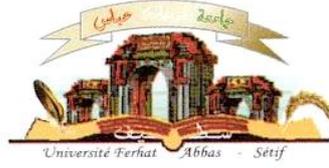


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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/2018

THÈSE

Présentée par

KERNOUF Nassima

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière: BIOLOGIE

Spécialité: BIOCHIMIE

THÈME

Effet des extraits de *Capparis spinosa* sur la production des médiateurs inflammatoires des neutrophiles et des monocytes

Soutenue publiquement le 07/03/2019

DEVANT LE JURY

Président	AMIRA Smain	Pr. UFA Sétif 1
Directeur	BOURICHE Hamama	Pr. UFA Sétif 1
Examineurs	SENATOR Abderrahmane	Pr. U. Batna
	AMEDAH Souad	Pr. UMC. Constantine 1
	ABDENNOUR Cherif	Pr. UBM. Annaba

Laboratoire de Biochimie Appliquée

REMERCIEMENTS

Avant tout, je remercie Dieu, le tout puissant, de m'avoir donné la volonté, la force et la patience pour pouvoir réaliser ce travail.

*J'exprime ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à ma directrice de thèse Pr. **Bourriche Hamama** qui m'a orienté et dirigé au long de toutes mes années de recherche. Sa disponibilité, ses précieux conseils, sa compétence et sa compréhension m'ont permis de mener à terme ce travail.*

*Mes remerciements vont également à l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail :
Monsieur Pr. **Amira Smain**, de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect.*

*Monsieur Pr. **Senator Abderrahmane**, monsieur Pr. **Abdennour Cherif** et madame Pr. **Amedah Souad** pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

Soyez assuré de ma profonde gratitude.

*J'exprime ma gratitude au Pr. **Assaf M. Areej** (Jordanie) et Pr. **Demirtas Ibrahim** (Turquie), Pour leur collaboration et leur aide à la réalisation de ce travail. Avec mes plus sincères remerciements.*

Mes remerciements sont aussi adressés à tous les membres de notre équipe de recherche et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DEDICACE

*Je dédie ce travail à la mémoire de mon cher père défunt **Tayeb**,
qu'ALLAH lui alloue une place dans son vaste paradis.*

*A ma **mère**, qui a toujours œuvré pour ma réussite, de par son
amour, son soutien, ses conseils et ses sacrifices, pour toute son
assistance et sa présence dans ma vie, qu'elle trouve ici,
l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*A mon mari **Lounis**, pour son soutien, sa patience et sa
compréhension.*

*A ma petite princesse, ma source de joie, **Ines**.*

*A mes **frères** et **sœurs** qui étaient toujours présents à mon côté et
qui m'ont soutenu et encouragé.*

A mes nièces et neveux

*À toute la famille **Karnouf**.*

*A toute ma belle-famille **Lounissi**.*

ملخص

تم تقدير الفعل المضاد للالتهاب لكل من المستخلص الميثانولي والمائي لأوراق وبراعم أزهار نبتة الكبار *Capparis spinosa* داخل و خارج الكائن الحي. أظهر التقدير الكمي للمركبات الفينولية أن المستخلصات الميثانولية تحتوي أعلى كمية من عديدات الفينول الكلية، الفلافونويدات و الدباغ مقارنة بالمستخلصات المائية. بينت النتائج أن المعالجة الموضعية للفئران بـ 2 مغ/لأذن من المستخلصات تثبط التهاب الأذن المحفز بزيت croton بـ 66-86%. كما أظهرت المعالجة المسبقة للجرذان بـ 200 أو 400 مغ/كغ من المستخلصات قدرة معتبرة في الحماية من وذمة الرجل المحفزة بـ λ -carragénine ابتداء من الساعة الثانية بعد إحداث الالتهاب بنسبة 13-69%. من جهة أخرى، أظهرت معالجة الفئران بهاتين الجرعتين تخفيضا في عدد تفاعلات البطن المحفزة بحمض الأستيك بـ 49-76%. بالإضافة إلى ذلك، أدت معالجة الفئران بـ 1مغ من المستخلصات الميثانولية لكل من الأوراق و البراعم في الجيب الهوائي إلى انخفاض في هجرة الخلايا المتعادلة بنسب 44% و 49%، على الترتيب. أدى حضان الخلايا المحفزة بـ concanavline A مع تراكيز مختلفة (1، 10، 50، 100مغ /مل) للمستخلصات الميثانولية إلى انخفاض إفراز السيتوكينات المحفزة للالتهاب ($\text{TNF-}\alpha$ ، $\text{IL-1}\beta$ ، IL-8 ، $\text{IFN-}\gamma$) دون تثبيط إفراز السيتوكينات المضادة للالتهاب (IL-10 و $\text{TGF-}\beta$). نسب التثبيط الناتجة غير متعلقة بالتركيز و تتراوح بين 11% و 100%. المستخلص الميثانولي للبراعم هو الوحيد الذي أظهر تثبيطا معنويا لإفراز LTB_4 بنسبة 21-25%. أدت معالجة الخلايا المتعادلة المحفزة بـ $\text{fMLP/ cytochalasine B}$ بمختلف التراكيز من المستخلصات إلى تثبيط معنوي في إفراز O_2^- . المستخلص الميثانولي للأوراق هو الذي أظهر أعلى نسبة تثبيط و التي تقدر بـ 71% عند التركيز 100 مكغ/مل. أظهرت المستخلصات أيضا تثبيطا لإنزيم MPO بنسب تتراوح بين 13% و 67%. من جهة أخرى، بينت النتائج أن كل المستخلصات تملك نشاطية معتبرة مضادة للأكسدة، و يعتبر المستخلص الميثانولي للأوراق هو الأكثر نشاطية كونه أظهر قدرة على التقاط جذور DPPH، ارجاع و استخلاص أيونات الحديد بـ IC_{50} مساوية لـ 51 مكغ/مل، 81 مكغ/مل و 169 مكغ/مل، على التوالي. إضافة إلى ذلك فهو يمنع أكسدة- β carotène بـ 66%، و يثبط تحلل كريات الدم الحمراء بـ 93%. كخلاصة، إن مستخلصات *Capparis spinosa* تملك نشاطية مضادة للالتهاب معتبرة و التي يمكن أن ترجع لما تحتويه من عديدات الفينول التي تكبح إفراز وسائط الالتهاب و لها نشاطية مضادة للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: مضادات الالتهاب، مضادات الأكسدة، *Capparis spinosa*، السيتوكينات، الالتهاب، وسائط الالتهاب، الخلايا المتعادلة.

Résumé

L'activité anti-inflammatoire des extraits méthanoliques (E.Met) et aqueux (E.Aq) des feuilles et des bourgeons floraux de *Capparis spinosa* a été évaluée *in vivo* et *in vitro*. Les analyses phytochimiques des extraits ont révélé que les E.Met sont plus riches en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins que les E.Aq. Le traitement local des souris par 2 mg/oreille des extraits a inhibé l'inflammation induite par l'huile de croton avec un pourcentage de 66-86%. De même, le prétraitement des rats par 200 ou 400 mg/Kg des extraits prévient significativement l'œdème de la patte induit par λ -carragénine à partir de la 2^{ème} h avec 13-69%. D'autre part, le traitement des souris par ces deux doses, a réduit le nombre des contractions abdominales induites chez la souris par l'acide acétique avec 49-76%. En outre, le traitement des souris par 1 mg/poche des E.Met des feuilles et des bourgeons a inhibé significativement la migration des neutrophiles avec des pourcentages de 44% et 49%, respectivement. *In vitro*, l'incubation des cellules-concanavaleine A stimulées avec les différentes concentrations (1, 10, 50, 100 μ g/ml) des extraits méthanoliques a diminué la production des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-8, IFN- γ) sans inhiber la production des cytokines anti-inflammatoires (IL-10 et TGF- β). Les inhibitions obtenues sont dose-indépendantes et varient entre 11% et 100%. L'E.Met des bourgeons est le seul extrait ayant exercé une inhibition significative (21-25%) sur la production de LTB₄. L'incubation des neutrophiles-fMLP/cytochalasine B stimulés avec les extraits prévient significativement la production de l'O₂⁻. A 100 μ g/ml l'E.Met des feuilles exerce la meilleure inhibition (71%). Tous les extraits ont inhibé la MPO avec 13-67%. D'autre part, les résultats montrent que tous les extraits sont doués d'activité antioxydante importante. Cependant, l'E.Met des feuilles s'avère être le plus actif. En effet, cet extrait scavenge les radicaux de DPPH, réduit et chélate le fer ferreux avec des IC₅₀ de 51 μ g/ml, 81 μ g/ml et 169 μ g/ml, respectivement. En plus, il prévient le blanchissement de la β -carotène avec 66% et inhibe l'hémolyse des érythrocytes avec 93%. En conclusion, les extraits de *Capparis spinosa* possèdent une activité anti-inflammatoire importante, qui est probablement due à leur contenu en polyphénols qui ont la capacité d'inhiber la production des différents médiateurs de l'inflammation et de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène.

Mots clés: anti-inflammatoires, antioxydants, *Capparis spinosa*, cytokines, inflammation, médiateurs inflammatoires, neutrophiles.

Abstract

The anti-inflammatory activity of the methanolic (Met.E) and aqueous (Aq.E) extracts of leaves and flower buds of *Capparis spinosa* was evaluated *in vivo* and *in vitro*. The results showed that Met.E are rich in total polyphenols, flavonoids and tannins than Aq.E. The local treatment of mice with 2 mg/ear of Met.E or Aq.E inhibited ear edema induced by croton oil with 66-86%. Similarly, the oral pretreatment of rats with 200 or 400 mg/Kg of extracts prevented significantly the paw edema induced by λ -carrageenan from the 2nd h with 13-69%. On the other hand, the treatment of mice with the same doses reduced the number of the abdominal writhing induced by acetic acid with 49-76%. In addition, the treatment of mice with 1mg/pouch of the Met.E of the leaves and buds prevented significantly the neutrophils migration with 44% and 49%, respectively. The *in vitro* results showed that the incubation of concanavalin A stimulated cells with different concentrations (1, 10, 50, 100 μ g/ml) of the methanolic extracts reduce the release of the pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-8, IFN- γ) and did not inhibit the production of the anti-inflammatory ones (IL-10 and TGF- β). The inhibitions values are dose-independent and are between 11% and 100%. The production of LTB₄ from the neutrophils was inhibited (21-25%) only by the Met.E of the buds. The treatment of the fMLP/ cytochalasin B stimulated neutrophils prevented the production of the O₂⁻ significantly. At 100 μ g/ml, the best inhibition (71%) was obtained by the Met.E of leaves. All extracts showed an inhibition of 13-67% on MPO activity. On the other hand, the results showed that the extracts exhibited very important antioxidant activity. The Met.E of the leaves seem to be the best one since it scavenges DPPH radicals, reduces and chelates ferrous ions with IC₅₀ of 51 μ g/ml, 81 μ g/ml and 169 μ g/ml, respectively. Moreover, this extract prevented β -carotene bleaching with 66% and inhibited the hemolysis of the red cells with 93%. In conclusion, *Capparis spinosa* extracts exhibit an important anti-inflammatory activity. This activity can be attributed to the polyphenols contents that exhibit inhibitory effects on the production of the inflammatory mediators and antioxidant activity.

Key words: anti-inflammatory, antioxidants, *Capparis spinosa*, cytokines, inflammation, inflammatory mediators, neutrophils.

LISTE DES ABREVIATIONS

AINS :	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
AIS :	Anti-inflammatoires stéroïdiens
BHT:	2, 6 di-tert-butyl-4-methylphenol
CMH :	Complexe majeur d'histocompatibilité
Con A :	Concanavalline A
COX :	Cyclooxygénase
CXC :	Cystéine-acide aminé-cystéine
DPPH :	2,2-diphényl-2-picryl-hydrate
EAG :	Equivalent d'acide gallique
EAT :	Equivalent d'acide tannique
EDTA :	Ethylènediaminetétraacétique
EQ :	Equivalent quercétine
fMLP :	<i>N</i> -formyl-met-leu-phe
GM-CSF :	Granulocyte/monocyte-colony stimulating factor
HPLC-TOF-MS :	High performance liquid chromatography time of flight-mass spectrometry
ICAM :	Intercellular Adhesion Molecule
IFN :	Interféron
IκB :	Inhibiteur de κ B
IL :	Interleukine
iNOS :	Oxyde nitrique synthase inductible
LFA-1 :	Lymphocyte function-associated antigen-1
LOX :	Lipoxygénase
LPS :	Lipopolysaccharide
LTB4 :	Leucotriène B4
Mac-1 :	Macrophage-1 antigen
MAPK:	Mitogen-activated protein kinase
MPO :	Myéloperoxydase
NADPH-oxidase :	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase
Net :	Neutrophil extracellular traps
NF-κB :	Facteur nucléaire- κ B

NK :	Naturel killer
NO :	Monoxyde d'azote
PAF :	Facteur d'activation plaquettaire
PBMC :	Cellules mononucléaires du sang périphérique
PECAM :	Platelet/endothelial cell adhesion molecule
PG :	Prostaglandine
PI3kinase :	Phosphoinositide 3 kinase
PKC :	protéine kinase C
PLA2 :	Phospholipase A2
PMN :	Polymorphonucléaire neutrophile
ROS :	Espèce réactive de l'oxygène
RPMI :	Roswell Park Memorial Institute medium
SOCS :	Suppressor of cytokine signaling
SOD :	Superoxyde dismutase
STAT :	Signal transducer and activator of transcription
TGF-β :	Facteur de croissance transformant β
Th :	T helper
TNF-α :	Facteur de nécrose tumorale- α
VCAM :	Vascular cell adhesion molecule

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

FIGURES

Figure 1: Etapes de l'inflammation aiguë	4
Figure 2: Recrutement des leucocytes vers le site inflammatoire	6
Figure 3: Mécanisme bactéricide du neutrophile	8
Figure 4: Activation de la NADPH oxydase	17
Figure 5: Productions des espèces réactives dans les neutrophiles	17
Figure 6: Principales classes des polyphénols	24
Figure 7: Photographies de <i>Capparis spinosa</i>	26
Figure 8: Droite d'étalonnage de l'acide gallique	32
Figure 9: Droite d'étalonnage de la quercétine	33
Figure 10: Droite d'étalonnage de l'acide tannique	33
Figure 11: Chromatogramme de l'extrait méthanolique (A) et aqueux (B) des feuilles de <i>C. spinosa</i> obtenus par HPLC-TOF/MS.....	46
Figure 12: Chromatogramme de l'extrait méthanolique (A) et aqueux (B) des bourgeons floraux de <i>C. spinosa</i> obtenus par HPLC-TOF/MS	47
Figure 13: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux de (B) <i>C. spinosa</i> sur l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris	49
Figure 14: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur l'œdème de la patte induit chez le rat par la carragénine.....	51
Figure 15: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur l'infiltration des neutrophiles vers la poche d'air	52
Figure 16: Effet analgésique des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i>	53
Figure 17: Effet cytotoxique des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> envers les neutrophiles.....	55
Figure 18: Concentrations basales (contrôle ⁻) et en présence de la concanavaleine A (contrôle ⁺) des cytokines pro-inflammatoires dans le surnageant des PBMCs et des PMNs.....	56
Figure 19: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur la production de TNF- α par les mononucléaires périphériques.....	58
Figure 20: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur la production de TNF- α par les neutrophiles	59

Figure 21: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur la production de l'IL-1 β par les mononucléaires périphériques	60
Figure 22: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur la production de l'IL-1 β par les neutrophiles	62
Figure 23: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur la production de l'IL-8 par les mononucléaires périphériques	63
Figure 24: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur la production de l'IL-8 par les neutrophiles	64
Figure 25: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur la production de l'IFN- γ par les mononucléaires périphériques.....	66
Figure 26: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur la production de l'IFN- γ par les neutrophiles	67
Figure 27: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur la production de l'IL-10.....	68
Figure 28: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur la production de TGF- β	69
Figure 29: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur la production de LTB ₄	71
Figure 30: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur la production de l'anion superoxyde.....	72
Figure 31: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur l'activité de la myéloperoxydase	73
Figure 32: Activité anti-radicalaire des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i>	75
Figure 33: Activité chélatrice du fer ferreux des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i>	77
Figure 34: Pouvoir réducteur des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i>	78
Figure 35: Effets des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de <i>C. spinosa</i> sur le blanchiment de β -carotène	79

TABLEAUX

Tableau 1: Principaux constituants des granulations du neutrophile	9
---	---

Tableau 2: Quantification des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins dans les extraits de <i>C. spinosa</i>	45
Tableau 3: Composés phénoliques identifiés par HPLC–TOF-MS dans les extraits de <i>C. spinosa</i>	48
Tableau 4: Effet protecteur des extraits de <i>C. spinosa</i> contre l'hémolyse des hématies humaines induites par le milieu hypotonique.....	74
Tableau 5: Concentration inhibitrice (IC ₅₀) ou effective (EC ₅₀) de l'activité anti-radicalaire, chélatrice et réductrice des extraits de <i>C. spinosa</i>	76

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
--------------------	---

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Inflammation	3
I.1. Déroulement de l'inflammation	3
I.1.1. Phase vasculaire	3
I.1.2. Phase cellulaire	4
I.1.3. Phase de résolution	5
I.2. Principaux effecteurs de l'inflammation	7
I.2.1. Effecteurs cellulaires	7
I.2.1.1. Les polymorphonucléaires neutrophiles	7
I.2.1.2. Monocytes/macrophages	10
I.2.1.3. Autres types de cellules inflammatoires	11
I.2.2. Effecteurs moléculaire soluble	12
I.2.2.1. Médiateurs plasmatiques	12
I.2.2.2. Médiateurs cellulaires	13
a. Amines et peptides vasoactifs	13
b. Cytokines et chimiokines	13
c. Médiateurs lipidiques	16
d. Espèces réactives de l'oxygène	16
e. Protéases	18
I.3. Régulation de l'inflammation	19
I.3.1. Désensibilisation des cellules inflammatoires	19
I.3.2. Inactivation des médiateurs pro-inflammatoires	20
I.3.3. Arrêt de la synthèse des médiateurs pro-inflammatoires	20
I.4. Traitement de l'inflammation	20
I.4.1. Traitement classique	20
I.4.1.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens	21
I.4.1.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens	22
I.4.1.3. La biothérapie	22
I.4.2. Traitement alternatif	23

II. La plante <i>Capparis spinosa</i> L.....	25
II.1. Aspect botanique	25
II.2. Usage traditionnel	25
II.3. Composition chimique	27
II.4. Activités biologiques.....	28

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel.....	30
I.1. Matériel végétal	30
I.2. Animaux	30
I.3. Sang humain et bovin	30
II. Méthodes	30
II.1. Extraction	30
II.1.1. Préparation des extraits méthanoliques	30
II.1.2. Préparation des extraits aqueux	31
II.2. Analyse phytochimique.....	31
II.2.1. Dosage des polyphénols totaux	31
II.2.2. Dosage des flavonoïdes	31
II.2.3. Dosage des tanins	32
II.2.4. Analyse par HPLC/TOF-MS.....	34
II. 3. Activité anti-inflammatoire des extraits <i>Capparis spinosa</i>	34
II.3.1. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>	34
II.3.1.1. Œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris	34
II.3.1.2. Œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat	35
II.3.1.3. La poche d'air	35
II.3.1.4. Evaluation de l'effet analgésique.....	36
II.3.2. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	36
II.3.2.1. Préparation des cellules.....	36
a. Isolement des leucocytes mononucléaires	36
b. Isolement des neutrophiles	37
c. Comptage cellulaire	37
II.3.2.2. Evaluation de la cytotoxicité des extraits de <i>Capparis spinosa</i>	38
II.3.2.3. Culture cellulaire	38

II.3.2.4. Evaluation de l'effet des extraits sur la production des médiateurs inflammatoires.....	39
a. Evaluation de l'effet des extraits sur la production des cytokines.....	39
b. Evaluation de l'effet des extraits sur la production de leucotriène B4.....	39
c. Evaluation de l'effet des extraits sur la production de l'anion superoxyde ...	40
II.3.2.5. Evaluation de l'effet des extraits sur l'activité de la myéloperoxydase	40
II.3.2.6. Evaluation de l'effet des extraits sur la stabilité membranaire	41
II.4. Activité antioxydante des extraits de <i>Capparis spinosa</i>	41
II.4.1. Activité anti-radicalaire	41
II.4.2. Chélation du fer ferreux	42
II.4.3. Pouvoir réducteur.....	42
II.4.4. Blanchiment du β -carotène	43
III. Analyse statistique	43

