderson S D, Chung F, Cockcroft DW, Dahlen B, Dimaria G, Foresi A, Hargreave FE, Holgate ST, Inman M, Lotvall J, Magnussen H, Polosa R, Postma DS and Riedler J (2003). Indirect Airway Challenges. *Eur. Res. J*. 21: 1050-68.
- Kadik B (1986). Contribution A L'étude Du Pin d'Alep (*Pinus Halepensis* mill.) En Algérie: Écologie, Dendrométrie, Morphologie, Office Des Publications Universitaires, Alger, 580.
- Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS and Heinonen M (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agriculture and Food Chemistry*. 47: 3954–3962.
- Kanbe N, Kurosawa M, Nagata H, Yamashita T, Kurimoto F and Miyachi Y (2000). Production Of Fibrogenic Cytokines By Cord Blood-Derived Cultured Human Mast Cells. *J. Allergy Clin. Immunol*. 106: 85-90.
- Kay AB (2003). Immunomodulation In Asthma: Mechanisms And Possible Pitfalls. *Curr. Opin. Pharmacol*. 3: 220-226.
- KEGG (2014). KEGG: Oxidative phosphorylation-reference pathway. Kanehisa Laboratories
- Kchaou W, Abbès F, Blecker C, Attia H and Besbes S (2013). Effects of extraction solvents on phenolic contents and antioxidant activities of Tunisian date varieties (*Phoenix dactylifera* L.). *Industrial Crops and Products*. 45: 262– 269.
- Kehrer JP (2000). The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology*. 149:43–50.
- Kibanova D, Nieto-Camacho A and Cervini-Silva J (2009). Lipid Peroxidation Induced by Expandable Clay Minerals. *Environ. Sci. Technol*. 43: 7550-7555.

- Kim WD, Eidelman DH and Izquierdo JL (1991). Centrilobular And Panlobular Emphysema In Smokers. Two Distinct Morphological And Funxtional Entiers. *Am Rev Respir Dis.* 144: 1385-1390.
- Kirschvink N, de Moffarts B and Lekeux P (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal.* 177:178–191.
- Koh SB, Kang MH, Kim TS, Park HW, Park CG, Seong YH, and Seong HJ (2007). Endothelium-dependent vasodilatory and hypotensive effects of *Crotalaria Sessiliflora* L. in rats. *Biol. Pharm. Bull.* 30(1): 48-53.
- Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, Fowler DR, Kruth HS, Weber DK, Farb A, Guerrero LJ, Hayase M, Kutys R, Narula J, Finn AV and Virmani R (2003). Intraplaque Hemorrhage And Progression Of Coronary Atheroma. *N Engl J Med.* 349: 2316-25.
- Koolman J and Rohm KH (1999). Atlas de Poche de Biochimie. *Flammarion*: Paris.
- Kouakou LK, Traore F, Abo J-CK et Ehile EE (2007). Effets pharmacologiques d'un extrait aqueux de *Bidens pilosa* L.(Asteraceae) sur le système cardiovasculaire de mammifères. *Afrique Science.* 03(2): 284 – 304.
- Krinsky NI (1989). Antioxidant functions of carotenoids. *Free Rad. Biol. Med.* 7: 617-635.
- Lacolley P, Babuty D, Boulanger C, Ghaleh B, Loirand G, Pinet F and Samue J (2007). Biologie Et Pathologie Du Coeur Et Des Vaisseaux. *John Libbey Eurotext.*
- Lam SK and Ng TB (2008). A Protein With Antiproliferative, Antifungal And HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitory Activities From Caper (*Capparis Spinosa*) Seeds. *Phytomedicine.* 16: 444–450.
- Lamon BD and Hajjar DP (2008). Inflammation At The Molecular Interface Of Atherogenesis: An Anthropological Journey. *Am J Pathol.* 173, 1253-64.
- Lamprecht M, Greilberger J and Oetl K (2004). Analytical aspects of oxidatively modified substances in sports and exercises. *Nutrition.* 20(7-8): 728-730.
- Lee YJ, Cho J Y, Kim JH, Park WK, Kim DK and Rhyu MR (2004). Extracts from *Schizandra chinensis* fruit activate estrogen receptors: A possible clue to its effects on Nitric Oxide-Mediated vasorelaxation. *Biol. Pharm. Bull.* 27(7): 1066-1069.
- Lemhadri A, Eddouks M, Sulpice T and Burcelin R (2007). Anti-hyperglycaemic and anti-obesity effects of *Capparis spinosa* and *Chamaemelum nobile* aqueous extracts in HFD mice. *Am. J. Pharmacol. Toxicol.* 2(3): 106–110.
- Léoni J (2001). Physiopathologie de l'athérosclérose. Mécanisme et prévention de l'athérombose. Thèse de Doctorat, Université de Franche-Comté. Besançon.
- Leopoldini M, Russo N and Toscano M (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxydants. *Food Chemistry* 125 (2), 288-306.
- Lillehaug JR, Mondal S and Heidelberger C (1979). Establishment of epithelial cell lines from adult mouse regenerating liver. *In vitro* 15 (11).
- Lim YY, Lim TT and Tee JJ (2007). Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry* .103: 1003-1008.
- Lopez AD and Murray CC (1998). The global burden of disease, 1990-2020. *Nat Med.* 4: 1241-1243.