RESULTATS

I. Préparation des extraits de <i>Capparis spinosa</i>	44
II. Analyse phytochimique	44
III. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> des extraits de <i>Capparis spinosa</i>	48
III.1. Effet sur l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris	48
III.2. Effet sur l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat.....	50
III.3. Effet sur le recrutement des neutrophiles	50
III.4. Effet analgésique.....	50
IV. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> des extraits de <i>Capparis spinosa</i>	54
IV.1. Cytotoxicité des extraits	54
IV.2. Effet sur la production des médiateurs inflammatoires	54
IV.2.1. Effet sur la production des cytokines pro-inflammatoires.....	54
IV.2.1.1. Effet sur la production de TNF- α	57
IV.2.1.2. Effet sur la production de l'IL-1 β	57
IV.2.1.3. Effet sur la production de l'IL-8.....	61
IV.2.1.4. Effet sur la production de l'IFN- γ	65
IV.2.2. Effet sur la production des cytokines anti-inflammatoires	65
IV.2.2.1. Effet sur la production de l'IL-10	65
IV.2.2.2. Effet sur la production de TGF- β	65
IV.2.3. Effet sur la production de leucotriène B4	70

IV.2.4. Effet sur la production de l'anion superoxyde	70
IV.3. Effet sur l'activité de la myéloperoxydase	70
IV.4. Effet stabilisant de la membrane plasmique	74
V. Activité antioxydante des extraits de <i>Capparis spinosa</i>	74
V.1. Effet anti-radicalaire du radical DPPH	74
V.2. Effet chélateur du fer ferreux	76
V.3. Pouvoir réducteur	76
V.4. Effet sur le blanchiment de la β -carotène	79

DISCUSSION

I. Extraction et analyse phytochimique des extraits de <i>Capparis spinosa</i>	80
II. Activité anti-inflammatoire des extraits de <i>Capparis spinosa</i>	82
II.1. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>	82
II.2. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	87
II.2.1. Effet des extraits sur la production des cytokines	88
II.2.2. Effet des extraits sur la production de la leucotriène B ₄	90
II.2.3. Effet des extraits sur la production des espèces réactives de l'oxygène	90
IV.2.4. Effet des extraits sur l'activité de la myéloperoxydase	91
IV.2.5. Effet des extraits sur la stabilité membranaire	92
III. Activité antioxydante des extraits des extraits de <i>Capparis spinosa</i>	93
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	96
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	97

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'inflammation est un ensemble complexe de réactions locales et systémiques qui fait intervenir des différents types de cellules. Ces réactions nécessitent un réseau de communication intercellulaire impliquant de nombreux médiateurs chimiques pro ou anti-inflammatoires qui peuvent entretenir ou modifier la réponse inflammatoire. Les cytokines pro-inflammatoires initient une cascade de production d'un grand nombre d'autres médiateurs impliqués dans le maintien du processus inflammatoire comme les chimiokines, les médiateurs lipidiques et les enzymes protéolytiques. Une production excessive de ces médiateurs conduit le plus souvent à une activation inappropriée des cellules inflammatoires, générant alors des lésions tissulaires graves associées avec le développement de plusieurs pathologies inflammatoires et auto-immunes.

D'autre part, la production non contrôlée des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote induit et amplifie le processus inflammatoire en conduisant aux plusieurs maladies telles que le cancer, le diabète, l'asthme, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives et inflammatoires.

Les maladies inflammatoires chroniques sont la troisième cause de la mortalité, après les affections cardiovasculaires et les cancers. Une modulation thérapeutique à différentes étapes de l'inflammation et de la production de ses médiateurs, afin d'empêcher l'activation inappropriée des cellules inflammatoires, a été envisagée et constitue la cible privilégiée de plusieurs molécules anti-inflammatoires.

Le traitement de l'inflammation est souvent basé sur l'apport des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. Ces médicaments, quelles que soient leurs voies d'administration, présentent des risques de toxicité gastro-intestinale et rénale. Le risque est d'autant plus important que la posologie est élevée et que le traitement est prolongé. Cependant, la phytothérapie peut s'imposer comme une alternative avec des effets secondaires moindres.

Les substances naturelles connaissent un intérêt croissant dans les domaines, pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique qui s'orientent vers l'incorporation des molécules d'origine naturelle dans leurs produits. En effet, de nombreuses recherches ont prouvé que les substances d'origine végétale sont douées de plusieurs activités biologiques à savoir l'activité anti-oxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antimicrobienne... etc.

De ce fait, ces dernières années plusieurs recherches se sont orientées vers la valorisation des plantes médicinales utilisées traditionnellement en vue de vérifier la sûreté et l'efficacité et d'envisager les mécanismes thérapeutiques afin d'établir des règles scientifiques pour leur usage.

L'objectif essentiel de la présente étude consiste à évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits de *Capparis spinosa*, en utilisant différents modèles inflammatoires *in vivo* et *in vitro*.

Cette étude renferme quatre volets:

- Le premier est d'ordre phytochimique basé principalement sur l'extraction, la quantification et l'identification des composés phénoliques.
- Le second est consacré à l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits *in vivo*, en utilisant les modèles suivants:
 - Œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris.
 - Œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat.
 - La poche d'air.
 - Test de torsion abdominale induit chez les souris par l'acide acétique.
- Le troisième est consacré à évaluer *in vitro* l'effet des extraits sur :
 - la production ou l'activité de certains médiateurs de l'inflammation, en particulier les cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-8, TNF- α , IFN- γ) et les cytokines anti-inflammatoires (IL-10, TGF- β), ainsi que le leucotriène B₄, l'anion superoxyde et la myéloperoxydase.
 - la stabilité membranaire
- Le quatrième est consacré à l'évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits par plusieurs tests *in vitro* (DPPH, chélation, pouvoir réducteur, blanchiment de la β -carotène).

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Inflammation

L'inflammation est un ensemble de mécanismes de protection par lesquels l'organisme se défend contre une agression qui peut être d'origine exogène (traumatisme, infection) ou endogène (troubles métaboliques et lésions dégénératives). Elle implique différents types cellulaires, appartenant aux systèmes immunitaire et endothélial, et un réseau complexe de médiateurs chimiques impliqués dans la communication intercellulaire (Pacheco et *al.*, 1993 ; Noack et Kolopp-Sarda, 2018).

La réponse inflammatoire aiguë est un processus rapide et dynamique qui se guérissent spontanément. Dans ce cas, un équilibre entre des facteurs pro-inflammatoires responsables de l'initiation et de l'amplification de cette réponse et d'autres anti-inflammatoires associés à sa résolution est établi (Cynober, 2000). Lors d'une dérégulation de cet équilibre, l'inflammation devient chronique et peut entraîner des lésions tissulaires importantes qui peuvent être un facteur étiologique de diverses maladies chroniques comme l'arthrite rhumatoïde, le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Weill et *al.*, 2003 ; Medzhitov, 2010).

I.1. Déroulement de l'inflammation

La réaction inflammatoire débute par une étape de reconnaissance durant laquelle des récepteurs spécifiques présents à la surface de certaines cellules résidentes des tissus (macrophages, mastocytes et cellules dendritiques) vont reconnaître des structures communes à des groupes de pathogènes soit d'origine exogène ou endogène (Essakalli et *al.*, 2009). Cette reconnaissance initie une cascade de réactions (**Figure 1**) aboutissant à une défense locale et la phagocytose des microorganismes. Ces réactions sont associées à une production précoce de différents médiateurs inflammatoires qui déclenchent le processus inflammatoire qui s'évolue principalement en trois phases successives.

I.1.1. Phase vasculaire

La phase vasculaire est initiée avec une vasoconstriction artériolaire extrêmement brève, qui perturbe le mouvement des plaquettes dans la circulation sanguine en conduisant à leur activation et la synthèse du thromboxane A₂. Ce dernier est doué de propriétés agrégantes et vasoconstrictrices puissantes. Parallèlement durant cette phase, l'activation du facteur XII de système de coagulation aboutit à la formation de la fibrine qui en plus de son rôle dans l'hémostase exerce un rôle chimiotactique pour les neutrophiles et augmente

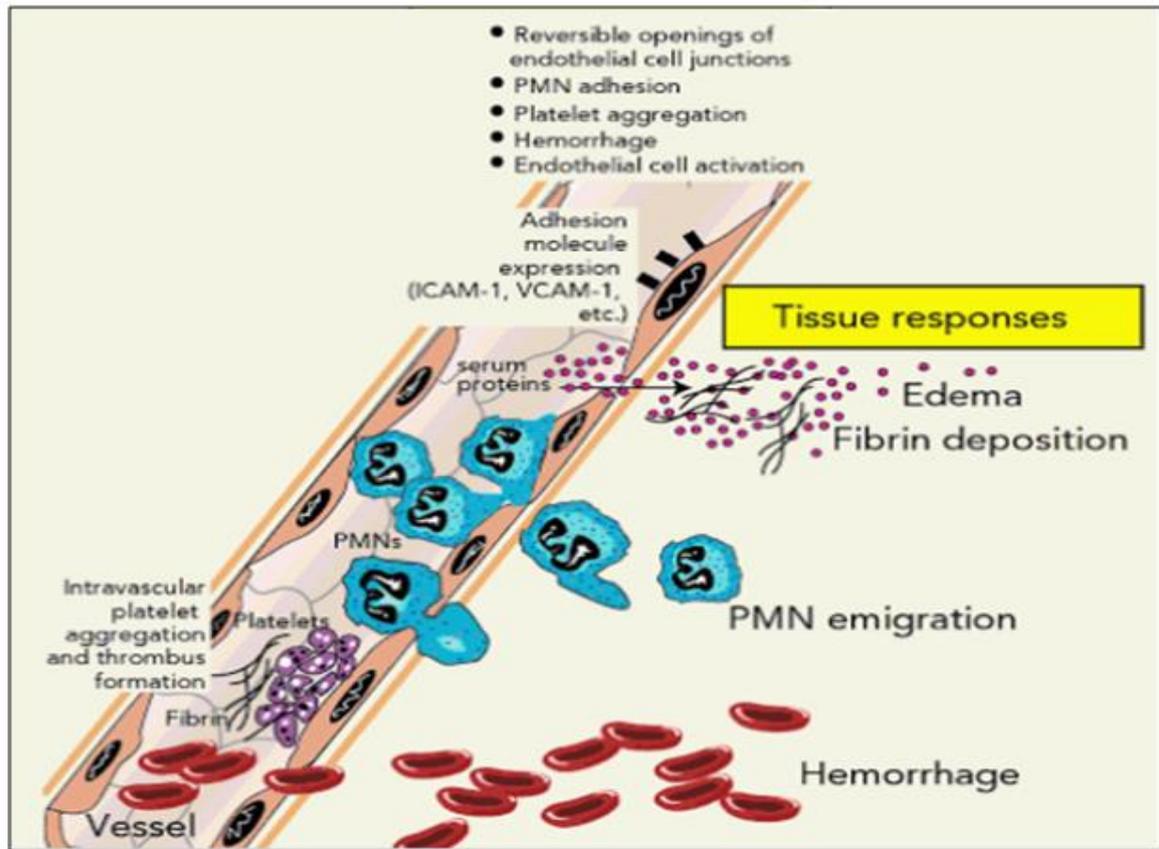


Figure 1 : Etapes de l'inflammation aiguë (Ward et *al.*, 2010).

la perméabilité vasculaire en agissant sur le système des kinines (Weill et *al.*, 2003). Ces derniers, vont induire la production de plusieurs médiateurs tels que les eicosanoïdes et le monoxyde d'azote (NO) responsables de la vasodilatation des vaisseaux sanguins (Felipe et *al.*, 2007). Cette vasodilatation est accompagnée par une augmentation du débit de la microcirculation, ce qui explique partiellement l'apparition de la chaleur et de la rougeur du site enflammé. En outre, ces médiateurs et d'autres comme les amines vasoactifs vont augmenter la contraction des cellules endothéliales, ce qui augmente ainsi la perméabilité vasculaire et la formation de l'œdème. Ce dernier, par distension des tissus provoque une hyperpression sur les terminaisons nerveuses locales et la sensation de la douleur et de la tuméfaction (Weill et *al.*, 2003 ; Kumar et *al.*, 2014).

I.1.2. Phase cellulaire

La migration des leucocytes du sang périphérique vers les tissus lésés est un élément essentiel de la réponse inflammatoire. Les phagocytes constitués majoritairement par les polymorphonucléaires neutrophiles (PMNs) gagnent rapidement le site de l'infection. Les PMNs sont remplacés progressivement par les monocytes/macrophages,

puis par les lymphocytes qui arrivent tardivement au site inflammatoire (Stramer et *al.*, 2007).

Durant cette phase, l'endothélium joue un rôle crucial dans la communication entre le site de l'inflammation et les leucocytes circulants. L'activation des cellules endothéliales par les médiateurs précoces de l'inflammation comme l'interleukine 1 (IL-1), le tumor necrosis factor α (TNF- α), le NO, le fragment du complément C5a, le leucotriène B4 (LTB4) et l'histamine induit l'expression à leur surface de nouvelles molécules d'adhésion, les P et les E sélectines. Ces derniers vont se lier faiblement aux récepteurs leucocytaires et induisent leur ralentissement (**Figure 2**). Ensuite, sous l'effet du flux sanguin qui vient défaire l'interaction sélectine-récepteur, les leucocytes se détachent de l'endothélium. Cette opération se répète de façon à ce que le leucocyte roule au long de l'endothélium (Tozeren et Ley, 1992 ; Chen et Springer, 1999). En rapprochant du site de l'infection, les leucocytes vont retrouver les chimiokines (C5a, LTB4, produits bactériens) retenues à la surface des cellules endothéliales qui entraînent l'activation des intégrines leucocytaires telles que le LFA-1 (Leucocytes function-associated antigen-1) et le Mac-1 (Macrophage-1 antigen). Ces intégrines sont responsables de l'adhésion ferme et de la migration trans-endothéliale des leucocytes (Alon et Feigelson, 2002 ; Schmidt et *al.*, 2013). Une fois franchi la barrière vasculaire, les leucocytes vont migrer par chimiotactisme vers le site enflammé tout en suivant un gradient croissant de facteurs chimiotactiques. Cette migration est facilitée par la dégradation de la membrane basale par les métalloprotéases et d'autres enzymes libérées lors de la dégranulation des phagocytes (Ellis et Murphy, 2001). Dans le site de l'inflammation, les phagocytes activés vont phagocytter les agents pathogènes qui seront ensuite dégradés dans les phagosomes par des enzymes hydrolytiques et des radicaux libres (Hurtado-Nedelec et *al.*, 2014).

I.1.3. Phase de résolution

En conditions physiologiques, l'élimination de l'agent pathogène est suivie d'une phase de résolution de la réponse inflammatoire. Durant cette phase, différents mécanismes cellulaires et moléculaires sont mis en jeu permettant de contre-réguler le processus inflammatoire et de restaurer l'homéostasie et l'intégrité fonctionnelle du tissu (Barnig 2016).

La résolution de l'inflammation est un processus finement régulé, elle est médiée par la décroissance de médiateurs pro-inflammatoires et la production précoce de

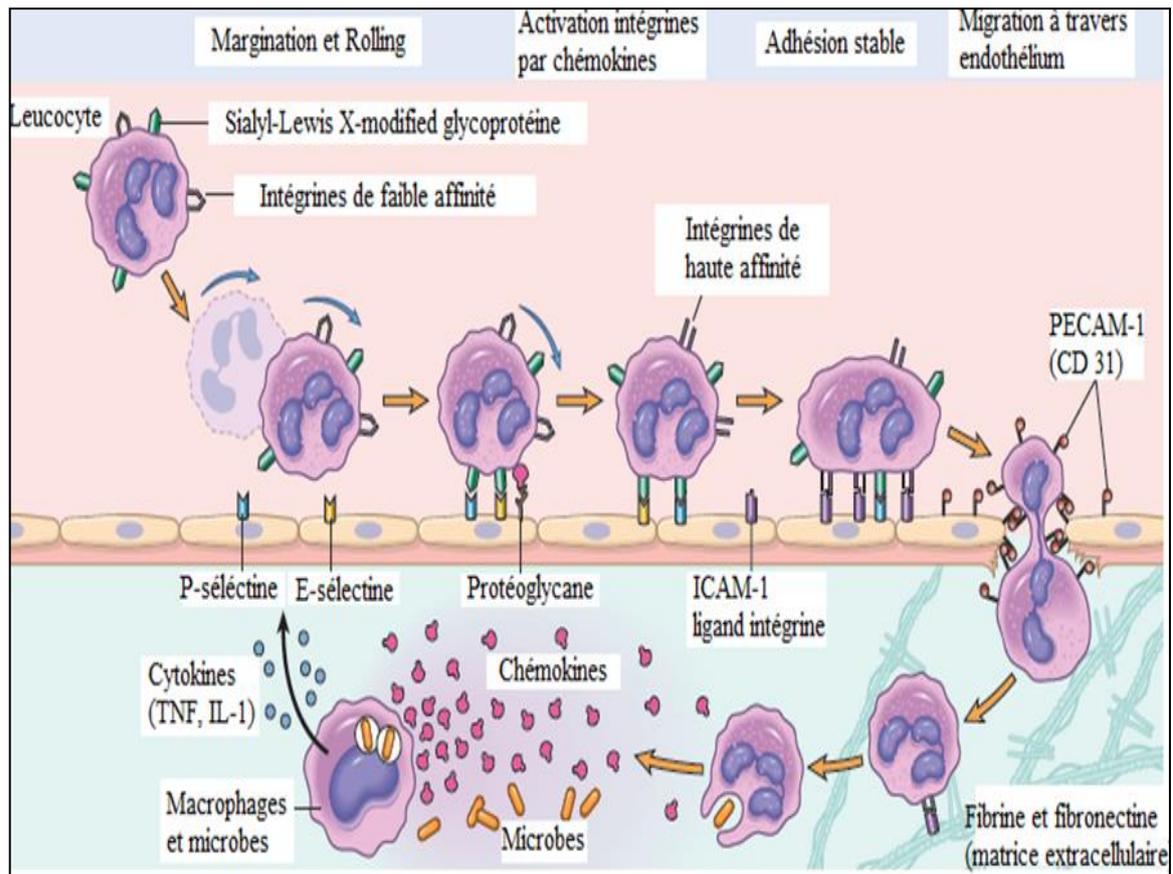


Figure 2 : Recrutement des leucocytes vers le site inflammatoire (Kumar *et al.*, 2014).

médiateurs anti-inflammatoires. Ces médiateurs contra-régulateurs et pro-résolvants régulent le recrutement et l'activation des cellules inflammatoires (Barnig 2016).

En effet, après 24–48 h, les cellules inflammatoires s'engagent massivement vers la voie de l'apoptose. L'ingestion de ces cellules apoptotiques par les macrophages, induit dans ces derniers un signal de commutation de la synthèse des cytokines pro-inflammatoires vers les cytokines anti-inflammatoires (Fadok *et al.*, 1998 ; Huynh *et al.*, 2002 ; Marsolais et Frenette, 2005). D'un autre côté, il a été rapporté que la prostaglandine (PG) E₂ joue un rôle important dans cette commutation des macrophages et que le traitement par les anti-inflammatoires (indométacine) pouvait inhiber cette commutation, ce qui suggère l'importance de l'activité des cyclooxygénases (COX) dans l'amorce du processus de guérison (Fadok *et al.*, 1998). De même, l'expression de COX-2 dans la phase de résolution de l'inflammation est associée à la production de PGD₂ qui a des propriétés anti-inflammatoires via son métabolite le 15-desoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandine J₂ (Gilroy *et al.*, 1999 ; Herlong et Scott, 2006). D'autres médiateurs anti-inflammatoires comme les lipoxines, les résolvines et les protectines sont considérés comme des vrais agonistes de la résolution de l'inflammation. Ces médiateurs participent dans l'arrêt du

recrutement des leucocytes, l'inhibition de la production de médiateurs pro-inflammatoires et l'ingestion de cellules apoptotiques par les macrophages (Kennedy *et al.*, 2009 ; Barnig *et al.*, 2016). L'ingestion des cellules apoptotiques par les macrophages induit l'arrêt de la prolifération de ces derniers et prolonge leur survie, ce qui enrichit le microenvironnement par des facteurs de croissance tels que le TGF- β 1 (facteur de croissance transformant β) et le VEGF (facteur de croissance de l'endothélium vasculaire), ayant un rôle essentiel dans l'angiogenèse et la réparation tissulaire (Marsolais et Frenette, 2005).

Durant cette phase de l'inflammation, les fibroblastes produisent également les protéines matricielles des tissus intercellulaires comme le collagène, la fibronectine et la laminine pour permettre la reconstruction des tissus (Weill *et al.*, 2003).

Contrairement, la persistance des cellules inflammatoires activées ainsi que la production contenue de cytokines, de chimiokines et d'autres médiateurs pro-inflammatoires dans le microenvironnement conduisent à l'inflammation chronique. Cette dernière est associée avec le développement de plusieurs pathologies inflammatoires comme les maladies neurodégénératives, les maladies cardiovasculaires, le cancer, les maladies auto-immunes (Rock et Kono, 2008 ; Ahmed, 2011).

I.2. Principaux effecteurs de l'inflammation

I.2.1. Effecteurs cellulaires

Le processus inflammatoire mis en jeu différents types de cellules, qui sont à la fois des cellules circulantes qui migrent vers le tissu interstitiel ou des cellules du foyer inflammatoire.

I.2.1.1. Les polymorphonucléaires neutrophiles

Les PMNs constituent un puissant système de défense contre les agents pathogènes (bactéries, champignons parasites et virus) et les structures reconnues comme étrangères telles que les cellules et les molécules endogènes altérées (Hurtado-Nedelec *et al.*, 2014). Grâce à leur rôle de sentinelle, ils constituent la première ligne de cellules immunitaires recrutées vers le site de l'inflammation (Demaret *et al.*, 2014). Une fois arrivés au site enflammé, les neutrophiles vont phagocyter l'agent pathogène (**Figure 3**), puis pour le détruire ils font recours à deux types de mécanismes qui interviennent de façon coopérative, l'un dépendant de l'oxygène et l'autre indépendant de celui-ci (Gougerot-Pocidallo *et al.*, 2007).

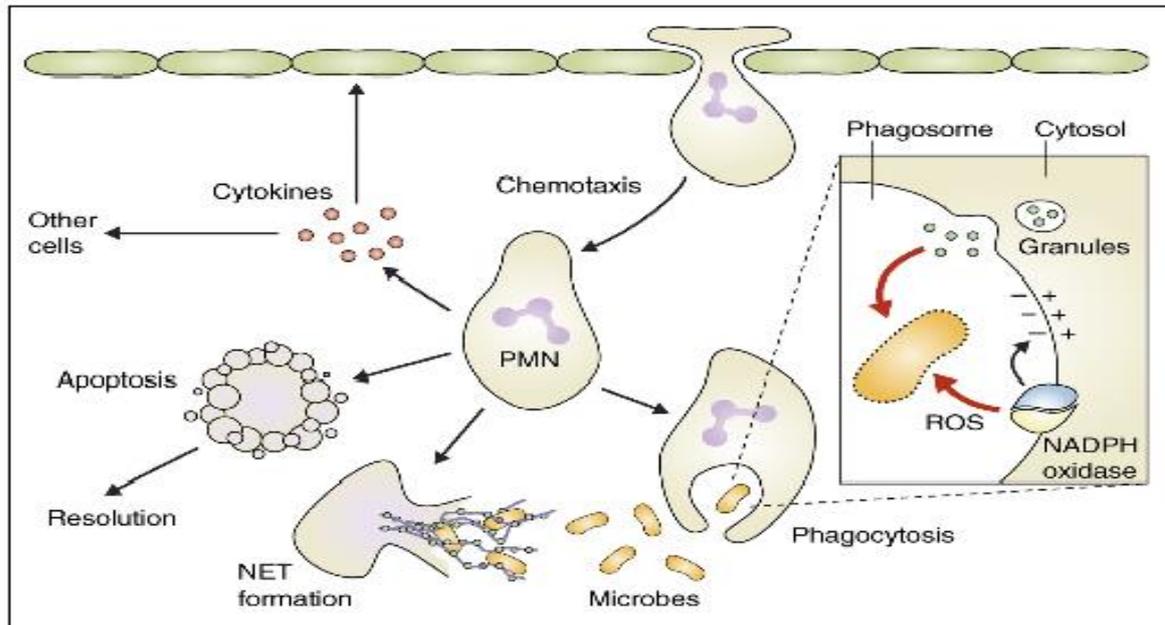


Figure 3: Mécanisme bactéricide du neutrophile (Mócsai, 2013).

Le système tueur indépendant de l'oxygène provient essentiellement du contenu des granulations du neutrophile. En effet, le PMN possède quatre types de granulations cytoplasmiques (**Tableau 1**), les granulations primaires ou azurophiles, les granulations secondaires ou spécifiques, les granulations tertiaires ou à gélatinase et les vésicules sécrétoires (Hurtado-Nedelec et *al.*, 2014). Lors de la formation du phagosome, les granulations fusionnent avec ce dernier et déversent de nombreuses substances lytiques et toxiques telles que les hydrolases acides, la défensines 1, l'azurocidine, le lysozyme, la lactoferrine, la myéloperoxydase (MPO), l'élastase et la cathepsine qui vont contribuer à la destruction de l'agent pathogène englobé (Gougerot-Pocidallo et *al.*, 2007).

Le système bactéricide oxygène-dépendant est caractérisé par l'activation d'un système moléculaire complexe, la NADPH oxydase, qui induit une réduction de l'oxygène moléculaire en anion superoxyde (O_2^-) à l'origine d'autres formes réactives de l'oxygène telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle (OH^\bullet) et l'acide hypochloreux (HOCl) (Babior, 2004 ; Stasia, 2007).

En outre, Brinkmann et ses collaborateurs (2004) ont montré que les PMNs ont un autre mécanisme bactéricide qui met en jeu des filaments extracellulaires appelés NET (neutrophil extracellular traps). Ces filaments sont composés d'ADN, d'histones et de protéines issues des granulations primaires et secondaires comme l'élastase, la cathepsine G, la lactoferrine et la gélatinase. Les NET lient aux bactéries, les piègent et exercent une activité bactéricide.

Tableau 1: Principaux constituants des granulations du neutrophile (Cassatella, 2010).

Azurophil granules	Specific granules	Gelatinase granules	Secretory granules	
Neutrophil elastase Cathepsin G Proteinase 3	Collagenase (MMP8) uPA	Gelatinase (MMP9) Arginase 1 Leukolysin (MMP25)	Leukolysin (MMP25) Proteinase 3	Proteases
Myeloperoxidase (MPO) Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) Defensins Lysozyme	hCAP18 Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) B ₁₂ -binding protein Lysozyme Lactoferrin Haptoglobin Pentraxin 3 Prodefensin Gp91 ^{phox} /p22 ^{phox}	Lysozyme Gp91 ^{phox} /p22 ^{phox}	Gp91 ^{phox} /p22 ^{phox}	Antibacterial proteins
	CD11b/CD18 CD66 CD67	CD11b/CD18 CD67	CD11b/CD18 CD67	Adhesion molecules
	uPAR Laminin-R Thrombospondin-R		CD35 (CR1) CD16 CD14 C1q-R fMLPR	Receptors
Sialidase Heparin-binding protein (HBP) β-Glucuronidase Granulophysin (CD63) Presenilin Acid β-glycerophosphatase Acid mucopolysaccharide α ₁ -Antitrypsin α-Mannosidase β-Glycerophosphatase N-acetyl-β-glucosaminidase	Secretory leukocyte peptidase inhibitor (SLPI) Orosomucoid Histaminase Heparanase β ₂ -Microglobulin CRISP3 SNAP-23 VAMP-2 Stomatin	β ₂ -Microglobulin CRISP3 SNAP-23 VAMP-2 Nramp1	Plasma proteins (including albumin) SNAP-23 VAMP-2 Nramp1 Alkaline phosphatase DAF CD10 CD13 Heparin-binding protein (HBP)	Other classes of functional proteins



 Increasing tendency of granule release

C1q-R : complement component 1q receptor, CRISP : cystein-rich secretory protein, DAF : decay accelerating factor, fMLPR : N-formyl-met-leu-phe receptor, hCAP 18 : human cathelicidin antimicrobial protein 18, Nramp 1 : natural resistance associated macrophage protein 1, R : receptor, SNAP-23 : synaptosomal-associated protein-23, uPA : urokinase-type plasminogen activator, uPAR : urokinase-type plasminogen activator receptor, VAMP-2 : vesicle-associated membrane protein-2.

À côté de ces mécanismes bactéricides, les PMNs participent également par ses sécrétions à la régulation des fonctions de nombreux partenaires du système immunitaire et de ses propres fonctions ainsi qu'au remodelage tissulaire (Hurtado-Nedelec et *al.*, 2014). En effet, les PMNs peuvent produire des cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 β et le TNF- α , des cytokines régulatrices comme le récepteur antagoniste de l'IL-1 et le TGF- β , des chimiokines comme l'IL-8 et les MIP (macrophage inflammatory protein), des interférons (IFNs), des facteurs de croissance comme le GM-CSF (granulocyte/macrophage-colony stimulating factor), le G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) et le M-CSF (monocyte/macrophage-colony stimulating factor) et d'autres médiateurs comme le PAF (facteur d'activation plaquettaire) et LTB₄ (Lapinet-*vera et al.*, 2000 ; Hurtado-Nedelec et *al.*, 2014 ; Tecchio et *al.*, 2014).

I.2.1.2. Monocytes/macrophages

Les monocytes constituent une population hétérogène de cellules qui peuvent être divisés selon le taux d'expression de certains déterminants antigéniques tels que le CD16 et le CD14 en trois sous-types : les monocytes classiques (CD14⁺⁺, CD16⁻), intermédiaires (CD14⁺, CD16⁺) et non classiques (CD14⁺, CD16⁺⁺) (Kratofil et *al.*, 2017).

Durant le processus inflammatoire, les monocytes classiques semblent être parmi les premières cellules recrutées vers le site inflammatoire. Le recrutement de ces cellules est contrôlé par le récepteur des chimiokines de type CC (CCR2) et leurs ligands. Arrivé au site inflammatoire, ce type de monocytes exerce une réponse immunitaire immédiate et puissante en produisant des taux élevés de cytokines pro-inflammatoires, à savoir IL-1 β et le TNF- α . En outre, les monocytes classiques digèrent localement la matrice extracellulaire et phagocytent les débris cellulaires et produisent l'IL-18 qui active les cellules NK, jouant ainsi un rôle important dans la progression de la réponse immunitaire (Sprangers et *al.*, 2016). Quelques jours après le début de l'inflammation, les monocytes classiques seront remplacés par les monocytes intermédiaires. Dans le site inflammatoire, ces cellules vont renforcer la réponse immunitaire induite par les monocytes classiques via ses différentes propriétés pro-inflammatoires comme la sécrétion des médiateurs pro-inflammatoires (TNF- α et IL-1 β) et la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les monocytes non classiques accumulés tardivement dans le tissu lésé participent à la résolution de la réponse immunitaire en sécrétant des cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-10 et le TGF- β (Sprangers et *al.*, 2016).

Dans le foyer inflammatoire les monocytes ont une longue durée de vie et ils évoluent vers le stade de macrophages. La différenciation des monocytes en macrophages dépend de leur phénotype ainsi que de leur microenvironnement dans lequel ils vont se différencier. En effet, les monocytes classiques doués de propriétés pro-inflammatoires et recrutés pendant des phases précoces de l'inflammation ou le milieu réactionnel est riche en médiateurs pro-inflammatoires comme le TNF- α , l'IFN- γ et le LPS (lipopolysaccharides) se transforment en macrophages pro-inflammatoires M1 (Dalmas et al., 2011 ; Fukui et al., 2018). Les monocytes non classiques recrutés dans les phases tardives de l'inflammation ou le microenvironnement est prédominé par les médiateurs anti-inflammatoires (IL-4, IL-13, IL-10, TGF- β , les hormones glucocorticoïdes) se différencient préférentiellement en macrophages anti-inflammatoires M2 (Kratofil et al., 2017).

Les macrophages M1 sont caractérisés par une activité microbicide accrue, une augmentation de l'expression du CMH II, présentation antigénique et augmentation de la production d'IL-12. Ils produisent de nombreuses cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α , l'IL-1, l'IL-6, les interférons de type I et les chimiokines de type CXC. Les macrophages M1 contrôlent la phase aiguë de l'infection, mais elles peuvent via ces propriétés pro-inflammatoires excessives ou prolongées être délétères et conduisent à des maladies inflammatoires telles que la polyarthrite rhumatoïde (Wang et al., 2014). Ces cellules reconnaissent aussi des signaux de mort cellulaire exprimés à la surface des neutrophiles, qui favorisent l'élimination de ces derniers et qui induisent une reprogrammation et le passage d'un phénotype pro-inflammatoire à un phénotype anti-inflammatoire (macrophages M2). Ces derniers jouent un rôle dans les phases de résolution de l'inflammation et de la réparation tissulaire par leur sécrétion des cytokines immunosuppressives telles que l'IL-10 et le TGF- β (Shapouri-Moghaddam et al., 2018).

I.2.1.3. Autres types de cellules inflammatoires

A côté des cellules endothéliales qui assurent par leurs sécrétions et leurs molécules d'adhésion le passage trans-endothéliale des leucocytes, les plaquettes sont impliquées dans le processus inflammatoire par la libération de nombreux médiateurs comme le fibrinogène, le plasminogène, les protéases plasmatiques, les cytokines, les médiateurs lipidiques ainsi que les amines vasoactifs (Steinhubl, 2007 ; Mekaj et al., 2016).

Les polynucléaires éosinophiles et basophiles ainsi que les mastocytes jouent un rôle très important dans la réaction inflammatoire en produisant différentes molécules

inflammatoires telles que les eicosanoïdes, le PAF, les amines vasoactifs et les cytokines (Stone et *al.*, 2010 ; Ribeiro et *al.*, 2015).

Lors d'une inflammation, les fibroblastes interviennent avec ses enzymes et lysent les macromolécules et les débris cellulaires. Ils synthétisent également des cytokines et des produits de la matrice extracellulaire (collagène et élastine) et interviennent alors dans la réparation des tissus lésés par élaboration du tissu conjonctif cicatriciel (Kendall et Feghali-Bostwick, 2014).

Malgré que les lymphocytes soient des cellules effectrices de l'immunité adaptative, une activation adéquate de ces cellules notamment les lymphocytes T helper (Th) peut appuyer la réponse inflammatoire (London et *al.*, 1998). Ils produisent des cytokines et en fonction du microenvironnement peuvent être différenciés en cellules effectrices Th1 ou Th2 (O'Garra, 1998 ; Viallard et *al.*, 2000). Les cellules Th1 secrètent majoritairement l'IFN- γ et le TNF- α ce qui amplifie la réponse immunitaire. Cependant, le phénotype Th2 qui induit la reprogrammation des macrophages en macrophage M2 via ses sécrétions (IL-4 et IL-10) ont la tendance à résoudre la réponse immunitaire (Baraut et *al.*, 2012). D'autres classes de lymphocytes comme les lymphocytes T régulateurs, les cellules NK et les lymphocytes T $\gamma\delta$ sont aussi impliquées dans la réponse innée (Weill et *al.*, 2003).

I.2.2. Effecteurs moléculaire solubles

Lors d'une agression les lésions tissulaires engendrées induisent une réponse immédiate responsable de la production de plusieurs types de médiateurs pro-inflammatoires qui responsables du déclenchement et de la poursuite de la réaction inflammatoire. Une fois, les agents pathogènes sont éliminés, de nouveaux médiateurs anti-inflammatoires sont produits, mettant fin à cette réaction inflammatoire et permettant ainsi sa résolution. Ces médiateurs peuvent être présents à l'état de précurseur inactif dans la circulation sanguine (médiateurs plasmatiques) ou synthétisés localement par les cellules inflammatoires (médiateurs cellulaires).

I.2.2.1. Médiateurs plasmatiques

Les médiateurs plasmatiques de l'inflammation sont constitués de trois systèmes interdépendants de protéases plasmatiques; le système de la coagulation, les kinines et le système du complément.

Lors d'une agression, l'activation du facteur XII par les facteurs tissulaires déclenche le système de coagulation qui aboutit à la formation de la fibrine. Ce dernier qui est un puissant agent chimiotactique des PMNs, augmente aussi la perméabilité vasculaire en agissant sur la cascade des kinines. Elle agit sur les kininogènes et sous l'action des kallicroïnes donne naissance à de nombreux petits peptides vasoactifs (bradykinine). Ces derniers à leur tour, augmentent puissamment la perméabilité vasculaire et induisent la production et l'activation de plusieurs médiateurs inflammatoires incluant le complément (Weill et *al.*, 2003).

L'activation des protéines du complément aboutit d'une part à la fixation des opsonines sur les surfaces cellulaires qui seront reconnus par des cellules du système monophagocytaire, et d'autre part à la libération de peptides diffusibles (anaphylatoxines C3a et C5a, C2b, C4a, C3b et C5b) qui sont impliqués dans la vasodilatation, l'augmentation de la perméabilité vasculaire, le chimiotactisme des PMNs et des monocytes, la libération de l'histamine par les mastocytes et les plaquettes, la stimulation du métabolisme de l'acide arachidonique et l'adhésion des PMNs à l'endothélium vasculaire (Weill et *al.*, 2003 ; Zeghal et Sahnoun, 2013).

I.2.2.2. Médiateurs cellulaires

a. Amines et peptides vasoactifs

Les amines vasoactives (histamine et sérotonine) sont synthétisées principalement par les mastocytes et les plaquettes. Ils jouent un rôle clé dans l'augmentation de la perméabilité vasculaire et la vasodilatation (Medzhitov, 2008). L'histamine montre aussi un effet chimiotactique sur les polynucléaires neutrophiles et les éosinophiles en induisant l'expression de molécules d'adhésion par les cellules endothéliales (Saito et *al.*, 1996).

D'un autre côté, la stimulation des fibres afférentes du nociception A δ et C, induit la libération des neuropeptides stockés dans l'extrémité axonale de ces fibres. La substance P est le principal neuropeptide qui agit sur plusieurs cellules du foyer inflammatoire, augmente la perméabilité vasculaire, stimule la production du NO et le P-sélectine par les cellules endothéliales, stimule le chimiotactisme des neutrophiles et la production de prostaglandines par les macrophages (Henrotin et *al.*, 2001).

b. Cytokines et chimiokines

Au cours du processus inflammatoire, les cellules inflammatoires secrètent une variété de cytokines et de chimiokines qui régulent plusieurs fonctions physiologiques et

pathologiques dans l'organisme telles que la régulation des réponses inflammatoires et immunitaires, l'homéostasie et l'hématopoïèse (Henrotin et *al.*, 2001).

Le TNF- α est la première cytokine libérée lors de la réaction inflammatoire (Weill et *al.*, 2003). Il est synthétisé dans le cytoplasme des macrophages, des monocytes, des cellules NK, des neutrophiles, des cellules endothéliales et des fibroblastes activés sous forme d'un précurseur membranaire possédant une activité biologique pro-inflammatoire puissante (Bradley, 2008). Ce précurseur, sous l'action d'une métalloprotéinase de la famille des adamalysines (TNF- α converting enzyme) est clivé en une protéine soluble de 157 acides aminés (TNF- α soluble) aussi actif dans le milieu extracellulaire (Black et *al.*, 1997).

Le précurseur des IL-1 β (pro-IL-1) est synthétisé dans le cytoplasme des monocytes, des macrophages et des neutrophiles. Ce pro-IL-1 est ensuite clivé par des protéases intracellulaires après une activation par un inflammasome (Gabay et *al.*, 2010) ce qui permet le relargage de la cytokine mature. Dans les neutrophiles, l'IL-1 peut également être produit sous l'action de sérine-protéases indépendamment de l'inflammasome (Cantagrel, 2017).

Une fois libérés dans l'espace extracellulaire, le TNF- α et IL-1 β se lient aux récepteurs spécifiques présents dans nombreux cellules pour exercer plusieurs effets biologiques. Les cellules cibles en effet, expriment simultanément des récepteurs spécifiques pour les deux cytokines. Ces deux cytokines sont à l'origine de la production d'un grand nombre de cytokines et des chimiokines comme l'IL-2, IL-6 et l'IL-8 (Borish et Steinke, 2003). Ils induisent le métabolisme de l'acide arachidonique et favorisent la sécrétion des enzymes protéolytiques et des radicaux libres (Borish et Steinke, 2003). Au niveau des cellules endothéliales, l'IL-1 β et le TNF- α induisent l'expression des molécules d'adhésion et des facteurs tissulaires, ce qui active la migration des cellules vers le site enflammé (Henrotin et *al.*, 2001 ; Borish et Steinke, 2003). Ils ont une action directe ou indirecte sur le système nerveux central et induisent la fièvre, la somnolence et l'anorexie. Ils induisent également la synthèse des protéines de la phase aiguë de l'inflammation par les hépatocytes (Weill et *al.*, 2003 ; Arango Duque et Descoteaux, 2014).