- Lyn PND (2006). Lead Toxicity Part II: The Role of Free Radical Damage and the Use of Antioxidants in the Pathology and Treatment of Lead Toxicity. *Altern Med Rev.* 11(2): 114-127.
- Mac Laren D (2007). Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport. 8. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. *Elsevier*.
- Macheix JJ, Fleuriet A and Jay-Allemand C (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Ed Presses Polytechnologiques et Universitaires Romandes.* 4-5.
- Madingou NOK, Souza A, Lamidi M, Mengome LE, Mba CEM, Bayissi B, Mavoungou J and Traore AS (2012). Study of medicinal plants used in the management of cardiovascular diseases at Libreville (Gabon): *An Ethnopharmacological Approach.* *IJPSR.* 3(1): 111-119.
- Mahasneh AM (2002). Screening of some indigenous Qatari medicinal plants for antimicrobial activity. *Phytother Res.* 16: 751–753.
- Maire R (1965). Flore De l'Afrique Du Nord, Volume XII, Encyclopédie Biologique. LXVII, Ed. Le Chevalier, Paris, 407 P.
- Maire R and Monod Th (1950). Études Sur La Flore Et La Végétation Du Tibesti, Mémoires De l'Institut Français d'Afrique Noire. Ed. Librairie La Rose, Paris, 140 P.
- Manga FN, El-Khattabi C, Fontaine J, Berkenboom G, Duez P, Noyon C, Antwerpen PV, Nzunzu JL and Pochet S (2013). Vasorelaxant and antihypertensive effects of methanolic extracts from *Hymenocardia acida* Tul. *Journal of Ethnopharmacology.* 146: 623–631.
- Margaritis I, Palazzetti S, Rousseau AS, Richard MJ and Favier A (2003). Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise- induced antioxidant response. *J Am Coll Nutr.* 22(2): 147-156.
- Markham KR (1982). Techniques of flavonoid identification. *Academic Press. London, UK.* 133 p.
- Mataix J, Quiles JL, Huertas JR, Battino M and Manhas M (1998). Tissue Specific Interactions of Exercise, Dietary Fatty Acids, and Vitamin E in Lipid Peroxidation. *Free Radical Biology Medicine.* 24(4): 511–521.
- Matsuyama K, Villareal MO, El Omri A, Han J, Kchouk ME and Isoda H (2009). Effet of tunisian *Capparis Spinosa* L. extract on melanogenesis in B16 Murine melanoma cells. *Nat. Med.* 63:468–472.
- Monteiro FS, Silva ACL, Martins IRR, Correia ACC, Basílio IJLD, Agra MF, Bhattacharyya J and Silva BA (2012). Vasorelaxant action of the total alkaloid fraction obtained from *Solanum paludosum* Moric. (Solanaceae) involves NO/cGMP/PKG pathway and potassium channels. *Journal of Ethnopharmacology.* 141: 895– 900.
- Moreno JJ and Mitjavila MT (2003). The degree of unsaturation of dietary fatty acids and the development of atherosclerosis (Review). *J Nutr Biochem.* 14: 182-95.
- N'dia KF, Traore F, Kouakou K L et Ehile E E (2009). Effets pharmacologiques d'un extrait aqueux de *Mirabilis jalapa* L. (Nyctaginaceae) sur le système cardiovasculaire, la respiration et l'activité mécanique intestinale de mammifères. *Afrique Science.* 05(2): 330 – 348.
- Nabe T, Matsuya K, Akamizu K, Fujita M, Nakagawa T, Shioe M, Kida H, Takiguchi A, Wakamori H, Fujii M, Ishihara K, Akiba S, Mizutani N, Yoshino S and Chaplin DD (2013). Roles of basophils and mast cells infiltrating the lung by multiple antigen challenges in asthmatic responses of mice. *Br J Pharmacol.* 169(2):462-476.