D'autres cytokines comme l'interféron- γ (IFN- γ) et l'IL-8 amplifient également la réponse inflammatoire. L'IFN- γ est une cytokine produite principalement par les Th1 et accessoirement par les lymphocytes T CD8 mémoires, les cellules dendritiques et les cellules NK suite à une infection virale (Baraut et *al.*, 2012). Il joue un rôle important dans la réponse immune Th1 et module négativement la réponse Th2 (Bachoual et Boczkowski,

2005). Il stimule l'activité lysosomale des macrophages et favorise l'élimination d'agents pathogènes. L'IFN- γ induit également l'augmentation de l'expression des molécules du CMH I dans les cellules normales et les cellules présentatrice de l'antigène et stimule la cytotoxicité antitumorale des cellules NK et la migration des leucocytes (Schroder et *al.*, 2004 ; Baraut et *al.*, 2012).

IL-8 est produit par les cellules endothéliales, les monocytes, les fibroblastes et les cellules les épithéliales sous l'action de l'IL-1, TNF- α , PAF ou du LPS (Weill et *al.*, 2003). C'est une cytokine majoritaire des neutrophiles qui induit la migration des PMNs, des basophiles et des lymphocytes T vers le site inflammatoire sous l'effet de l'expression des intégrines (Mathelier-Fusade et *al.*, 1990 ; Descamps-latscha et witko-sarsat, 1999). En outre, L'IL-8 induit la dégranulation des neutrophiles et augmente la perméabilité vasculaire et stimule la sécrétion du PAF et du LTB₄ (Weill et *al.*, 2003 ; Shaikh, 2011).

Au cours du processus inflammatoire, l'IL-10 anti-inflammatoire est également produite. C'est un peptide sécrété par les lymphocytes T, les lymphocytes B, les cellules dendritiques et les macrophages (Saraiva et O'Garra, 2010). Plusieurs études ont montré que cette cytokine inhibe la réponse immunitaire de plusieurs cellules présentatrice de l'antigène comme les monocytes, les macrophages et les cellules dendritiques (Schneider et *al.*, 2004). Il a été démontré que l'IL-10 inhibe la production de nombreuses cytokines pro-inflammatoires par ces cellules, notamment, l'IL-1, l'IL-6, l'IL-8, le GM-CSF et le TNF- α (Takahashi et *al.*, 2000 ; Schneider et *al.*, 2004). D'un autre côté, il a été trouvé que cette cytokine induit la synthèse des antagonistes endogènes de l'IL-1 β et de TNF- α (Cassatella et *al.*, 1994; Joyce et *al.*, 1994). En outre, il a été rapporté que l'IL-10 inhibe la production d'autres médiateurs pro-inflammatoires comme la PGE₂ et le NO (Minghetti et *al.*, 1998).

Le TGF- β 1 est une autre cytokine anti-inflammatoire qui régule la réponse immunitaire. Il est produit par les lymphocytes, les plaquettes et les monocytes/macrophages (Shaikh, 2011). Sa production par les monocytes est accrue en présence de neutrophiles apoptotiques ce qui démontre l'implication de cette cytokine dans la résolution de l'inflammation et la réparation tissulaire (Byrne et Reen, 2002). L'effet anti-inflammatoire de TGF- β 1 a été démontré chez les souris déficientes en TGF- β 1 qui meurent en trois semaines avec une inflammation tissulaire généralisée (Yaswen et *al.*, 1996). Il exerce ses effets anti-inflammatoires en inhibant la prolifération et la différenciation cellulaires ainsi que la production des cytokines pro-inflammatoires (TNF,

IFN- γ , IL-2) et des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (Goulart et *al.*, 2000 ; Cavaillon, 2011 ; Shaikh, 2011).

c. Médiateurs lipidiques

Au cours du processus inflammatoire, l'IL-1 et le TNF- α induisent la formation des médiateurs lipidiques dérivés de l'acide arachidonique comme les prostaglandines (PGE2, PGF2a, PGD2, PGI2) et des leucotriènes (LTB4, LTC4 et LTD4). Ces composés sont des agents chimiotactiques et vasodilatateurs qui contribuent directement ou indirectement à l'érythème, l'œdème, la douleur et à la fièvre (Henrotin et *al.*, 2001 ; Weill et *al.*, 2003).

Le LTB4 est produit principalement par les PMNs et les macrophages et il joue un rôle très important dans la réaction inflammatoire (Alten et *al.*, 2004). En effet, des taux élevés de ce médiateur ont été trouvés dans le sang et le liquide synovial des patients atteints de la polyarthrite rhumatoïde (Davidson et *al.*, 1983). LTB4 a un puissant pouvoir chimiotactique envers les PMNs où il induit l'expression des molécules d'adhésion, la libération des enzymes lysosomiales et la production de l'anion superoxyde (Alten et *al.*, 2004 ; Coruzzi et *al.*, 2007). Il augmente aussi la perméabilité vasculaire et stimule la libération de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages et les lymphocytes (Kanaoka et Boyce, 2004).

d. Espèces réactives de l'oxygène

Durant l'inflammation, les PMNs augmentent leur consommation en oxygène pour aboutir à la formation des ROS. Toutefois, cette formation comporte une série d'étapes en cascade qui implique initialement l'activation de la NADPH-oxydase (**Figure 4**) qui active la production de l' $O_2^{\cdot -}$ (Serteyn, 2003 ; Hurtado-Nedelec et *al.*, 2014).

L' $O_2^{\cdot -}$ a un temps de demi-vie très court, il réagit immédiatement sur lui-même ou avec d'autres radicaux pour former d'autres ROS (**Figure 5**) plus puissants comme le H_2O_2 et le OH^{\cdot} . Dans le milieu inflammatoire, d'autres réactions entre les différentes ROS et leur environnement donnent naissance à d'autres composés toxiques plus puissants et à une demi-vie plus longue (Pasquier, 1995).

Dans les phagocytes, la production de ces ROS s'effectue normalement dans le phagosome en contact direct avec les agents pathogènes ce qui permet leur dégradation. Cependant, dans certains cas les ROS peuvent être libérés dans le milieu extracellulaire et

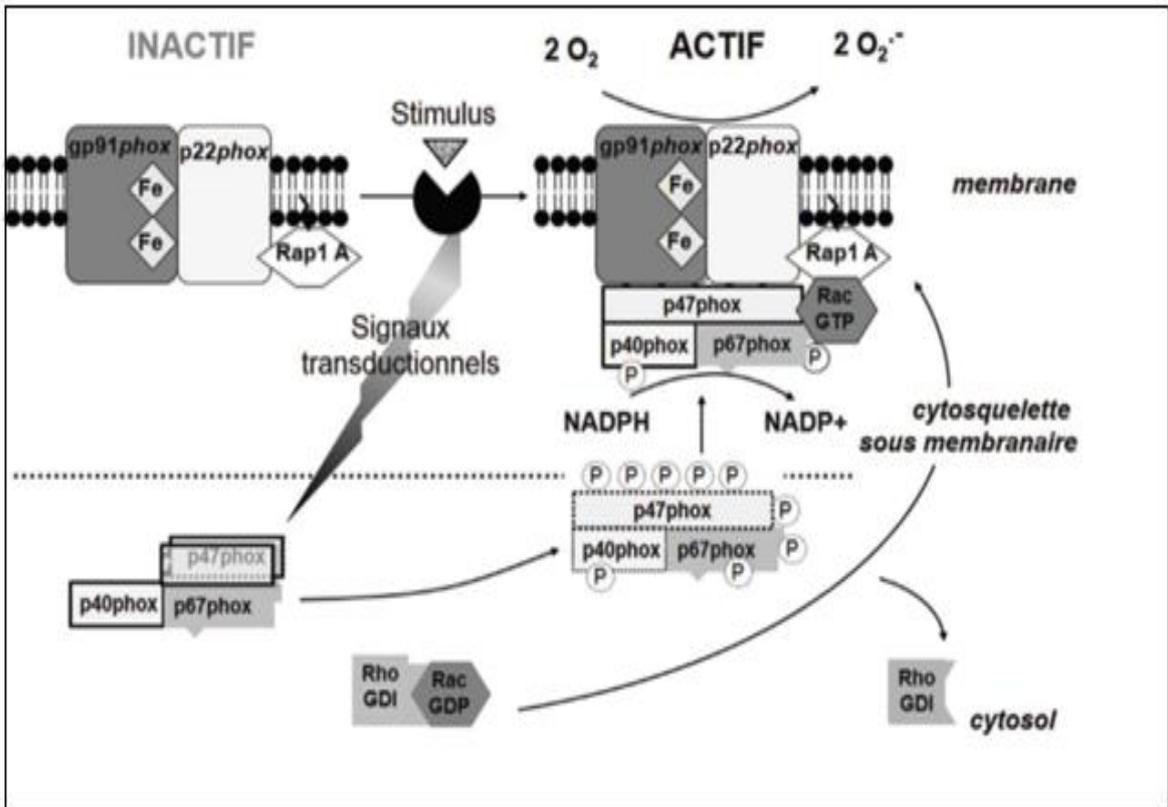


Figure 4 : Activation de la NADPH oxydase (Hurtado-Nedeleca et al., 2014).

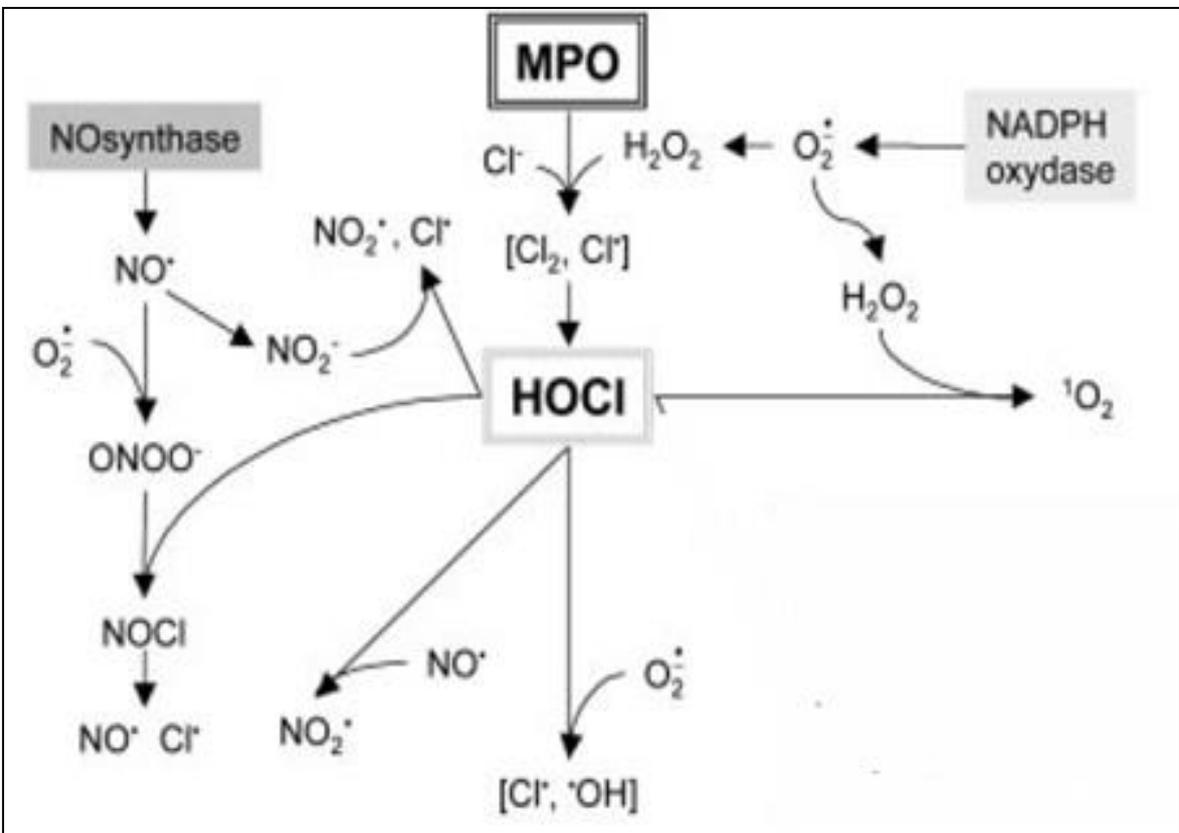


Figure 5 : Productions des espèces réactives dans les neutrophiles (Serteyn, 2003).

provoquent l'oxydation des macromolécules (lipides, protéine, ADN) ce qui conduit à l'initiation et/ou la promotion de plusieurs maladies telles que le cancer, les maladies neurodégénératives et les maladies cardiovasculaires (Serteyn et *al.*, 2003 ; Hurtado-Nedelec et *al.*, 2014 ; Sánchez et *al.*, 2015).

Au niveau du site inflammatoire, les ROS modulent plusieurs fonctions telle que la production de cytokines pro-inflammatoires et d'autres médiateurs en activant des facteurs de transcription intracellulaires ainsi que la phosphorylation de différentes tyrosines kinases (Sánchez et *al.*, 2015). Le facteur nucléaire- κ B (NF- κ B) est l'un des facteurs de transcription activé par les ROS et qui joue un rôle important dans la réponse inflammatoire. Différents signaux extracellulaires, tels que le stress oxydatif, les cytokines ou les antigènes bactériens et viraux peuvent activer la kinase de l'inhibiteur κ B (I κ B). La phosphorylation d'I κ B α par cette kinase entraîne sa dégradation. Cela a pour conséquence, l'activation de NF- κ B qui sera transloqué vers le noyau où il induit la transcription d'un grand nombre de gènes pro-inflammatoires, y compris ceux qui codent pour les cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1), les chimiokines, les molécules d'adhésion et les enzymes inflammatoires comme l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS), la COX-2 et la lipoxigénase (LOX)-5 (Morgan et Liu, 2011 ; Sánchez et *al.*, 2015).

e. Protéases

Lors d'une inflammation, l'activation leucocytaire conduit à la libération de différents types d'enzymes (élastase, collagénase, hydrolases acides) douées d'activité lytique et de protéines (défensines, cathepsine-G, azurocidine, MPO, lactoferrine) caractérisées par un puissant effet antimicrobien et bactéricide (Hurtado-Nedelec et *al.*, 2014). Ces acteurs sont indispensables pour la réponse anti-infectieuse dont le rôle principal est de détruire les agents pathogènes et d'établir l'hémostase.

La MPO est une peroxydase hémique présente en concentrations importantes (2 à 5% dans les granules primaires des PMNs. Elle se trouve également dans les monocytes mais en concentrations plus faibles, voir même indétectable après leur maturation en macrophages (Serteyn et *al.*, 2003). Cette enzyme détruit une grande variété de microorganismes, en se fixant sur leurs membranes à de nombreux sites où existent des structures polysaccharidiques, résistantes aux enzymes protéasiques et hydrolytiques (Serteyn et *al.*, 2003). Elle catalyse la transformation de H₂O₂ en présence d'ion de chlore en HOCl. Ce radical est capable de faire la chloration et la nitration en attaquant une large

gamme de molécules, comme les hèmes, les groupes aminés, les centres Fe-S, les groupes thiol, les lipides insaturés et les bases nucléiques (Saran *et al.*, 1999 ; Serteyn *et al.*, 2003).

Au cours d'une activation normale, l'activité de la MPO s'exerce dans les vacuoles intracellulaires et seules des quantités limitées de MPO sont libérées dans le milieu extracellulaire (Eiserich *et al.*, 1998 ; Serteyn *et al.*, 2003). Mais lorsque la réaction inflammatoire devient incontrôlée, la dégranulation massive et la mort des neutrophiles relâchent la MPO et les enzymes protéolytiques dans le milieu extracellulaire, faisant le lit des pathologies dégénératives et auto-immunes (Serteyn *et al.*, 2003).

I.3. Régulation de l'inflammation

La réaction inflammatoire est le plus souvent transitoire parce qu'elle est rapidement interrompue par des mécanismes de contre-régulation qui sont nécessaires à sa résolution. Elle implique la synthèse de différents types de molécules anti-inflammatoires (glucocorticoïdes, les eicosanoïdes, les cytokines et les neuropeptides) qui interrompent l'action des médiateurs pro-inflammatoires par plusieurs mécanismes.

I.3.1. Désensibilisation des cellules inflammatoires

L'interruption de la réaction inflammatoire par désensibilisation des cellules inflammatoires est la conséquence soit d'une disparition de récepteurs spécifiques des médiateurs pro-inflammatoires à la surface des cellules cibles ou d'une inactivation des voies de signalisation impliquées par ces médiateurs eux-mêmes. Au cours du processus inflammatoire, la liaison des médiateurs pro-inflammatoire comme la cytokine TNF- α ou d'autres comme les interférons à leurs récepteurs induit une cascade de signalisations qui est finie par l'activation de certains facteurs de transcription incluant le NF- κ B et le STAT (signal transducer and activator of transcription) (Baud, 2001). Dans le noyau, ces facteurs activés vont induire la transcription de multiples gènes cibles exprimés au cours de la réaction inflammatoire, avec lesquels d'autres molécules telles que l'I κ B α et le SOCS (suppressor of cytokine signalling) seront synthétisées. Dans le cytoplasme, l'accumulation progressive d'I κ B α va séquestrer le facteur NF- κ B ce qui prévient toute nouvelle activation de cette voie de signalisation. De son tour le SOCS désactive la voie STAT en empêchant leur phosphorylation (Baud, 2001).

I.3.2. Inactivation des médiateurs pro-inflammatoires

Les médiateurs pro-inflammatoires ont une demi-vie brève. Ils sont dégradés rapidement par oxydation comme le NO ou par protéolyse comme les neuropeptides et les cytokines. L'inactivation des cytokines pro-inflammatoires, en particulier IL-1, IFN et TNF- α , est aussi provoquée par leur interaction avec des récepteurs spécifiques présents dans l'environnement inflammatoire sous forme soluble (Fernandez-Botran, 1991 ; Arend et Dayer, 1995 ; Baud, 2001).

I.3.3. Arrêt de la synthèse des médiateurs pro-inflammatoires

La synthèse des médiateurs pro-inflammatoires cesse progressivement avec la disparition de l'agent pathogène. En parallèle, d'autres médiateurs anti-inflammatoires apparaissent et empêchent la synthèse de ces médiateurs pro-inflammatoires. En effet, des cytokines comme l'IL-10 et le TGF- β , sont connus par leur capacité à inhiber la synthèse de plusieurs médiateurs pro-inflammatoires tels que l'IL-6, l'IL-8, l'IL-1 et le TNF- α (Cassatella et al., 1994 ; Haeffner-Cavaillon, 1998). Par ailleurs, ces médiateurs diminuent la production de l'anion superoxyde et de monoxyde d'azote (Kuga et al., 1996 ; Haeffner-Cavaillon, 1998). De même, avec l'évolution de l'inflammation, la production de l'IL-10 induit un changement dans le métabolisme de l'acide arachidonique qui sera mobilisé vers la production de la PGD₂ et son dérivé la 15 désoxy Δ^{12-14} PGJ₂ (Ashraf et al., 1996). Ce dernier exerce des effets anti-inflammatoires en se liant avec le peroxisome proliferator activated receptor- γ (PPAR- γ), qui inactive les facteurs de transcription NF- κ B et STAT (Ricote et al., 1998). De la même manière, l'IL-4 induit l'expression de la 15-lipoxygénase et la formation de l'acide 15 hydroxyeicosatétraénoïque et les lipoxines qui participent aux mécanismes d'interruption de la réaction inflammatoire, en induisant une désactivation des PMNs et en augmentant la phagocytose des PMNs apoptotiques par les macrophages (Montero et Badr, 2000). D'un autre côté, la production des glucocorticoïdes inhibe aussi la production des cytokines pro-inflammatoires produites par les macrophages activés (Haeffner-Cavaillon, 1998).

I.4. Traitement de l'inflammation

I.4.1. Traitement classique

Le traitement classique de l'inflammation repose sur l'utilisation des molécules de synthèse qui inhibent ou bloquent le processus inflammatoire en se focalisant sur les

mécanismes moléculaires de la réaction inflammatoire. Les propriétés anti-inflammatoires de ces molécules résultent essentiellement de l'inhibition de la synthèse de nombreuses protéines pro-inflammatoires (cytokines, chimiokines, molécules d'adhésion, COX2, NO-synthase) impliqués dans l'orchestration de processus inflammatoire et que se traduit cliniquement par des effets analgésiques, antipyrétiques, anti-œdémateux, vasoconstricteur et anti-migratoire (Dussauze *et al.*, 2007 ; Tréchet et Jouzeau, 2014).

Les anti-inflammatoires synthétiques peuvent être classés principalement en trois groupes de médicaments qui sont les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS), les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les molécules de biothérapie (Bernstein *et al.*, 2017).

I.4.1.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les AIS ou les glucocorticoïdes constituent une classe thérapeutique très puissante qui inhibe toutes les étapes de la réaction inflammatoire aussi bien précoces que tardives. Ils contrôlent ainsi les différents stades de l'inflammation : la vasodilatation, l'œdème, la migration des leucocytes, le stress oxydatif et la phagocytose. Ces molécules sont des analogues structuraux d'hormones corticosurrénales (cortisone et cortisol) qui agissent essentiellement au niveau transcriptionnel après avoir été liés à des récepteurs spécifiques cytosoliques (Dejean et Richarda, 2013). Le complexe glucocorticoïdes-récepteur va jouer le rôle d'un facteur de transcription qui va induire la synthèse protéique comme c'est le cas pour la lipoportine qui inhibe la phospholipase A2 (PLA2). D'un autre côté, ce complexe par l'inhibition des facteurs de transcription NF- κ B et AP-1 (protéine activatrice-1) diminue l'expression d'un grand nombre de protéines pro-inflammatoires comme les cytokines et les chimiokines (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-8, IL-12, GM-CSF, INF γ , TNF α), les molécules d'adhésion, le COX-2 et le NO-synthase (Devillier, 2005 ; Dussauze *et al.*, 2007). Sur le plan cellulaire, les glucocorticoïdes induisent l'inhibition de la maturation des monocytes en macrophages et la diminution de leur migration au site de l'inflammation. Ils inhibent également l'activation et la migration des PMNs et la dégranulation des mastocytes et des polynucléaires éosinophiles (Dussauze *et al.*, 2007).

Malgré que les glucocorticoïdes représentent le traitement le plus efficace des maladies inflammatoires chroniques, l'administration prolongée de ces médicaments réduit la défense de l'organisme et provoque des perturbations métaboliques et endocriniennes (Henzen, 2003 ; Strehl *et al.*, 2011).

I.4.1.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les effets secondaires accompagnant l'utilisation des AIS ont conduit au développement d'une deuxième classe de molécules anti-inflammatoires dites les AINS. Cette classe constitue actuellement, la classe thérapeutique la plus utilisée dans le monde. Ce sont des médicaments symptomatiques actifs sur la fièvre, la douleur et l'œdème. Ces trois propriétés résultent de l'inhibition des COX1 et COX2. La COX1 est constitutive et exerce un rôle régulateur dans différents processus physiologiques tels que la cytoprotection gastrique, l'hémostase primaire, l'homéostasie vasculaire et l'hémodynamique rénale, tandis que la COX2 est inductible, sa synthèse est stimulée par le TNF- α et l'IL-1. L'apparition des AINS sélectifs de la COX 2 appelés Coxibs vient réduire les effets secondaires induits par les AINS, mais ce médicament a des effets néfastes notamment cardiovasculaires (Tréchet et Jouzeau, 2014).

I.4.1.3. La biothérapie

Une nouvelle génération de médicaments basée sur l'utilisation des anticorps monoclonaux ou des inhibiteurs spécifiques d'un récepteur contre une cellule ou une molécule de système immunitaire (cytokines, molécules de co-stimulation, système du complément et molécules d'adhésion) a montré une efficacité dans le traitement de certaines maladies inflammatoires (Arnaud et *al.*, 2009). Parmi ces médicaments, ceux qui visent à bloquer les cytokines dont les anti-TNF- α sont devenus actuellement comme traitements de référence de certaines maladies inflammatoires telles que la polyarthrite rhumatoïde et les maladies inflammatoires chroniques intestinales (Serrero et *al.*, 2017). D'autres classes de biothérapie (anti-IL1, anti-IL-6, anti-IL-12, anti-IL-23, anti-IL17, anti-IFN, ...etc) ont fait preuve aussi dans le traitement de telles maladies (Vincent, 2014 ; Serrero et *al.*, 2017 ; Tsai et Tsai, 2017 ; Baker et Isaacs, 2018).

Malgré que ce type de thérapie présente des résultats encourageants, l'apparition de la résistance à ce type de traitement, les variations interindividuelles ainsi que les rôles redondants de cytokines dans l'organisme viennent à limiter son efficacité. De ce fait, les ressources naturelles, plus particulièrement les plantes médicinales sont des importants traitements alternatifs à explorer afin de découvrir des médicaments efficaces à moindre effets secondaires.

I.4.2. Traitement alternatif

Les plantes médicinales sont largement utilisées traditionnellement à travers le monde pour traiter ou se soulager de nombreuses maladies inflammatoires. Les propriétés anti-inflammatoires de ces plantes sont dues principalement à leur richesse en métabolites secondaires comme les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes, les stérols, les caroténoïdes, les vitamines (A, E et C), les huiles essentielles et les polysaccharides (Setty et sigal, 2005 ; Iwalewa et *al.*, 2007).

Les polyphénols regroupent plus de 8000 molécules qui ont la même structure de base caractérisée par la présence d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones (**Figure 6**) qui porte un nombre variable de fonctions hydroxyles (Bravo, 1998 ; Ganesan et Xu, 2017). Ces molécules qui impliquent plusieurs classes (acides phénolique, flavonoïdes, anthocyanes, tanins et stilbènes) ont montré un grand intérêt dans la santé humaine, tout en diminuant le risque de certaines pathologies comme les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires, le cancer, les maladies neurodégénératives et les infections microbiennes et virales (Hennebelle et *al.*, 2004 ; Bernstein et *al.*, 2017 ; Olivares-Vicente et *al.*, 2018).

L'activité anti-inflammatoire des polyphénols et des flavonoïdes est due principalement à la régulation de l'activité de certaines cellules inflammatoires comme les phagocytes (mastocytes/macrophages et neutrophiles) et les lymphocytes (Neyestani, 2010). Les flavonoïdes sont également des inhibiteurs des enzymes de la transduction du signal et d'activation cellulaires comme les tyrosines et les sérines-thréonine kinases ou les enzymes de l'inflammation telle que la PLA2, les COX et LOX (Middleton et *al.*, 2000 ; Cho et *al.*, 2003 ; Iwalewa et *al.*, 2007). Les flavonoïdes inhibent les facteurs de transcription, en particulier le facteur NF- κ B qui induit l'expression de plusieurs gènes inflammatoires (Iwalewa et *al.*, 2007).

En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables de réduire les dommages tissulaires causés par les ROS et de limiter les conséquences de différentes maladies inflammatoires. L'activité anti-oxydante des flavonoïdes est due principalement à leurs capacités de piéger les radicaux libres, de chélater les métaux et/ou de neutraliser l'oxygène singlet (Shahidi et Ambigaipalan, 2015). Ces molécules sont aussi capables de stimuler la production des molécules antioxydantes endogènes en activant la voie de Nrf-2/HO-1 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2/ Heme oxygenase-1) (Shi et *al.*, 2013). On outre, Il a été prouvé que ces composés phénoliques ont un effet inhibiteur puissant sur

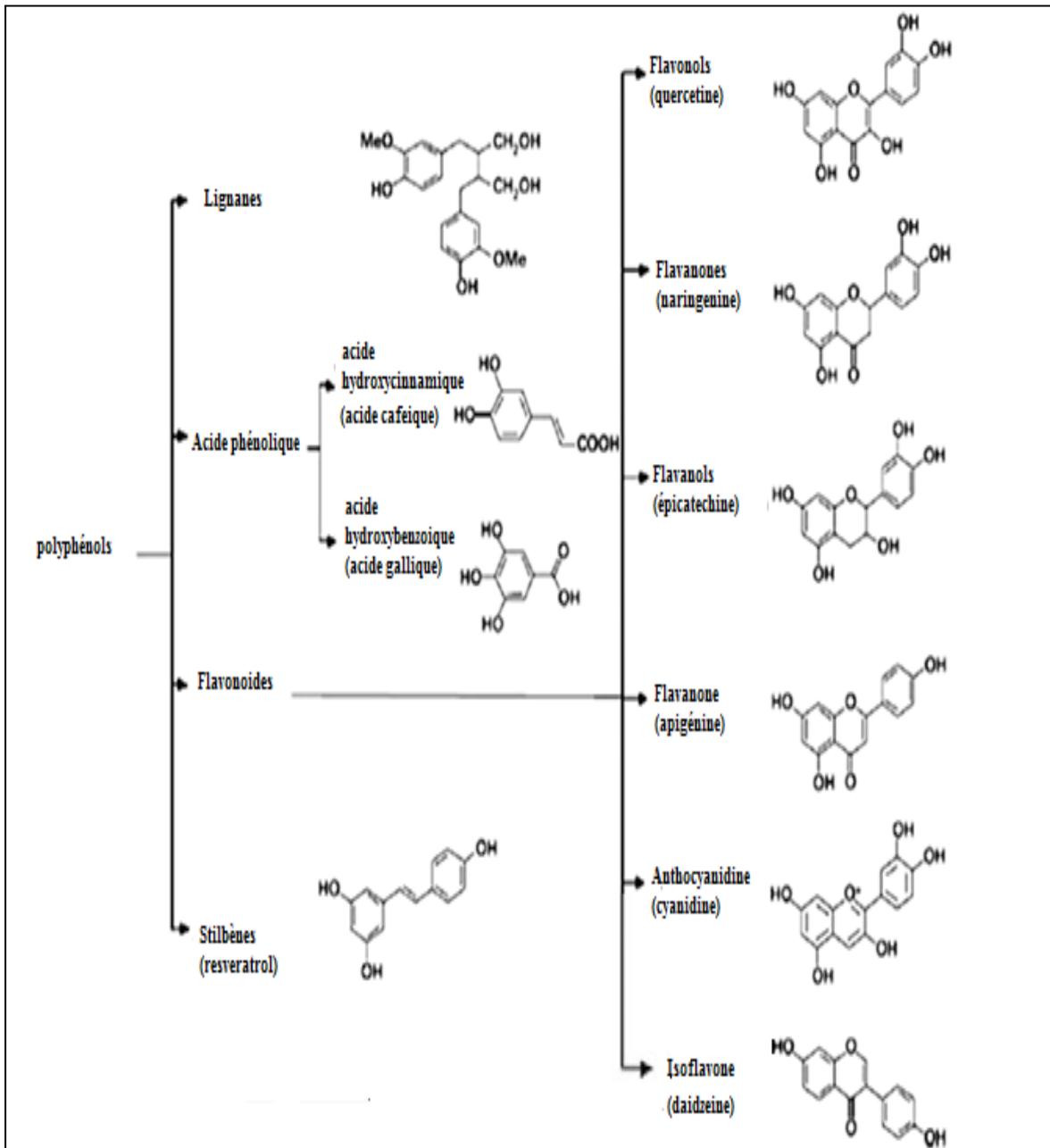


Figure 6 : Principales classes des polyphénols (Tangney et Rasmussen, 2013).

la myéloperoxydase, la NADH Oxydase, la xanthine oxydase et la iNOS (Middleton et *al.*, 2000).

Les acides phénoliques, les anthocyanes et les tanins interviennent dans l'atténuation de l'inflammation en inhibant l'activité de certaines enzymes inflammatoires et en bloquant la production de certains médiateurs de l'inflammation comme le NO et les cytokines pro-inflammatoire (Derbel et Ghedira, 2005 ; Búfalo et *al.*, 2013 ; Zhang et *al.*, 2014). Le resvératrol, composant majeur de la famille des stilbènes, a montré aussi des propriétés anti-inflammatoires en inhibant l'activité et l'expression de COX 1 et COX 2

(Annabi et *al.*, 2012) et en réduisant la production de plusieurs cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α , l'IL-1 et l'IL-6 (Jeon et *al.*, 2012 ; Wang et *al.*, 2013).

A côté des polyphénols, d'autres métabolites secondaires comme les terpènes, les alcaloïdes, les stérols et les huiles essentielles montrent des propriétés anti-inflammatoires (Ocaña -Fuentes et *al.*, 2010 ; Bernstein et *al.*, 2017). En général, ces propriétés sont dues à leur action sur plusieurs niveaux de la réaction inflammatoire, en inhibant le métabolisme de l'acide arachidonique, les voies de la transduction du signal impliqués dans l'activation des cellules inflammatoires, la synthèse des cytokines pro-inflammatoires, l'expression des molécules d'adhésion, l'activation de NF- κ B et la génération des ROS (Iwalewa et *al.*, 2007 ; Tangney et Rasmussen, 2013).

II. La plante *Capparis spinosa* L.

II.1. Aspect botanique

Capparis spinosa L. (*C. spinosa*), est une plante aromatique appartenant à la famille des Capparidacées (Capparidaceae) et au genre de *Capparis* qui renferme près de 250 espèces différentes (Fici et *al.*, 2001). Cette plante est largement répandue dans les pays du bassin méditerranéen où elle est communément connue sous plusieurs noms ; le câprier en français, caper en anglais et Kabbar en arabe (Chedraoui et *al.*, 2017).

C. spinosa est un petit arbuste vivace, pousse spontanément sur les terrains incultes et arides, sur les pentes rocheuses, au bord des chemins et des champs et peut atteindre jusqu'à 1 m de haut. Ses tiges sont flexueuses et épineuses portent des feuilles alternes, pétiolées, ovales-arrondies, lisses, vertes, et souvent un peu rougeâtre, avec des épines à la base (**Figure 7**). Les fleurs sont axillaires, solitaires, composées de quatre grands sépales verts et de quatre pétales blancs veinés de rose et de nombreuses étamines très longues et d'un très long pistil qui sort de la fleur. Le fruit est ovoïde oblong, peut atteindre 3 cm de long. Les graines sont noires, lisses, réniformes de 2-3 mm de longueur. Le nombre de graines est de 15 graines pour les petits fruits et 400 graines pour les gros fruits. Les racines sont charnues très développées et profondes (Inocencio et *al.*, 2006 ; Sher et Alyemeni, 2010 ; Al-Soqeer, 2011 ; Fici, 2014).

II.2. Usage traditionnel

C. spinosa est connue par ses propriétés culinaires et médicinales. Elle a une grande importance économique dans plusieurs pays où elle est cultivée pour ses boutons floraux

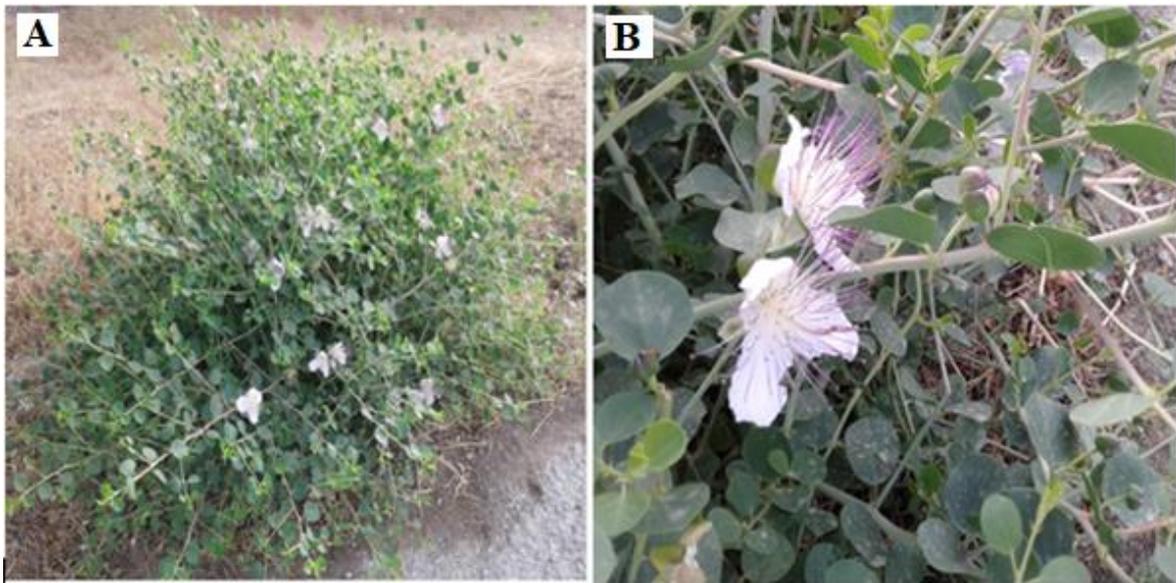


Figure 7: Photographies de *Capparis spinosa* (A) : Aspect général de la plante. (B) : Feuilles, fleurs, et câpres.

(câpres) utilisés spécialement dans la cuisine méditerranéenne comme épice, apéritive ou comme complément à la viande, aux salades et aux pâtes (Inocencio et *al.*, 2006 ; Tlili et *al.*, 2011). De même, les câpres sont devenues un ingrédient très utilisé dans la cuisine mondiale vu ses propriétés apéritives et digestives, ainsi que leur valeur nutritive très importante (Chedraoui et *al.*, 2017).

L'introduction de *C. spinosa* dans la médecine traditionnelle revient aux anciens romains et grecs ayant utilisé les différentes parties de cette plante contre la douleur, les convulsions et la paralysie. Dans la médecine traditionnelle arabe, les racines, les câpres, les feuilles et les graines sont utilisées pour traiter certaines maladies du foie, des reins, de l'estomac, de la rate, de la gencive, des oreilles et de la peau (Tlili et *al.*, 2011). En chine, les racines, les tiges feuillues et les fruits sont utilisés contre la polyarthrite rhumatoïde et la goutte (Feng et *al.*, 2011). Les iraniens, utilisent les racines, les fruits et l'écorce de *C. spinosa* comme diurétiques et fortifiants contre la malaria et les maladies articulaires (Afsharypuor et *al.*, 1998 ; Chedraoui et *al.*,2017). De même, au Pakistan, les feuilles de cette plante sont connues comme diurétiques, analgésiques, anti-hémorroïdes, antirhumatismales et laxatifs (Chedraoui et *al.*, 2017). En Inde, les racines et leurs écorces sont utilisées contre la fièvre, le rhumatisme, la paralysie, la toux, l'asthme et l'inflammation (Chedraoui et *al.*,2017). L'application externe des bourgeons floraux de la plante sur l'œil traite les infections et empêche les cataractes (Jouad et *al.*, 2001; Eddouks et *al.*, 2002).

En outre, les infusions préparées par les bourgeons et les feuilles de *C. spinosa* révèlent d'être un remède populaire contre les rhumes, les infections gastro-intestinales, les diarrhées et les lithiases (Sher et Alyemeni, 2010). Les fleurs de cette plante sont aussi utilisées pour le traitement de l'arthrite et de la goutte, ainsi que pour ses propriétés diurétiques, hypotensives et tonic. Ces dernières décennies, quelques produits cosmétiques à base des extraits de *C. spinosa* sont commercialisés et il sont revendiqués pour la protection de la peau, grâce à leurs propriétés anti-inflammatoire et antiviellissement (Chedraoui et al., 2017).

II.3. Composition chimique

L'espèce *C. spinosa* a fait l'objet de plusieurs investigations chimiques, enregistrant la présence de nombreux types de métabolites secondaires tels que les polyphénols, les alcaloïdes, les glucosinolates, les huiles essentiels, les lipides, les glucides, les protéines et plusieurs composés minéraux (Anwar et al., 2016).

Des composés phénoliques identifiés dans la plante *C. spinosa*, les acides phénoliques comme l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique, l'acide cinnamique, et les flavonoïdes comme la quercétine, le kaempférol et leurs dérivés glycosylés sont les plus importants (Tlili et al., 2011 ; Anwar et al., 2016 ; Chedraoui et al., 2017) .