- Naseri MKG, Hamidi MN and Heidari A (2005). Vasorelaxatory effect of *vitis vinifera* extract on rat aorta. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2: 93-99.
- Ndiaye M, Anselm E, Séné M, Diatta W, Dièye AM, Faye B and Schini-Kerth VB (2010). Mechanisms underlying the endothelium-dependent vasodilatory effect of an aqueous extract of *elaeis guineensis jacq.* (Arecaceae) In porcine coronary artery rings. *Afr. J. Trad. CAM*. 7(2): 118 – 124.
- Nicoluzzi JE, Barbu V, Baudrimont M, Lakehal F, Becquemont L, Chafaï N, Delelo R, Sarkis R, Honiger J, Housset C and Belladur P (2000). Viabilité et état de différenciation des hépatocytes humains immunoprotégés par macroencapsulation et transplantés chez le rat. *Gastroentérologie clinique & biologique*. 24: 342-348.
- Niess AM, Hartmann A, Grunert-Fuchs M, Poch B and Speit G (1996). DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. *Int J Sports Med*. 17(6): 397-403.
- Noailles MC (1965). L'évolution Botanique. Ed. Du Seuil, *Le Rayon De La Science*, France. 73 P.
- Noori S (2012). An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System. *Open Access Scientific Reports*. 1(8): 413-422.
- Ojewole JA, Kamadyaapa DR, Gondwe MM, Moodley K and Musabayane CT (2007). Cardiovascular effects of *Persea americana Mill* (Lauraceae) (avocado) aqueous leaf extract in experimental animals. *US National library of Medicine National Institutes of Health*. 18 (2): 69-76.
- Oyaizu M (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *The Japanese Journal of Nutrition*. 44: 307–315.
- Ozenda P (1983). *Flore du Sahara*, 2e éd. du CNRS, Paris, 624 p.
- Panico AM, Cardileb TV, Garufia F, Pugliaa C, Bonina F and Ronsisvalle G (2005). Protective effect of *Capparis Spinosa* on chondrocytes. *Life Sciences*. 77: 2479–2488.
- Patel PK, Patel KV and Gandhi TR (2009). Evaluation of Effect of *Taxus baccata* Leaves Extract on Bronchoconstriction and Bronchial Hyperreactivity in Experimental Animals. *Global Journal of Pharmacology*. 3 (3): 141-148.
- Persson CGA (1997). Vascular Permeability And Plasma Exudation. *Allergy Allerg.Dis*. 1 : 439-446.
- Powers SK, Smuder AJ, Kavazis AN and Hudson MB (2010). Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 20:2–14.
- Price ML and Butler LG (1977). Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *J. Agric. Food Chem*. 25:1268–1273.
- Radak Z, Chung HY and Goto S (2008a). Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radical Biology Medicine*. 44:153-159.
- Radak Z, Chung HY, Koltai E, Taylor AW, Goto S. (2008b). Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Research Reviews*. 7:34–42.
- Rahmani R, Mahmoodi M, Karimi M, Hoseini F, Heydari R, Salehi M and Yousefi A (2013). The Effect of *Capparis Spinosa* Fruit Hydroalcoholic Extract on Blood Sugar and Lipids in Diabetic and normal Rats. *Zahedan J Res Med Sci (ZJRMS)*. 15(X): 1-5.