C. spinosa est une source importante de différentes classes d'alcaloïdes qui sont généralement concentrés dans les racines et les fruits (Fu et al., 2008). La stachydrine représente 87.43% des alcaloïdes totaux des racines de la plante. Trois autres alcaloïdes spermidines (la capparispine, la capparispine 26-O- β -D-glucoside et la cadabicine 26-O- β -D-glucoside hydrochloride) ont été identifiés également dans ces parties de la plante (Fu et al., 2008). Dans les fruits mûrs de *C. spinosa* plusieurs types d'alcaloïdes ont été détectés tels que le 1H-indole-3-acetonitrile 4-O- β -glucopyranoside, le 1H-indole-3-acetonitrile 4-O- β -(6-O- β -glucopyranosyl)-glucopyranoside, la capparisine A, la capparisine B, la capparisine C, la cappariloside A, la stachydrine, la capparine A, la capparine B, le 1H-indole-3-carboxaldehyde et le 4-hydroxy-1H-indole-3-carboxaldehyde (Calis et al., 1999 ; Yang et al., 2010 ; Zhou et al., 2010).

Romeo et ses collaborateurs (2007) ont pu identifier à partir de *C. spinosa* 145 composés volatiles dont les plus abondants sont des aldéhydes (22.2%) et des cétones (21%). L'huile des feuilles et des bourgeons floraux de la plante contient l'isothiocyanate

(92.06%), le sec-butyl isothiocyanate (0.25%), l'isothiocyanate butylate (0.38%), le benzèneacétaldéhyde (0.23%), le phénylacétonitrile (0.4%), le E- β -ionone (0.5%), le méthyl méthylsalisylate (0.17%), l'isothiocyanate de benzyle (0.74%) et le 3-hexenyl benzoate (0.27%) (Kulisic-bilusic et *al.*, 2010). Cependant, l'huile des fruits mûrs et des racines est prédominée par la présence d'isothiocyanate de méthyle, d'isothiocyanate d'isopropyle et de sec-butyl isothiocyanate (Afsharypuor et *al.*, 1998).

Les lipides sont aussi présents dans la plante *C. spinosa* avec des teneurs élevées. Ces molécules concentrées principalement dans les graines de la plante contiennent des acides gras (acide palmitique, palmétoleïque, stéarique, oléique, linoléique et vaccinique), des tocophérols (γ -tocophérol, δ -tocophérol, α -tocophérol), des stérols (β -sitostérols, campestérols et stigmastérol, 5-avenastérol) et les caroténoïdes (β -carotène) (Matthaus et Ozcan, 2005 ; Tlili et *al.*, 2009 ; Tlili et *al.*, 2010a).

Les glucosinolates sont largement répons dans les plantes de la famille des Capparidacées (Rodman et *al.*, 1996). Dans les tiges et les bourgeons floraux de *C. spinosa*, le constituant majeur est le glucocapperine (Matthaus et Ozcan, 2002). D'autres glucosinolates comme la sinigrine, la glucoibérine et le 2-Hydroxy-2-methylbutyl glucosinolate ont été également isolés à partir des graines et des feuilles de *C. spinosa* (Satyanarayana et *al.*, 2008).

Des protéines, des mono- et des polysaccharide, de la vitamine C, des fibres et des composés minéraux tels que le sodium, le potassium et le phosphore et ont été détectées dans la plante (Tesoriere et *al.*, 2007 ; Satyanarayana et *al.*, 2008).

II.4. Activités biologiques

La plante *C. spinosa* a montré de nombreuses activités biologiques importantes dans divers modèles *in vitro* et *in vivo*. Plusieurs études ont rapporté l'activité anti-hyperglycémiant et anti-obésité des extraits de *C. spinosa* (Lemhadri et *al.*, 2007 ; Rahmani et *al.*, 2013). En effet, le traitement des rats par les extraits des fruits de la plante diminue le taux plasmatique du glucose, des triglycérides et du cholestérol (Huseini et *al.*, 2013).

Aghel et ses collaborateurs (2010) ont montré que l'extrait éthanolique des écorces des racines de *C. spinosa* est doté d'une activité hépatoprotectrice. Gadgoli et Mishra (1999) ont montré que l'acide p-méthyl benzoïque isolé de la fraction méthanolique et aqueux de la partie aérienne de cette plante possède une activité anti-hépatotoxique

significative. De même, une mixture de l'extrait des feuilles de *C. spinosa* et du miel a montré un effet synergique contre la toxicité hépatique induite par l'acide trichloracétique chez les souris (Alzergy et al., 2015). Récemment, Tlili et ses collaborateurs (2017) ont rapporté que l'extrait méthanolique des feuilles de cette plante prévient significativement les dommages tissulaires du foie et des reins causés par le cisplatine utilisé dans le traitement des cancers.

L'activité anti-inflammatoire des extraits de *C. spinosa* a été démontrée par plusieurs études (Ageel et al., 1986 ; Al-said et al., 1988 ; Zhou et al., 2010). Les extraits de la racine de la plante ont montré également une activité analgésique chez les rats souffrants de la polyarthrite et d'ostéoarthrites (Maresca et al., 2016). Feng et ses collaborateurs (2011) ont montré que l'extrait hydro-éthanolique des fruits de *C. spinosa* exhibe un effet antiarthritique significatif. Cet effet confirme les travaux de Panico et ses collaborateurs (2005) qui ont montré que l'extrait méthanolique des bourgeons floraux protège les chondrocytes via l'inhibition de la production des prostaglandines, de NO et des ROS qui provoquent la biodégradation du cartilage.

Un effet anticancéreux est également attribué à cette plante, du fait que l'extrait aqueux de ses bourgeons floraux ainsi que leurs huiles essentielles inhibent la prolifération de plusieurs lignées de cellules cancéreuses (Lam et Ng, 2009 ; Lam et al., 2009 ; Kulisic-Bilusic et al., 2012 ; Yu et al., 2017).

D'autre part, il a été prouvé que les extraits de *C. spinosa* réduisent significativement la pression systolique des rats hypertendus via ses propriétés diurétiques (Ali et al., 2007). D'autres activités antifongique contre le *Valsa mali* et antivirale contre le virus de l'immunodéficience humaine sont attribuées à la protéine 38 kDa isolée à partir des fruits de *C. spinosa* (Lam et Ng, 2009).

En outre, il a été rapporté que les extraits de *C. spinosa* exhibent un effet neuroprotecteur contre la démence, les troubles cognitifs et la mémoire induits chez le rat par l'administration chronique du LPS (Goel et al., 2016).

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

La plante *Capparis spinosa* a été récoltée en juin 2012 de la région d'Ouled N'ceur, au Sud-Est de Bejaia. L'identification de la plante a été faite par Pr. Laouar Houcine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Sétif 1. La partie aérienne de la plante a été nettoyée, séchée à température ambiante et à l'ombre. Les bourgeons floraux et les feuilles sont séparés et stockés à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation.

I.2. Animaux

L'étude *in vivo* a été réalisée sur des souris *Swiss albinos*, mâles et femelles pesant 25-30 g et des rats *Albinos Wistar* pesant 150-200 g, procurés auprès de l'institut Pasteur d'Alger. Les animaux repartis en groupes sont hébergés dans des cages en polypropylène à température ambiante et à cycle naturel de la lumière, avec accès libre à l'eau et à l'alimentation. L'aliment est fourni par l'Office National des Aliments de Bétails (ONAB) d'El-Kssar-Bejaia. Après une semaine d'adaptation, les animaux sont pesés, marqués et soumis à jeun pendant une nuit avant leur utilisation.

I.3. Sang humain et bovin

Le sang humain est obtenu fraîchement par prélèvement veineux au pli du coude des volontaires sains, non fumeurs ayant certifié n'être sous aucune médication de toutes sorte au moins durant les derniers 15 jours qui ont précédé le prélèvement. Le sang bovin est procuré par prélèvement à partir d'animaux dans l'abattoir de la ville de Sétif.

II. Méthodes

II.1. Extraction

II.1.1. Préparation des extraits méthanoliques

L'extrait méthanolique (E.Met) des feuilles et bourgeons floraux de *C. spinosa* a été préparé selon la méthode décrite par Steenkamp et ses collaborateurs (2004). Pour cela, 100 g du matériel végétal sont macérés dans 1000 ml de méthanol 80% (méthanol/eau, V/V) à température ambiante pendant 24 h sous agitation. Après filtration, le filtrat est soumis à une évaporation sous pression réduite à 40°C dans un rotavapor (Büchi). Le

résidu obtenu est séché puis pesé pour calculer le rendement de l'extraction. Les extraits méthanoliques des feuilles et des bourgeons floraux de *C. spinosa* sont conservés à -32°C jusqu'à leur utilisation.

II.1.2. Préparation des extraits aqueux

Les extraits aqueux (E.Aq) des deux parties de la plante ont été préparés par la décoction de 100 g de matériel végétal dans 1000 ml d'eau distillée pendant 20 min. Après centrifugation à 3000 rpm pendant 10 min, le surnageant est filtré puis séché pour calculer le rendement de l'extraction. Les extraits sont conservés à -32°C jusqu'à leur utilisation.

II.2. Analyse phytochimique

II.2.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés polyphénoliques des extraits des feuilles et des bourgeons floraux de *C. spinosa* est déterminée selon méthode de Li et ses collaborateurs (2007). Cette méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique (WO_4^{2-}) phosphomolybdique (MoO_4^{2-}) de réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon. Pratiquement, pour un volume de 0.1 ml de la solution d'extrait, 0.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10%) sont ajoutés. Après 4 min, 0.4 ml de la solution de carbonate de sodium (7.5%) sont additionnés. Après agitation, le mélange est incubé à température ambiante et à l'obscurité pendant 90 min. L'acide gallique (0-200 µg/ml) est le standard utilisé pour établir la droite d'étalonnage (**Figure 8**) à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux de l'extrait est calculée. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

II.2.2. Dosage des flavonoïdes

Le taux des flavonoïdes dans les deux extraits des feuilles et des bourgeons floraux de *C. spinosa* est estimé par la méthode de trichlorure d'aluminium (Bahorun et al., 1996). Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres après chélation des métaux (Fe^{+2} , Al^{+3}). Ces métaux perdent ensuite deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la

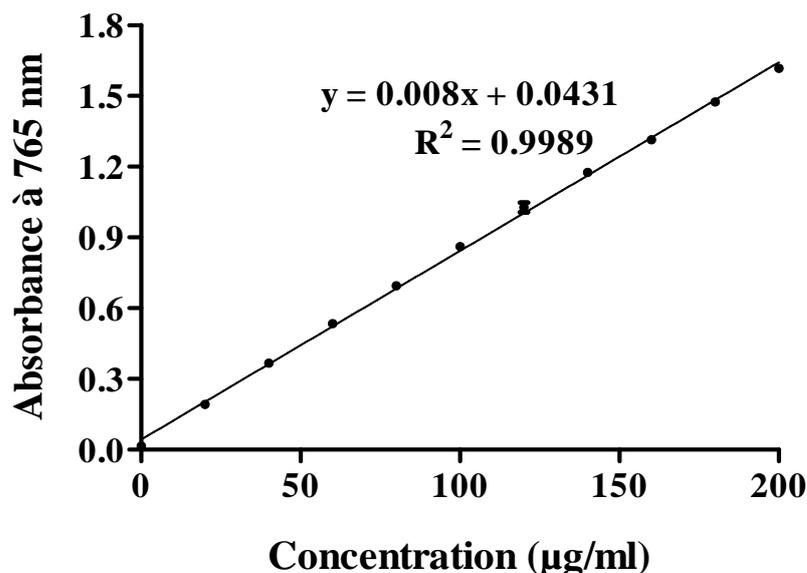


Figure 8 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique. Les valeurs représentent la moyenne \pm SD ($n = 3$).

molécule phénolique. La couleur jaune produite possède une absorbance maximale à 430 nm, l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait. Brièvement, 1 ml de la solution d'extrait est ajouté à 1ml de la solution d' AlCl_3 (2%). Après 10 min d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est lue à 430 nm. La quercétine (0-22 $\mu\text{g/ml}$) est le standard utilisé pour établir la droite d'étalonnage (**Figure 9**) à partir de laquelle la concentration des flavonoïdes totaux des extraits est calculée. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait).

II.2.3. Dosage des tanins

La teneur des extraits en tanins est déterminée par le test de précipitation de l'hémoglobine (Bate-Smith et al., 1973). Brièvement, un volume de sang hémolysé est ajouté à un volume équivalent de la solution d'extrait. Le mélange est laissé réagir pendant 20 min à température ambiante puis soumis à une centrifugation 4000 rpm pendant 10 min à 4°C. La lecture du surnageant est faite à 576 nm. L'acide tannique (0-600 $\mu\text{g/ml}$) est le standard utilisé pour établir la droite d'étalonnage (**Figure 10**) à partir de laquelle la concentration des tanins totaux des extraits est calculée. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents d'acide tannique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait).

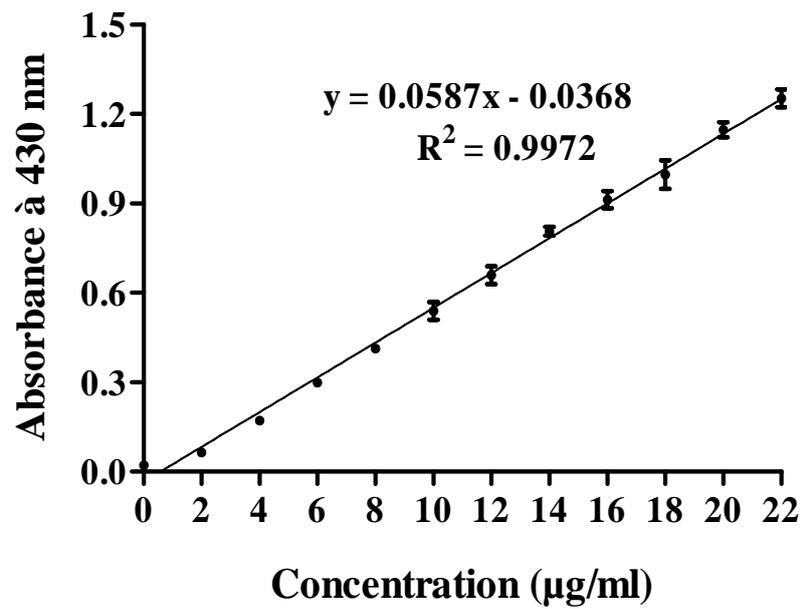


Figure 9 : Droite d'étalonnage de la quercétine. Les valeurs représentent la moyenne \pm SD ($n = 3$).

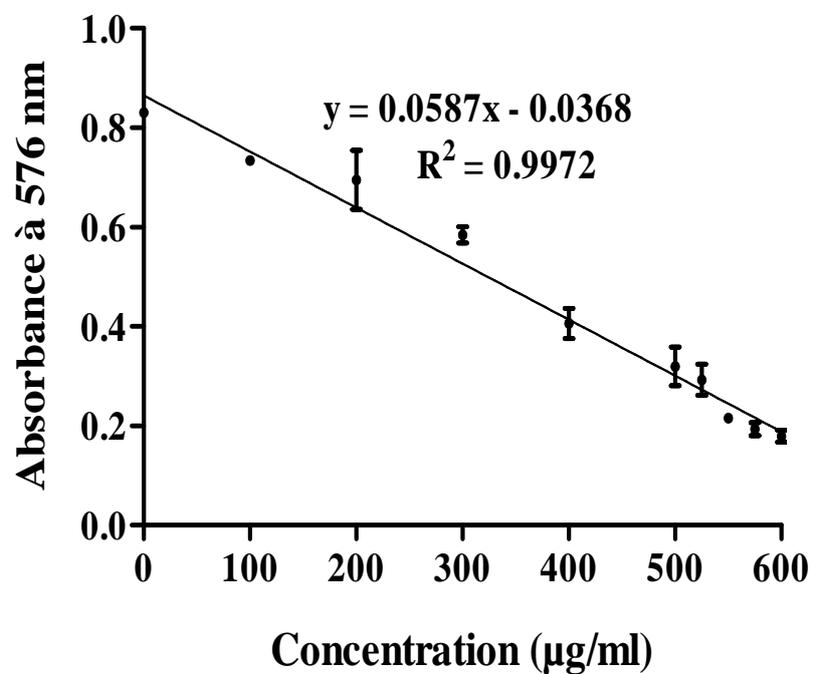


Figure 10 : Droite d'étalonnage de l'acide tannique. Les valeurs représentent la moyenne \pm SD ($n = 3$).

II.2.4. Analyse par HPLC/TOF-MS

L'analyse qualitative et quantitative des composés phénoliques dans les extraits des feuilles et des bourgeons floraux de *C. spinosa* est effectuée par chromatographie liquide sur colonne à haute performance couplée à la spectrométrie de masse (HPLC/TOF-MS) selon la méthode décrite par Demirtaş et ses collaborateurs (2013). Un chromatographe Agilent Technology 1260 couplé à la spectrométrie à temps de vol 6210 avec une colonne de type ZORBAX SB-C18 (4.6 x 100 mm, 3.5 µm) ont été utilisés. Premièrement, les solutions des extraits (200 ppm) préparées dans le méthanol, sont filtrés à travers une membrane de téflon (Polytétrafluoroéthène PTFE ; 0.45 µm) à l'aide d'un injecteur afin d'éliminer les particules. Ensuite 10 µl de chaque solution d'extrait ou de standard sont injectés et laissés élués à travers la colonne par une phase mobile avec un débit de 0.6 ml/min à 35°C. Deux phases mobiles ont été utilisées ; la première (A) est composée de l'acide formique 0.1% préparé dans l'eau bidistillée et la deuxième (B) est composée de l'acetonitrile. L'élution est effectuée en mode gradient comme suit : 0-1 min 10% B ; 1-20 min 50% B; 20-23 min 80% B; 23-25 min 10% B; 25-30 min 10% B. Le gaz vecteur utilisé est l'azote à une température de 325°C et un débit de 10.0 L min⁻¹, un nébuliseur de 40 psis, un voltage capillaire de 4000V et un voltage de fragmentation de 175V. La détection a été effectuée par un détecteur UV-Vis à une longueur d'onde égale 254 nm.

II.3. Activité anti-inflammatoire des extraits de *Capparis spinosa*

II.3.1. Activité anti-inflammatoire *in vivo*

II.3.1.1. Œdème de l'oreille induit par huile de croton chez la souris

L'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris est réalisé selon la méthode de Manga et ses collaborateurs (2004). L'application local sur la surface de la face interne de l'oreille 15 µl d'une solution acétone-eau (1V:1V) contenant 80 µg d'huile de croton, provoque une inflammation traduite par une augmentation de l'épaisseur de l'oreille. Pour évaluer l'activité anti-œdémateuse des extraits des feuilles ou des bourgeons floraux de *C. spinosa*, les souris reçoivent localement sur la surface de la face interne de l'oreille simultanément avec l'agent irritant, 2 mg/oreille de chaque extrait ou 0.5 mg/oreille de l'agent anti-inflammatoire de référence (indométacine), tandis que les souris du groupe témoin reçoivent uniquement la solution de l'huile du croton. L'épaisseur de l'oreille est mesurée à l'aide d'un pied à coulisse digitale avant et après 6 h du traitement.

La différence d'épaisseur entre les deux mesures est considérée comme le volume de l'œdème induit par l'agent irritant. Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition selon la formule suivante :

$$(\%) \text{ inhibition} = \left(\frac{\Delta \text{ Témoin} - \Delta \text{ Traité}}{\Delta \text{ Témoin}} \right) \times 100$$

Δ Témoin: différence d'épaisseur pour le groupe témoin.

Δ Traité: différence d'épaisseur pour le groupe traité.

II.3.1.2. Œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat

L'œdème de la patte induit chez le rat par l'injection du λ -carragénine est réalisé selon la méthode de Winter et ses collaborateurs (1962). Selon cette méthode, l'œdème causé par cet agent phlogogène est traduit en volume qui est mesuré par un pléthysmomètre (UGO BASIL 7140). Pour réaliser ce test, quatre lots de six rats pour chacun ont été constitués. Une heure avant l'injection de 0.1 ml de la carragénine 1% sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite de chaque rat, les rats sont traités oralement par 200 ou 400 mg/kg de l'E.Aq ou de l'E.Met des feuilles et des bourgeons floraux de *C. spinosa*. L'aspirine (100 mg/kg) est utilisée comme anti-inflammatoire de référence. Les rats du groupe témoin ont reçu uniquement le NaCl 0.9%. Le volume des pattes enflammées a été mesuré avant l'administration de la carragénine et 30 min après le traitement, puis chaque heure jusqu'à 6 heures. Le pourcentage de l'inhibition de l'œdème est défini par rapport au groupe témoin selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \left(\frac{\Delta \text{ Témoin} - \Delta \text{ Traité}}{\Delta \text{ Témoin}} \right) \times 100$$

Δ Témoin : différence d'épaisseur pour le groupe témoin.

Δ Traité : différence d'épaisseur pour le groupe traité.

II.3.1.3. La poche d'air

L'induction de la poche d'air est réalisée par l'injection de 3 ml d'air stérile sur la face dorsale des souris anesthésiées. Pour maintenir la forme de la poche, 1.5 ml de l'air stérile ont été réinjectés dans la poche lors du 3^{ème} et le 6^{ème} jour de l'expérience (Liz et al., 2002). Lors de la 7^{ème} journée, les souris reçoivent directement dans la poche 1 ml de NaCl stérile (0.9%) contenant 1 mg d'extrait méthanolique ou aqueux des feuilles ou des bourgeons floraux de *C. spinosa* ou de 0.1 mg/poche d'indométacine. Les souris du groupe témoin reçoivent 1 ml du NaCl stérile seulement. Une heure après, tous les groupes

reçoivent 0.1 ml du λ -carragénine 1%. Après 4 h du traitement, les souris sacrifiées par dislocation cervicale sont fixées sur une table chirurgicale afin d'ouvrir la poche par une incision de la peau. L'exsudat a été récupéré après rinçage de la cavité de la poche par 1 ml de NaCl stérile. Afin de déterminer le nombre de leucocytes ayant migrés dans la poche d'air, une dilution 1/10 de l'exsudat a été réalisée par une solution Turk. Le comptage des leucocytes est effectué à l'aide d'une cellule Thoma avec un objectif X40. Le pourcentage d'inhibition de la migration de leucocytes est calculé par rapport au groupe témoin considéré comme 100% selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \left(\frac{N_t - N_e}{N_t} \right) \times 100$$

N_t : nombre des leucocytes migrés du groupe témoin.

N_e : nombre des leucocytes migrés du groupe traité.

II.3.1.4. Evaluation de l'effet analgésique

L'effet analgésique des extraits de *C. spinosa* a été évalué par le test de torsion induit chez les souris par l'injection intra-péritonéale de l'acide acétique (Koster et al., 1959). Pratiquement, des lots de cinq souris ont été constitués. Les souris des groupes traités ont été gavés par 100 mg/kg de l'aspirine, 200 ou 400 mg/kg des extraits méthanoliques ou aqueux des feuilles ou des bourgeons floraux de *C. spinosa*. Les souris du groupe témoin ont reçu du NaCl 0.9% stérile. Une heure après, les souris ont reçu par voie intra-péritonéale 10 ml/kg de l'acide acétique 0.6%. Le nombre de contorsions est compté chez chaque souris durant 30 min. Les résultats sont exprimés par le pourcentage d'inhibition selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \left(\frac{W_t - W_e}{W_t} \right) \times 100$$

W_c : moyenne du nombre de contorsions des souris du groupe témoin.

W_t : moyenne du nombre de contorsion des souris du groupe traité.

II.3.2. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

II.3.2.1. Préparation de cellules

a. Isolement des leucocytes mononucléaires

L'isolement des leucocytes mononucléaires du sang périphérique humain (PBMCs) a été effectué selon la méthode décrite par Amro et ses collaborateurs (2013). Brièvement, le sang héparinisé et diluée (1/1, V/V) par le milieu de culture RPMI 1640 (Roswell park

memorial institute medium) est déposé délicatement dans des tubes coniques de 50 ml contenant le même volume de ficoll. Après centrifugation à 1250 rpm pendant 20 min à 22°C, la couche translucide entre le plasma et le ficoll est récupérée soigneusement à l'aide d'une pipette pasteur stérile dans des tubes stériles de 15 ml. Afin d'éliminer toutes les cellules contaminantes, des séries de lavage par le RPMI et de centrifugation à 1480 rpm pendant 5 min et à 22°C sont effectuées jusqu'à l'obtention d'un culot blanc. Après la dernière centrifugation, les PBMCs suspendus dans le RPMI sont comptés puis recentrifugés et conservés dans 1 ml de milieu de congélation qui constitué de 9 ml de sérum bovin foétale et 1 ml de diméthyle sulfoxyde (DMSO) à -80°C.

b. Isolement des neutrophiles

Les PMNs sont isolés selon la méthode décrite par Bouriche et ses collaborateurs (2009). A partir du sang hépariné, le plasma récupéré après une sédimentation accélérée des hématies par le dextran (10%) est centrifugé sur un gradient de Ficoll-Histopaque®. Afin d'éliminer toutes traces d'hématies contaminantes, le culot contenant les PMNs est soumis à une hémolyse hypotonique (deux ou trois fois). Après la dernière centrifugation, les PMNs suspendus dans le Hanks Balanced Salt Solution sans Ca²⁺ et Mg²⁺ (HBSS₁) ou le RPMI sont comptés et conservés à 4°C. Lors de son utilisation la suspension cellulaire est recentrifugée à 1000 rpm pendant 10 min à 4°C et suspendue dans le Hanks Balanced Salt Solution avec Ca²⁺ et Mg²⁺ (HBSS₂) ou dans le milieu de culture complet (RPMI-1640 supplémenté avec 10% de sérum de veau foetal, 100 U/ml de pénicilline et 100 mg/ml de streptomycine) à une concentration adéquate. La viabilité cellulaire vérifiée par le test d'exclusion au bleu de Trypan est supérieure à 95% dont plus de 95% sont des PMNs.

c. Comptage des cellules

Le nombre de cellules obtenues à la fin de chaque isolement est déterminé par la méthode de bleu de Trypan qui permet de distinguer entre les cellules vivantes incolores et les cellules mortes qui apparaissent totalement bleues. Pratiquement, une dilution de la suspension cellulaire par la solution du bleu de Trypan (0.4%) (1 : 1) est préparée, puis les cellules sont comptées sous un objectif X40. La concentration cellulaire est estimée par la formule suivante :

$$[C] = N \times F \times 10^4$$

[C] : concentration cellulaire (cellule/ml).

N : nombre de cellules comptées dans les 16 carreaux de l'hématimètre.

F : facteur de dilution.

10^4 : facteur spécifique de l'hématimètre, utilisé pour obtenir le nombre de cellules dans un volume égal à un millimètre.

II.3.2.2. Evaluation de la cytotoxicité des extraits de *Capparis spinosa*

La cytotoxicité des extraits des feuilles et des bourgeons floraux de *C. spinosa* a été évaluée par le test d'exclusion au bleu de Trypan. Pour cela, 250 μ l de la suspension cellulaire (3×10^6 cellules/ml) sont incubés en présence de 100 μ g/ml de l'extrait méthanolique ou aqueux des feuilles et des bourgeons floraux de *C. spinosa* à 37°C pendant 30 min ou une nuit (18 h). Après incubation, un volume équivalent de la solution de bleu de Trypan (0.4%) est ajouté. Le pourcentage de viabilité cellulaire est déterminé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d' inhibitrion} = \left(\frac{N_t - N_m}{W_t} \right) \times 100$$

Nt: nombre total de cellules comptées (viable et non viable).

Nm : nombre de cellules mortes.

II.3.2.3. Culture cellulaire

Dans un premier temps, afin d'assurer une décongélation rapide des PBMCs ou des PMNs conservés à -80°C, les cryoflacons contenant les cellules sont incubés dans une étuve à 37°C. Une fois décongelé, le contenu des tubes est transféré vers des tubes coniques de 15 ml contenant 9 ml de milieu de culture, puis centrifugé à 1480 rpm pendant 5 min à température ambiante. Après comptage des cellules, une dernière centrifugation a été effectuée afin de récupérer les cellules dans le milieu de culture complet à une concentration de 2×10^5 PBMCs/ml et 4×10^5 PMNs/ml.

La culture cellulaire est réalisée dans des microplaques de 24 puits, où les cellules sont incubées en présence de différentes concentrations des extraits (1, 10, 50 et 100 μ g/ml) et en présence de 5 μ g/ml de la concanavaleine A (Con A) à 37°C dans une étuve à 5% de CO₂. Les puits contrôles qui ne contiennent pas des extraits sont incubés soit en absence (contrôle négatif) ou en présence (contrôle positif) de la Con A. Après une nuit d'incubation, les surnageants récupérés par centrifugation à 1200 rpm pendant 10 min à température ambiante, sont récoltés et conservés à -80°C jusqu'à utilisation.

II.3.2.4. Evaluation de l'effet des extraits sur la production des médiateurs inflammatoires

a. Evaluation de l'effet des extraits sur la production de cytokines

Les cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-8, TNF- α , IFN- γ) et les cytokines anti-inflammatoires (IL-10, TGF- β) ont été dosées dans les surnageants des PBMCs et des PMNs par ELISA en sandwich en utilisant des kits spécifiques (eBioscience ou R&D Systems, USA). Brièvement, dans des puits d'une microplaque d'ELISA (Corning Costar 9018), 200 μ l d'une solution d'anticorps de capture des cytokines sont ajoutés et incubé pendant 24 h à 4°C. Afin d'éliminer tous les anticorps n'ayant pas été fixés, plusieurs lavages par le PBS contenant 0.05% de Tween-20 ont été effectués. Ensuite pour bloquer les sites libres des parois de chaque puits, 200 μ l d'une solution de blocage sont déposés et incubés pendant une heure à température ambiante. Après lavage, les puits standards sont remplis par 100 μ l de la solution de la cytokine standard à des concentrations décroissantes qui serve à établir une gamme d'étalonnage. Les autres puits sont remplis par le même volume du surnageant des leucocytes mononucléaires ou des neutrophiles traités ou non traités par les extraits. Après 24 h d'incubation à 4°C, plusieurs lavages ont été effectués afin de se débarrasser des cytokines n'ayant pas été fixés sur les anticorps de capture. Ensuite, 100 μ l de la solution d'anticorps de détection sont ajoutés et incubés pendant une heure à température ambiante. Après lavage, 100 μ l d'une solution d'enzyme de détection (Avidin-horseradish peroxidase) sont ajoutés et incubés pendant 30 min à température ambiante avant la réalisation d'une série de lavage et l'addition de 100 μ l d'une solution de substrat de l'enzyme (tétraméthylbenzidine). La réaction enzyme-substrat est laissée agir entre 15-30 min à l'obscurité et à température ambiante. Pour stopper la réaction enzymatique, 50 μ l d'acide phosphorique (1 M) sont ajoutés. La lecture est effectuée par un lecteur de microplaque à deux longueurs (450 nm et 570 nm).

b. Evaluation de l'effet des extraits sur la production de leucotriène B4

La technique d'ELISA par compétition a été utilisée pour évaluer l'effet des extraits des feuilles et des bourgeons floraux de *C. spinosa* sur la production de LTB4 par les neutrophiles humains. Selon les instructions du kit utilisé (R&D Systems, USA), dans les puits d'une microplaque plaque d'ELISA contenant d'anticorps de capture, les puits réservés à la solution standard et servent à établir la gamme d'étalonnage sont remplis par une solution de LTB4 à une concentration décroissante. Les puits réservés pour les échantillons tests sont remplis par le même volume du surnageant des neutrophiles traités

ou non traités par les extraits. Un volume de 50 μl d'une solution d'anticorps primaire est ensuite ajouté pour chaque puits et incubé pendant une heure sous agitation à température ambiante. Après incubation, 50 μl d'une solution de LTB₄-conjuguée avec l'enzyme de détection (HRP) sont ajoutés à chaque puits et laissés agir pendant 3 h sous agitation à température ambiante. Avant d'ajouter 200 μl d'une solution de substrat de l'enzyme (peroxyde d'hydrogène/tétraméthylbenzidine), plusieurs lavages par 400 μl de PBS contenant 0.05 de Tween-20 ont été effectués. Le milieu réactionnel enzyme-substrat est incubé pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante. Pour stopper la réaction enzymatique, 100 μl d'acide sulfurique (2 N) sont ajoutés. La lecture est effectuée à l'aide d'un lecteur de microplaque à deux longueurs (450 nm et 570 nm).

c. Evaluation de l'effet des extraits sur la production de l'anion superoxyde

La quantité de l'anion superoxyde généré par les neutrophiles stimulés est évaluée par la réduction de ferricytochrome C selon la méthode de Cohen et Chovaniec (1978) avec une légère modification. Brièvement, les neutrophiles (2.5×10^6 cellules/ml) suspendus dans le HBSS₂ sont incubés à 37°C pendant 10 min en présence de différentes concentrations (1, 10, 50, 100 $\mu\text{g/ml}$) de l'extrait méthanolique ou aqueux des feuilles et des bourgeons floraux et de *C. spinosa*. Les cellules sont stimulées par addition de 100 μl du fMLP (10^{-6}M)/cytochalasine B (10^{-5}M) et incubées en présence de 100 μl de cytochrome C (0.2 mg/ml) à 37°C pendant 15 min. Ensuite une centrifugation à 3000 rpm pendant 5 min et à 4°C a été effectuée. L'absorbance est déterminée à 550 nm. La spécificité de la réaction est vérifiée par l'utilisation de superoxyde dismutase (SOD) (330 U/ml). Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la génération d'anion superoxyde exercé par les extraits par rapport au contrôle considéré comme 100% d'activation. La quantité de l'anion superoxydes générée est calculée à partir du coefficient d'extinction molaire du ferricyochrome réduit : $\epsilon_{550} = 21.1 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

II.3.2.5. Evaluation de l'effet des extraits sur l'activité de la myéloperoxydase

L'effet des extraits sur l'activité de la MPO est déterminé selon une méthode adaptée de Wanikiat et ses collaborateurs (2008) basée sur l'oxydation de 3, 3', 5, 5'-tétraméthylbenzidine par le PMO en présence de H₂O₂. La production de cette enzyme est induite par l'incubation des PMNs (5×10^6 cellules/ml) dans le HBSS₂, pendant 15 min à 37°C, en présence de 37.5 μl de fMLP/Cytochalasine B ($10^{-6} \text{ M}/10^{-5} \text{ M}$). Après

centrifugation 10 min à 3000 rpm, le surnageant enzymatique est réparti dans les puits (20 µl) d'une plaque de microtitration et incubé 10 min à 37 °C en présence de 30 µl de différentes concentrations des extraits étudiés (1, 10, 50, 100 µg/ml). Ensuite, 25 µl de tétraméthylebenzidine (1.6 mM), puis 100 µl de H₂O₂ (0.003% préparé dans le tampon phosphate pH 5.4 contenant 0.05% de hexadecyltrimethylammonium bromide) sont ajoutés pour chaque puits. Après 5 min d'incubation à 37°C, la réaction est arrêtée par 50 µl d'acide sulfurique (2 N). L'absorbance est déterminée à 450 nm. L'activité enzymatique est exprimée en pourcentage par rapport au contrôle non traité qui représente 100% d'activité.

II.3.2.6. Evaluation de l'effet des extraits sur la stabilité membranaire

La capacité des extraits de *C. spinosa* à protéger la membrane des érythrocytes humains contre l'hémolyse induite par le milieu hypotonique est évaluée selon Debnath et ses collaborateurs (2013) avec des légères modifications. Brièvement, 100 µl d'une suspension érythrocytaire diluée à 10% dans un milieu isotonique (tampon phosphate 10 mM, pH=7.4, 154 mM NaCl) sont ajoutés à 1 ml de chaque extrait (1 mg/ml) dissous dans un milieu hypotonique (10 mM tampon phosphate, pH=7.4, 50 mM NaCl). L'aspirine (0.1 mg/ml) est utilisée comme référence. Le contrôle considéré comme 100% d'hémolyse contient la suspension érythrocytaire avec le milieu hypotonique seul. Après incubation pendant 10 min à température ambiante, une centrifugation est effectuée à 3000 rpm à 4°C pendant 10 min. L'absorbance du surnageant récupéré est détectée à 450 nm. Le pourcentage d'inhibition d'hémolyse est calculé selon la formule suivante:

$$\% \text{ d'inhibition de l'hémolyse} = \left(\frac{A_t - A_e}{A_t} \right) \times 100$$

A_t: absorbance du témoin.

A_s : absorbance des échantillons.

II.4. Activité antioxydante des extraits de *Capparis spinosa*

II.4.1. Activité anti-radicalaire

L'activité anti-radicalaire des extraits méthanolique et aqueux des feuilles et des bourgeons floraux de *C. spinosa* est déterminée dans la présente étude vis-à-vis le radical DPPH (2,2-diphényl-2-picryl-hydrayl) selon la méthode décrite par Que et ses collaborateurs (2006). Pour réaliser ce test, un volume de 1 ml de la solution de DPPH (0.1 mM) est ajouté à 1 ml d'extrait ou de l'antioxydant de référence (2, 6 di-tert-

butyl-4-methylphenol, BHT) à différentes concentrations. Après agitation, le mélange réactionnel est incubé pendant 30 min à l'obscurité à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 517 nm contre un blanc de méthanol. L'activité anti-radicalaire est déterminée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti-radicalaire} = \left(\frac{Ac-Ae}{Ac} \right) \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle contenant uniquement la solution du radical DPPH.

Ae : absorbance de l'échantillon test.

La concentration ayant la capacité de piéger 50% du radical DPPH (IC₅₀) est déterminée.

II.4.2. Chélation du fer ferreux

La capacité chélatrice des extraits de *C. spinosa* est évaluée selon la méthode décrite par Le et ses collaborateurs (2007). Un volume de 700 µl de la solution des extraits à différentes concentrations (50-1200 µg/ml) ou du standard (acide éthylènediaminetétraacétique, EDTA) est mélangé avec 50 µl de FeCl₂ (0.6 mM) et incubé pendant 5 min avant l'addition de 50 µl de la ferrozine (5 mM). Le mélange est ensuite bien agité et laissé réagir à température ambiante pendant 10 min, avant la lecture de l'absorbance à 562 nm. L'activité chélatrice des extraits est exprimée en pourcentage et calculée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité chélatrice} = \left(1 - \frac{Ae}{Ac} \right) \times 100$$

Les concentrations effectives (EC₅₀) des extraits qui produisent 50% d'activité chélatrice sont calculées à partir de régression linéaire.

II.4.3. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques et aqueux de *C. spinosa* est déterminé selon une méthode adaptée de Rohit et ses collaborateurs (2012). Brièvement, les solutions des extraits (10-500 µg/ml) et de l'antioxydant de référence sont mélangées avec 2.5 ml du tampon phosphate (200 mM, pH=6.6) et 2.5 ml de K₃Fe(CN)₆ (1%). Après 20 min d'incubation à 50°C, 2.5 ml de l'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés au milieu réactionnel qui est ensuite centrifugé à 800 rpm pendant 10 min. Un volume de 2.5 ml de surnageant est mélangé avec 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de FeCl₃ (0.1%).

L'absorbance est déterminée à 700 nm contre un blanc sans FeCl₃. L'absorbance est directement proportionnelle au pouvoir réducteur.

II.4.4. Blanchiment du β-carotène

La capacité des extraits étudiés à prévenir le blanchiment du β-carotène est déterminée selon la méthode de Tepe et ses collaborateurs (2011) basée sur la capacité des extraits à inhiber la formation des hydroperoxydes diène conjugués durant l'oxydation de l'acide linoléique. Brièvement, 0.5 mg de β-carotène dans 1 ml de chloroforme sont mélangés avec 25 µl d'acide linoléique et 200 mg de Tween-40. Après évaporation du chloroforme sous vide à 45°C, 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène sont ajoutés au mélange qui est agité vigoureusement. Ensuite un volume de 2.5 ml de l'émulsion de β-carotène/acide linoléique est transféré dans des tubes contenant 0.5 ml des solutions des extraits (2 mg/ml) ou de l'antioxydant de référence (BHT, 2 mg/ml) et incubé dans un bain-marie à 50°C pendant 2 h. L'oxydation de l'émulsion est suivie par la mesure de l'absorbance à temps zéro et après chaque 15 min pendant 2 h à 490 nm. L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition par rapport au contrôle sans extraits selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité antioxydante} = \left(1 - \frac{A_{0e} - A_{120e}}{A_{0c} - A_{120c}} \right)$$

A_{0e}/A_{0c} : absorbances des échantillons (e) et des contrôles (c) mesurées au temps 0.

A_{120e}/A_{120c} : absorbances des échantillons (e) et des contrôles (c) mesurées au temps 120 min.