- Rao AV and Rao LG (2007). "Carotenoids and human health." *Pharmacol Res* 55(3): 207-16.
- Richelle M, Tavazzi, I and Offord E (2001). Comparison of the antioxidant activity of commonly beverages (coffee, cacao, and tea) prepared per cup serving. *J. Agric. Food Chem.* 49: 3438-3442.
- Rios MY, López-Martínez S, López-Vallejo F, Medina-Franco J L, Villalobos-Molina R, Ibarra-Barajas M, Navarrete-Vazquez G, Hidalgo-Figueroa S, Hernández-Abreu O and Estrada-Soto S (2012). Vasorelaxant Activity Of Some Structurally Related Triterpenic Acids From *Phoradendron Reichenbachianum* (Viscaceae) Mainly By NO Production: Ex Vivo And In Silico Studies. *Fitoterapia.* 83: 1023–1029.
- Rivera D, Inocencio C, Obon C And Alcaraz F (2003). Review Of Food And Medicinal Uses Of *Capparis* L. Subgenus *Capparis* (Capparidaceae). *Economic Botany.* 57(4): 515-534.
- Robinson BH (1998). Human Complex I deficiency: Clinical spectrum and involvement of oxygen free radicals in the pathogenicity of the defect. *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics.* 1364(2): 271-286.
- Roffel AF, Elzinga CR and Zaagsma J (1990). Muscarinic M3 receptors mediate contraction of human central and peripheral airway smooth muscle. *Pulm Pharmacol.* 3:47-51.
- Roméo V, Ziino M, Giuffrida D, Condurso C and Verzera A (2007). Flavour Profile Of Capers (*Capparis Spinosa* L.) From The Eolian Archipelago By HS-SPME/GC-MS. 101(3): 1272-1278.
- Rose-Salin C, Sieber R, Bosset JO and Tabacchi R (1996). Mécanismes d'oxydation du cholestérol = Cholesterol oxidation mechanisms. OCL. Oléagineux, Corps gras, Lipides. 3(3): 227-235.
- Ross R (1999). Atherosclerosis--An Inflammatory Disease. *N Engl J Med.* 340:115-26.
- Satyanarayana T, Anjana AM and Vijetha P (2008). Phytochemical and Pharmacological Review of Some Indian *Capparis* Species. *Pharmacognosy Reviews [Phcog Rev.].* 2 (4): 36-45.
- Savineau JP and Marthan R (1997). Modulation Of The Calcium Sensitivity Of The Smooth Muscle Contractile Apparatus: Molecular Mechanisms, Pharmacological And Pathophysiological Implications. *Fundam Clin Pharmacol.* 11: 289-99.
- Sayre LM, Moreira PI, Smith MA and Perry G (2005). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità.* 41(2):143-164.
- Schacke M, Glück B and Sauerbrei A (2009). In vitro cultivation and cryopreservation of duck embryonic hepatocytes. *Journal of Virological Methods.* 157: 25-31
- Schägger H (2002). Respiratory chain supercomplexes of mitochondria and bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics.* 1555(1-3): 154–159.
- Seglen PO (1994). Isolation of hepatocytes. In *Cell Biology: A Laboratory Handbook, Vol. 1., Academic Press. Inc.,* 96-102.
- Senejoux F, Demougeot C, Cuciureanu M, Miron A, Cuciureanu R, Berthelot A and Girard-Thernier C (2013). Vasorelaxant effects and mechanisms of action of *Heracleum sphondylium* L. (*Apiaceae*) in rat thoracic aorta. *Journal of Ethnopharmacology.* 147: 536–539.
- Sharaf M, El-Ansari MA and Saleh NAM (1997). Flavonoids of Four Cleome and Three *Capparis* Species. *Biochemical Systematics and Ecology.* 25(2): 161- 166.

- Sharaf M, El-Ansari MA and Saleh NAM (2000). Quercetin triglycoside from *Capparis Spinosa*. *Fitoterapia* . 71: 46-49.
- Shen L, Hillebrand A, Wang DQH and Liu M (2012). Isolation and Primary Culture of Rat Hepatic Cells. *J. Vis. Exp* (64) 3917.
- Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B and Cousins RJ (2006). Modern Nutrition in Health and Disease. *Tenth Edition*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Signorini C, De Felice C, Durand T, Oger C, Galano JM, Leoncini S, Pecorelli A, Valacchi G, Ciccoli L and Hayek J (2013). Isoprostanes and 4-hydroxy-2-nonenal: markers or mediators of disease? Focus on rett syndrome as a model of autism spectrum disorder. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
- Siraganian RP (2003). Mast Cell Signal Transduction From The High-Affinity Ige Receptor. *Curr. Opin. Immunol.* 15 : 639-646.
- Sligh DF, Ueda H, Arvigo R and Balick MJ (1999). Ethnobotany in the search for vasoactive herbal medicines. *Journal of Ethnopharmacology*. 66:159–165.
- Snider GL (1986). Chronic obstructive pulmonary disease: a continuing challenge. *Am Rev Respir Dis*. 133: 942-944.
- Snider GL (1989). Chronic obstructive pulmonary disease: a definition and implications of structural determinants of airflow obstruction for epidemiology. *Am Rev Respir Dis*. 140 : S3-S8.
- Snider GL, Kleinerman L J, Thurlbeck W M and Bengali Z H (1985). The definition of emphysema: report of a national Heart, lung and Blood Institute, Division of lung Disease workshop. *Am Rev Respir Dis*. 132: 182-185.
- Soares JR, Dins TCP, Cunha AP and Ameida LM (1997). Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*. *Free Radical Research*. 26: 469-478.
- Song JH, Kim SK, Chang KW, Han SK, Yi HK and Jeon JG (2006). *In vitro* inhibitory effects of *Polygonum cuspidatum* on bacterial viability and virulence factors of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Archives Oral Biology*. 51 (12): 1131-1140.
- Spiteller G (2006). Peroxyl radicals: Inductors of neurodegenerative and other inflammatory diseases. Their origin and how they transform cholesterol, phospholipids, plasmalogens, polyunsaturated fatty acids, sugars, and proteins into deleterious products. *Free Radical Biology Medicine*. 41(3): 362–387.
- Stalinska K, Guzdek A, Rokicki M and Koj A (2005). Transcription factors as targets of the anti-inflammatory treatment. A cell culture study with extracts from some Mediterranean diet plants. *J. Physiol. Pharmacol.*, 56 (1) 157-169.
- Staprans I, Pan XM, Rapp JH and Feingold KR (2003). Oxidized cholesterol in the diet is a source of oxidized lipoprotein in human serum. *J. Lipid Res*. 44:705-715.
- Staprans I, Pan XM, Rapp J H and Feingold KR (2005). The role of dietary oxidized cholesterol and oxidized fatty acids in the development of atherosclerosis. *Mol Nutr Food Res*. 49(11):1075-82.
- Strek ME and Leff AR (1997). Eosinophils. *Asthma*. 1: 399-417.
- Strober W (2001). Trypan blue exclusion test of cell viability. *Curr Protoc Immunol*. Appendix 3: Appendix 3B.

- Sultan AÖ and Çelik TA (2009). Genotoxic and antimutagenic effects of *Capparis spinosa* L. on the *Allium cepa* L. root tip meristem cells. *Caryologia*. 62 (2): 114-123.
- Szilasi M, Dolinay T, Nemes Z and Strausz J (2006). Pathology of chronic obstructive pulmonary disease. *Pathol Oncol Res*. 12: 52-60.
- Takaya N, Yuan C, Chu B, Saam T, Polissar NL, Jarvik GP, Isaac C, McDonough J, Natiello C, Small R, Ferguson MS and Hatsukami T S (2005). Presence Of Intraplaque Hemorrhage Stimulates Progression Of Carotid Atherosclerotic Plaques: A High-Resolution Magnetic Resonance Imaging Study. *Circulation*. 111, 2768-75.
- Tedgui A and Mallat Z (2006). Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. *Physiol Rev*. 86: 515-81.
- Tepe B, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M and Polissiou M (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*. 90: 333-340.
- Tlili N, Khaldi A, Triki S and Munné-Bosch S (2010). Phenolic Compounds and Vitamin Antioxidants of Caper (*Capparis Spinosa*). *Plant Foods Hum Nutr*. 65:260–265.
- Tlili N, Nasri N, Saadaoui EA Khaldi and Triki S (2009). Carotenoid and tocopherol composition of leaves, buds, and flowers of *Capparis spinosa* grown wild in Tunisia. *J. Agric. Food Chem*. 57: 5381–5385.
- Towes GB (1997). Macrophages. In: *Asthma*. Ed(S) Barnes PJ, Grunstein MM, Leff AR, Woolcock AJ, Lippencourt-Raven, Pp. 381-398.
- Traber MG and Atkinson J (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology Medicine*. 43:4–15.
- Trombetta D, Occhiuto F, Perri D, Puglia C, Santagati NA, De Pasquale A, Saija A and Bonina F (2005). Antiallergic and antihistaminic effect of two extracts of *Capparis spinosa* L. flowering buds. *Phytother Res*. 19(1): 29-33.
- Turkmen N, Velioglu YS, Sari F and Polat G (2007). Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*. 12:484–496.
- Uchida K (2003). Histidine and lysine as targets of oxidative modification. *Amino Acids*. 25:249–257.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M and Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 39:44-84.
- Van Helden YGJ, Keijer J, Knaapen AM, Heil SG, Briedé JJ, van Schooten FJ, Godschalk RWL. (2009). β -Carotene metabolites enhance inflammation-induced oxidative DNA damage in lung epithelial cells. *Free Radical Biology Medicine*. 46:299–304.
- Van Nieuwstadt RA, Henricks PA, Hajer R, van der Meer van Roomen WA, Breukink HJ, and Nijkamp FP (1997). Characterization of muscarinic receptors in equine tracheal smooth muscle in vitro. *Vet Q*. 19:54-57.
- Van Reyk DM, Brown AJ, Hult'en LM, Dean RT and Jessup W. (2006). Oxysterols in biological systems: sources, metabolism and pathophysiological relevance. *Redox Rep*. 11(6):255-62.

- Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura JBF, Manfredini V, Benfato MS and Kubota LT (2007). Espécies reativas de oxigénio et de nitrogénio, antioxydants e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticoa para sua determinação. *Quim Nova*. 30(5): 1323-1338.
- Velasco J, Marmesat S, Marquez-Ruiz G and Dobarganes MC (2004). Formation of short-chain glycerol-bound oxidation products and oxidised monomeric triacylglycerols during deep-frying and occurrence in used frying fats. *Eur J Lipid Sci Technol*. 106:728.
- Venkataraman K, Khurana S and Tai J (2013). Oxidative Stress in Aging-Matters of the Heart and Mind. *International Journal of Molecular Sciences*. 14: 17897-17925.
- Vergani L, Floreani M, Russell A, Ceccon M, Napoli E, Cabrell A, Valente L, Bragantini F, Leger B and Dabbeni-Sala F (2004). Antioxidant defences and homeostasis of reactive oxygen species in different human mitochondrial DNA depleted cell lines. *Eur J Biochem*. 271:3646–3656.
- Vergara-Galicia J, Ortiz-Andrade R, Castillo-España P, Ibarra-Barajas M, Gallardo-Ortiz I, Villalobos-Molina R and Estrada-Soto S (2008). Antihypertensive and vasorelaxant activities of *Laelia autumnalis* are mainly through calcium channel blockade. *Vascular Pharmacology*. 49: 26–31.
- Virmani R, Burke AP, Farb A and Kolodgie FD (2006). Pathology Of The Vulnerable Plaque. *J Am Coll Cardiol*. 47: C13-8.
- Vlahovic G, Russell ML, Mercer RR and Crapo JD (1999). Cellular and connective tissue changes in alveolar saptal walls in emphysema. *Am J Respir Crit Care Med*. 160: 2086-2092.
- Wactawski-Wende J, Schisterman EF, Hovey KM, Howards PP, Browne RW, Hediger M, Liu A and Trevisan M (2009). BioCycle Study Group. BioCycle study: design of the longitudinal study of the oxidative stress and hormone variation during the menstrual cycle. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 23(2):171-84.
- Wang TT, Zhou GH, Kho JH, Sun YY, Wen JF, Kang DG, Lee HS, Cho KW and Jin SN (2013). Vasorelaxant action of an ethylacetate fraction of *Euphorbia humifusa* involves NO-cGMP pathway and potassium channels. *Journal of Ethnopharmacology*. 148:655–663.
- Wang HJ, Pan YX, Wang WZ, Zucker IH and Wang W (2009). NADPH Oxidase-Derived Reactive Oxygen Species in Skeletal Muscle Modulates the Exercise Pressor Reflex. *J Appl Physiol*. Jun 4.
- Webb CR (2003). Smouth muscle contraction and relaxation. *ADV Physiol Educ* 27: 201-206.
- Wells-Knecht KJ, Zyzak DV, Litchfield JE, Thorpe SR and Baynes JW (1995). Mechanism of autoxidative glycosylation: identification of glyoxal and arabinose as intermediates in the autoxidative modification of proteins by glucose. *Biochemistry*. 21; 34(11):3702-9.
- Williams RJ, Spencer JP and Rice-Evans C (2004). Flavonoids: antioxidants or signaling molecules? *Free Radic. Biol. Med*. 36(7): 838–849.
- Wolinsky I (1998). Nutrition in Exercise and Sport. 3th edition. New York: *CRC Press*.
- Wright AJ, Gomes T, Mamdani MM, Horn JR and Juurlink DN (2011). The risk of hypotension following coprescription of macrolide antibiotics and calcium-channel blockers. *CMA J*, 183: 303-307.

- Yamasaki H, Sakihama Y and Ikehara N (1997). Flavonoid-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H₂O₂. *Plant Physiol.* 115:1405.
- Yaniv Z, Dafni A, Friedman J and Palexitch D (1987). Plants Used For The Treatment Of Diabetes In Israel. *Journal Of Ethnopharmacology.* 19: 145-151.
- Yin J, Meng Q, Zhang G and Sun Y (2009). Differential methotrexate hepatotoxicity on rat hepatocytes in 2-D monolayer culture and 3-D gel entrapment culture. *Chemico-Biological Interactions* 180: 368-375.
- Yoshikawa T and Naito Y (2000). The role of neutrophils and inflammation in gastric mucosal injury. *Free Radical Research.* 33: 785-794.
- Yu Y, Gao H, Tang Z, Song X and Wu L (2006). Several Phenolic Acids from the Fruit of *Capparis Spinosa*. *Asian Journal of Traditional Medicines.* 1: 3-4.
- Zabri H, Due A and Mambo V (2008). Purification column on silica and chemical characterization of a coumarin isolated from methanol excerpt of the stems of plant *Secamone Afzelii* (Aclepedace). *Rev Electron J Biomed.* 3 in press.
- Zeggwagh NA, Michel JB, Sulpice T and Eddouks M (2007). Cardiovascular Effect of *Capapris spinosa* Aqueous Extract in Rats. Part II: Furosemide-like Effect of *Capparis Spinosa* Aqueous Extract in Normal Rats. *Am. J. Pharmacol. Toxicol.* 2(3): 130–134.
- Zhou HF, Xie C, Jian R, Kang J, Li Y, Zhuang CL, Yang F, Zhang LL, Lai L, Wu T and Wu X (2011). Biflavonoids from Caper (*Capparis Spinosa* L) Fruits and Their Effects in Inhibiting NF-kappa B Activation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*

ABSTRACT

The aim of the present research is to assess the in vitro effects of aqueous and methanolic extracts of different parts of *Capparis spinosa* as antioxidants, vasoactives and bronchorelaxants. The methanolic extracts contained higher total polyphenols and flavonoids than the aqueous extracts. The leaves and flowers were rich in polyphenols and/or flavonoids whilst the roots were relatively poor. Furthermore, all extracts had anti-lipid peroxidation and antioxidant effects with higher levels in the flowers and the leaves. Seeds have an important effect followed by fruits then roots. These results demonstrated the antioxidant and anti-lipid peroxidation of all parts of *Capparis spinosa* and give a comparative data on the extracts of different parts that can be used in the diseases where inhibition of oxidative stress is required. The study of the effects on rat trachea and aorta was carried out in order to establish them as a real source for the isolation of bioactive compounds with potential use as anti-obstructive, vasorelaxant and/or anti-allergic agents. The addition of *Capparis spinosa* extracts on rat trachea during the step of contraction by acetylcholine showed various effects. Incubation of the windpipe for 30 mn with extracts proves them to be so efficient. The dose of 10 mg/ml showed a significant relaxant effect for fruits and seeds, and constrictor effect for the leaves. The results showed a potent relaxant effect of the fruit aqueous extract of *Capparis spinosa*, on rat trachea, with a dose dependant manner. However, the leaf aqueous extract has a contractive effect. A muscarinic receptor blockade/stimulation was suggested for caper/leaf extracts.

Keywords: *Capparis spinosa*, aqueous and methanolic extracts, antioxidant, bronchorelaxant, vasoactive.

RESUME

Le but de la présente recherche est d'évaluer les effets antioxydants, vasoactifs et bronchorelaxants, *in vitro* des extraits aqueux et méthanoliques des différentes parties de *Capparis spinosa*. Les résultats montrent que les extraits méthanoliques renferment des taux de polyphénols totaux et de flavonoïdes plus élevés que les extraits aqueux. Les feuilles et les fleurs sont riches en polyphénols et/ou flavonoïdes tandis que les racines en sont relativement pauvres. En outre, tous les extraits ont des effets antioxydants, anti-péroxydation lipidique avec des niveaux plus élevés dans les fleurs et les feuilles. Les graines ont un effet important, suivie par les fruits puis les racines. Ces résultats démontrent les propriétés antioxydantes de toutes les parties de *Capparis spinosa* et révèlent des données comparatives des extraits de différentes parties qui peuvent être utilisés dans les maladies où l'inhibition du stress oxydatif. L'étude des effets sur la trachée et l'aorte de rat a été réalisée en vue de leur conférer le caractère d'une véritable source pour l'isolement de composés bioactifs avec une utilisation potentielle en tant qu'agents anti-obstruction, vasorelaxant et/ou agents antiallergiques. L'addition des extraits de *Capparis spinosa* sur la trachée de rat au cours de l'étape de contraction par l'acétylcholine a montré des effets différents. L'incubation de la trachée pour 30 mn avec des extraits prouve qu'ils sont bien efficaces. La dose de 10 mg/ml a montré un important effet relaxant pour des fruits et des graines, et un effet constricteur pour les feuilles. Les résultats ont montré un effet relaxant puissant de l'extrait aqueux du fruit de *Capparis spinosa*, sur la trachée de rat, de manière dose-dépendante. Cependant, l'extrait aqueux des feuilles a un effet contractant. Le blocage/stimulation des récepteurs muscariniques a été suggéré pour les extraits des fruits et feuilles.

Mots clés : *Capparis spinosa*, extraits aqueux et méthanoliques, antioxydants, bronchorelaxants, vasoactifs

المخلص

الهدف من هذا البحث هو تقييم التأثيرات المضادة للاكسدة، والنشاط على الأوعية الدموية (vasoactives) وكذا على استرخاء القصبيات الهوائية (bronchorelaxation) للمستخلص المائي والمثانولي لأجزاء مختلفة من النبتة. بينت النتائج أن المستخلصات المثانولية تحتوي على كميات من متعددات الفينول والفلافونويدات أعلى من المستخلصات المائية. كانت أوراق النبتة والزهور غنية بالبوليفينول و/أو الفلافونويدات بينما كانت الجذور فقيرة نسبياً. كما تبين أن جميع المستخلصات تملك تأثيرات مضادة للاكسدة بمستويات أعلى في الزهور و الأوراق (82.78 ± 2.64 % و 80.94 ± 1.57 % على التوالي). كان تأثير البذور هاما تلتها الفواكه ثم الجذور. وأظهرت هذه النتائج أن مستخلصات كل أجزاء نبات *Capparis spinosa* تملك نشاطاً مضاداً للاكسدة و مضاداً لتأكسد الدهون و بينت معطيات مقارنة عن مختلف أجزاء النبتة والتي يمكن استخدامها في الأمراض التي تتطلب تثبيط الاكسدة. وقد أجريت دراسة الآثار المترتبة على القصبة الهوائية والشريان للفئران من أجل اختبار إمكانية اعتبارها مصدراً حقيقياً لعزل المركبات النشطة بيولوجياً مع إمكانية استخدامها كمضاد لانسداد القصبيات الهوائية ومساعد على استرخاء الأوعية الدموية و/أو كأدوية مضادة للحساسية. أدت إضافة مستخلصات *Capparis spinosa* على القصبة الهوائية أثناء الخطوة القصوى من التقلص بواسطة الأستيل كولين إلى آثار مختلفة. حيث بين حضان القصبة الهوائية لمدة 30 د مع المستخلصات أنها كانت فعالة جداً. أظهرت الجرعة 10 ملغ / مل للفواكه و البذور ارتخاء بينما كان تأثير الأوراق مقلصاً. أظهرت النتائج وجود تأثير مرخي قوي للمستخلص المائي للفواكهة على القصبة الهوائية الفئران بشكل مرتبط بالجرعة. وعلى العكس من ذلك، فإن مستخلص الأوراق كان له تأثير مقلص. ويمكن اقتراح فكرة أن تأثير مستخلصات *Capparis spinosa* يكون بتثبيط/تحفيز المستقبلات الموسكارينية.

الكلمات المفتاحية: *Capparis spinosa*، المتخلصات المائية والميثانولية، مضادات الأكسدة، استرخاء القصبيات الهوائية، التأثير على الأوعية الدموية.