III. Analyse statistique

Les résultats des tests effectués *in vivo* et *in vitro* sont exprimés en moyenne ± SEM et en moyenne ± SD, respectivement. Les concentrations inhibitrices à 50% (IC₅₀) sont calculées par régression linéaire. L'analyse statistique est réalisée en utilisant le test t de Student pour la comparaison de deux échantillons, ou le test d'ANOVA univarié suivi par le test de Dunnett ou de Tukey pour les comparaisons multiples en utilisant le logiciel GraphPad Prism 7 Demo. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 5% (p<0.05).

RESULTATS

RESULTATS

I. Préparation des extraits de *Capparis spinosa*

La macération de la matière sèche des feuilles ou des bourgeons floraux de *C. spinosa* dans le méthanol a permis d'obtenir des extraits sous forme d'une poudre de couleur vert-jaune pour l'extrait des feuilles et de couleur marron pour l'extrait des bourgeons floraux. Les extraits aqueux préparés par décoction sont aussi sous forme d'une poudre de couleur marron pour les deux extraits.

La comparaison entre les deux méthodes d'extraction montre que l'extraction aqueuse représente le rendement le plus élevé avec 30% pour l'extrait des bourgeons et 24% pour l'extrait des feuilles. Dans le cas des extraits méthanoliques, le rendement d'extraction est de 24% et 16% pour les deux parties, respectivement.

II. Analyse phytochimique

Les dosages des polyphénols totaux montrent que les extraits de *C. spinosa* renferment des quantités importantes de composés phénoliques (**Tableau 2**). L'E.Met des feuilles est le plus riche en polyphénols (243.99 ± 2.08 mg EAG/g d'extrait), suivi par l'E.Met des bourgeons floraux qui renferme 151.54 ± 8.11 mg EAG/g d'extrait. Les deux extraits aqueux ont montré une teneur très proche de 99 et 90 mg EAG/g d'extrait, respectivement.

Les flavonoïdes sont aussi présents en grande quantité dans les extraits de la plante (**Tableau 2**). Les extraits méthanoliques des feuilles et des bourgeons de la plante s'avèrent être plus riches que les extraits aqueux, ayant présentés des taux faibles qui varient entre 17.25 ± 0.56 mg EQ/g d'extrait et 11.81 ± 1.18 mg EQ/g d'extrait, respectivement.

La plante contient des quantités relativement modérées de tanins (**Tableau 2**). Les extraits des bourgeons floraux soit méthanolique ou aqueux présentent les quantités les plus élevées en tanins (40.40 mg EAT/g d'extrait) que les extraits des feuilles.

D'un autre côté, l'analyse des profils chromatographiques des extraits de feuilles et de bourgeons floraux de *C. spinosa* obtenus par HPLC-TOF/MS, montre la présence des acides phénoliques et des flavonoïdes dans les deux parties de la plante (**Figure 11** et **12**). D'une manière générale, les deux parties de la plante montrent une composition assez proche avec un avantage pour l'E.Met des feuilles qui renferme 14 composants

Tableau 2 : Quantification des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins dans les extraits de *C. spinosa*.

Extraits		Polyphénols µg d'EAG/mg d'extrait	Flavonoïdes µg d'EQ/mg d'extrait	Tanins µg d'EAT/mg d'extrait
Feuilles	Met	243.99 ± 2.08	35.62 ± 0.7	26.92 ± 2.81
	Aq	99.02 ± 5.45	17.25 ± 0.56	9.20 ± 0.56
Bourgeons	Met	151.54 ± 8.11	24.34 ± 0.52	40.40 ± 3.66
	Aq	90.04 ± 6.26	11.81 ± 1.18	40.40 ± 8.76

Les valeurs représentent la moyenne ± SD ($n=3$). Met : extrait méthanolique, Aq : extrait aqueux.

en comparaison avec l'E.Met des bourgeons floraux qui ne contient que 10 composés (**Tableau 3**). Parmi ces composés, 11 acides phénoliques ont été détectés dans les extraits des feuilles dont les constituants majeurs sont l'acide *p*-coumarique (316.74 mg/kg de plante pour l'E.Met et 101.88 mg/kg pour l'E.Aq) suivi par l'acide férulique avec le taux de 161.65 mg/kg et 48.92 mg/kg pour les deux extraits, respectivement. Parmi les 8 acides phénoliques trouvés dans les extraits des bourgeons floraux, l'acide 4-hydroxybenzoïque est prononcé comme étant le constituant majeur avec 128.15 mg/kg et 38.84 mg/kg pour les deux extraits méthanolique et aqueux, respectivement.

La rutine est présente avec des quantités très élevées dans les différents extraits de *C. spinosa* avec un taux de 44.920 g/kg de plante et 6.872 g/kg dans les extraits méthanoliques et de 26.182 g/kg et 2.601 g/kg dans les extraits aqueux des feuilles et des bourgeons floraux, respectivement. La quercétine et le kaempférol ont également été détectés à des quantités importantes dans les différents extraits de la plante.

La teneur des extraits des feuilles en acides phénoliques et en flavonoïdes est plus importante que celle des extraits des bourgeons floraux qui renferment juste l'acide 4-hydroxybenzoïque, l'acide vanillique et le kaempférol à des quantités plus élevées.

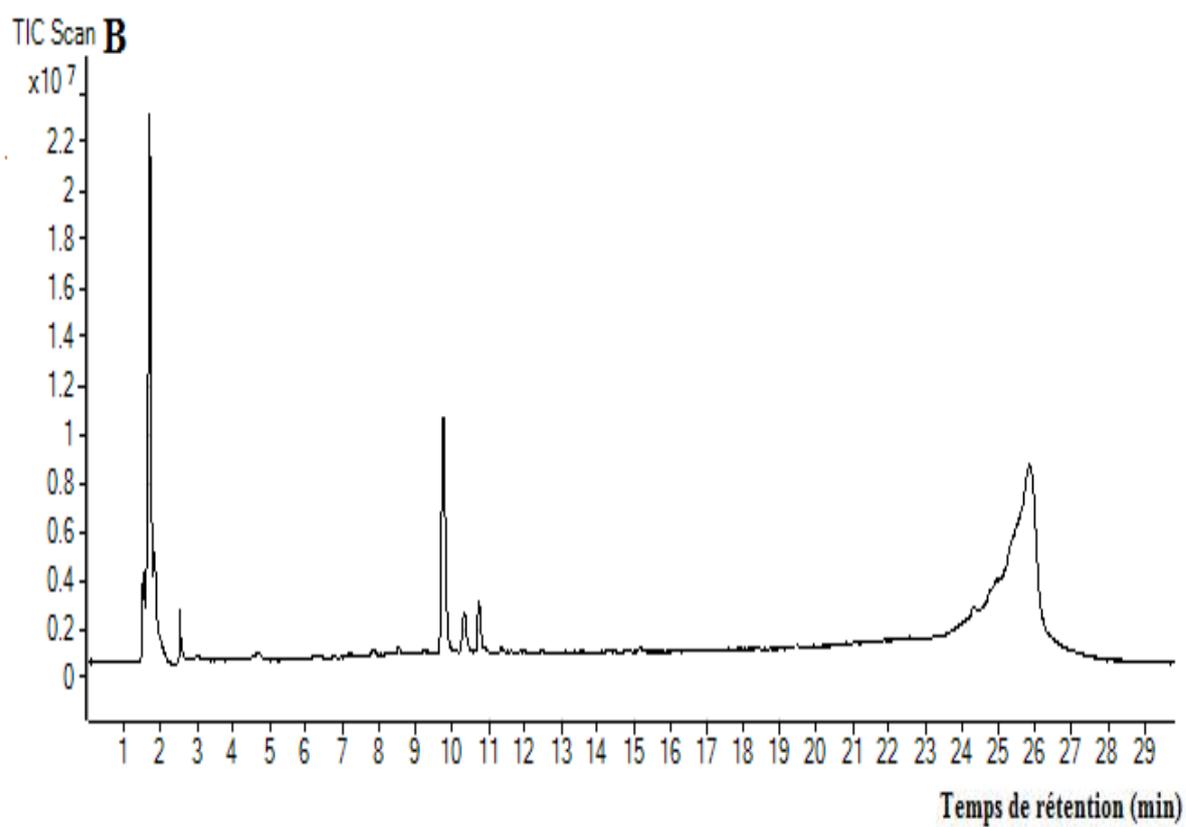
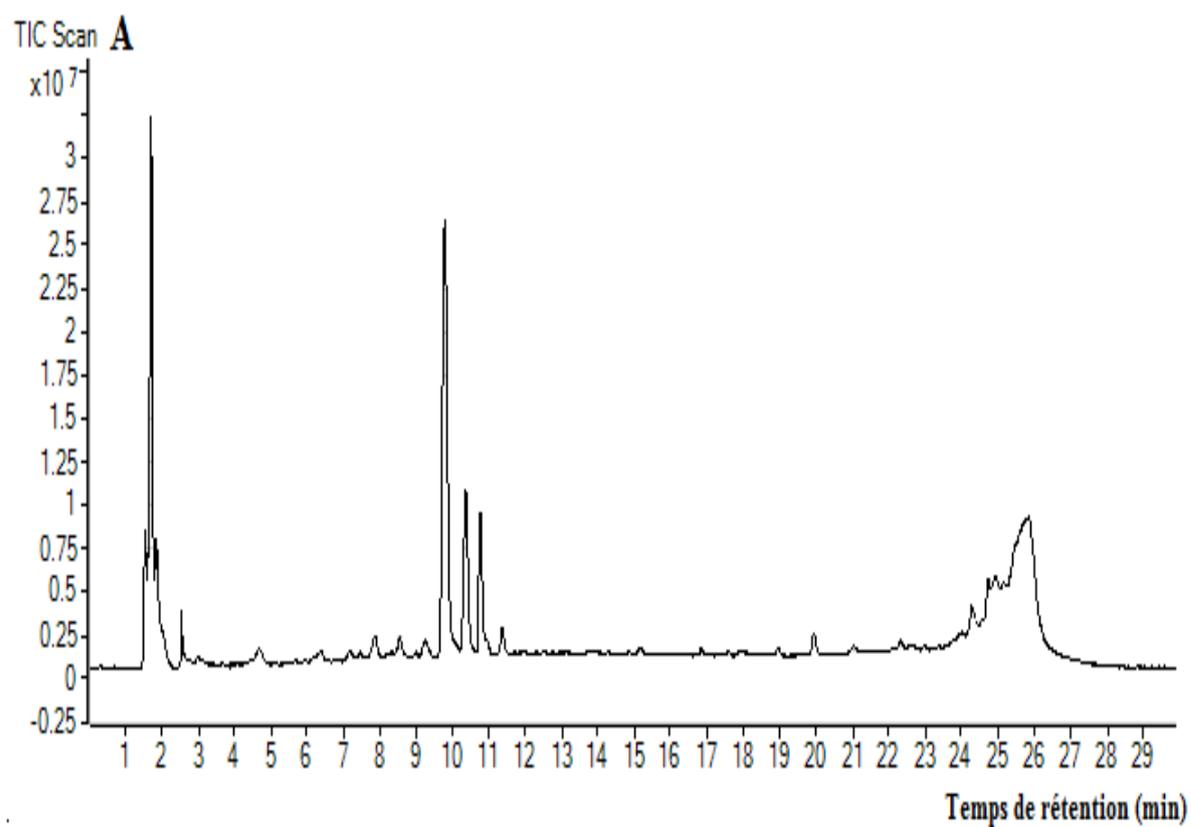


Figure 11: Chromatogramme de l'extrait méthanolique (**A**) et aqueux (**B**) des feuilles de *C. spinosa* obtenus par HPLC-TOF/MS.

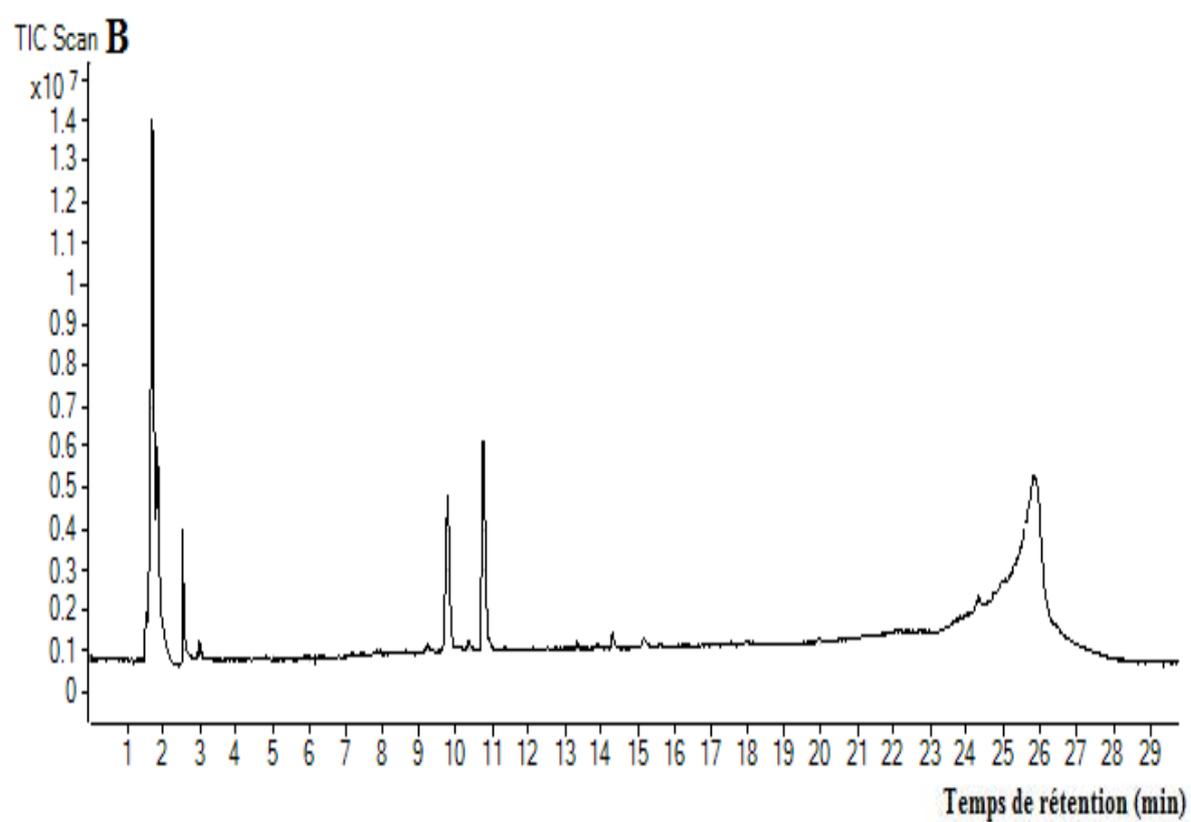
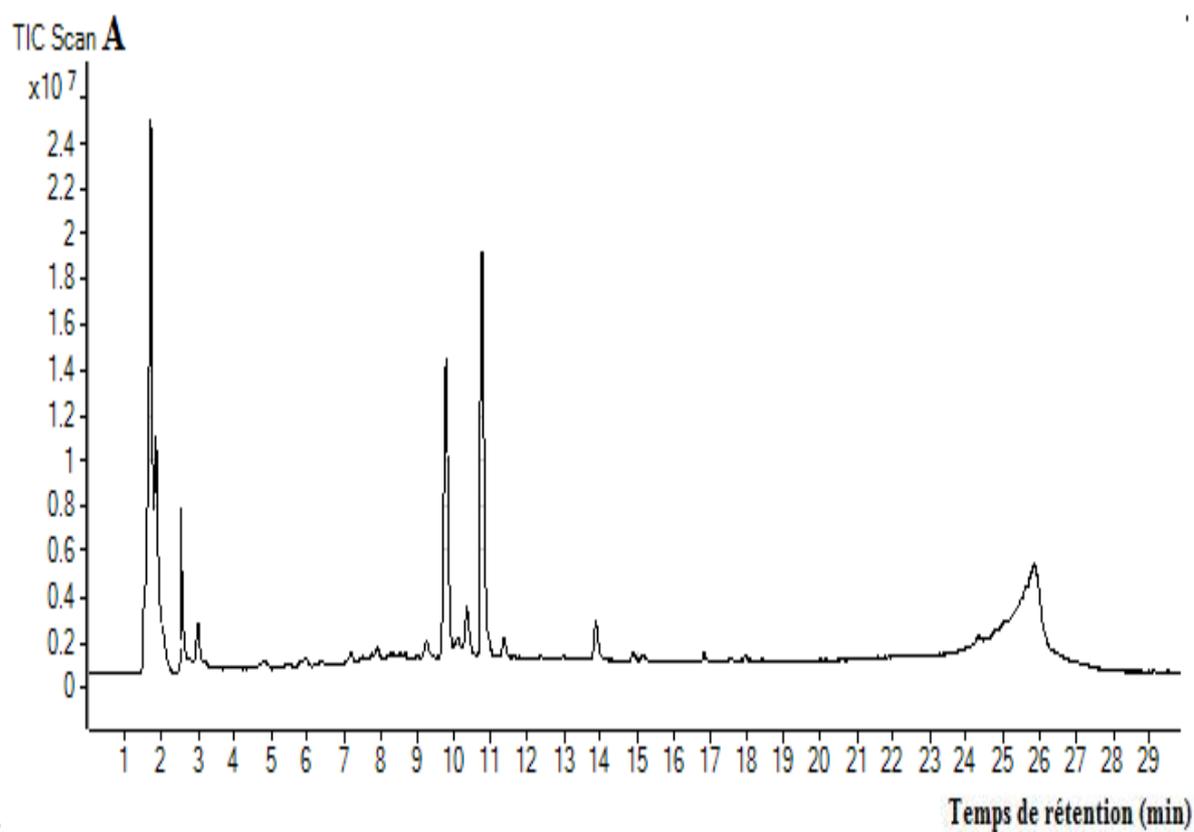


Figure 12: Chromatogramme de l'extrait méthanolique (**A**) et aqueux (**B**) des bourgeons floraux de *C. spinosa* obtenus par HPLC-TOF/MS.

Tableau 3: Composés phénoliques identifiés par HPLC–TOF-MS dans les extraits de *C. spinosa*.

Composés phénoliques	R (min)	mg/Kg de plante			
		E.Met F	E.Aq F	E.Met BF	E.Aq BF
<u>Acides phénoliques</u>					
Acide gallique	2.557	16.81	8.60	2.03	2.10
Acide gentisique	4.306	22.13	30.19	5.88	2.60
Acide hydroxybenzoïque	6.777	55.65	46.71	128.15	38.84
Acide caféique	7.684	10.05	/	3.36	/
Acide vanillique	7.824	10.16	3.40	15.44	19.30
Acide <i>p</i> -coumarique	10.022	316.74	101.88	32.15	3.16
Acide cichorique	10.043	12.28	7.69	/	2.25
Acide férulique	10.089	161.65	48.92	31.44	4.40
Acide éllagique	10.049	/	/	2.824	0.47
Acide salicylique	13.489	10.46	/	/	/
<u>Flavonoïdes</u>					
Rutine	9.749	44920.82	26182.10	6872.23	2601.78
Quercétine	15.165	175.40	134.03	39.13	32.92
Kaempférol	17.532	17.32	3.86	38.56	6.79
Hespéridine	11.419	27.45	/	/	/

RT : temps de rétention ; E.Met F : extrait méthanolique des feuilles ; E.Aq F : extrait aqueux des feuilles ; E.Met BF : extrait méthanolique des bourgeons floraux ; E.Aq BF : extrait aqueux des bourgeons floraux.

III. Activité anti-inflammatoire *in vivo* des extraits de *Capparis spinosa*

III.1. Effet sur l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris

Chez les souris du groupe témoin, l'application topique de l'huile de croton a engendré un œdème de $77.33 \pm 13.66 \mu\text{m}$ (**Figure 13**). Le traitement des souris par 2 mg/oreille des différents extraits de *C. spinosa* a diminué très significativement ($p < 0.001$) le développement de cet œdème. Les effets exercés par les extraits méthanolique et aqueux des feuilles sont presque identiques et de l'ordre de $86.36 \pm 13.63\%$ et $84.09 \pm 4.08\%$, respectivement. Similairement, les deux extraits méthanolique et aqueux des bourgeons floraux montrent un effet anti-œdémateux puissant avec des taux de $79.54 \pm 4.08\%$ et $65.90 \pm 5.47\%$. Ces effets sont statistiquement similaires à celui obtenu par l'indométacine ($59.09\% \pm 8.94\%$).

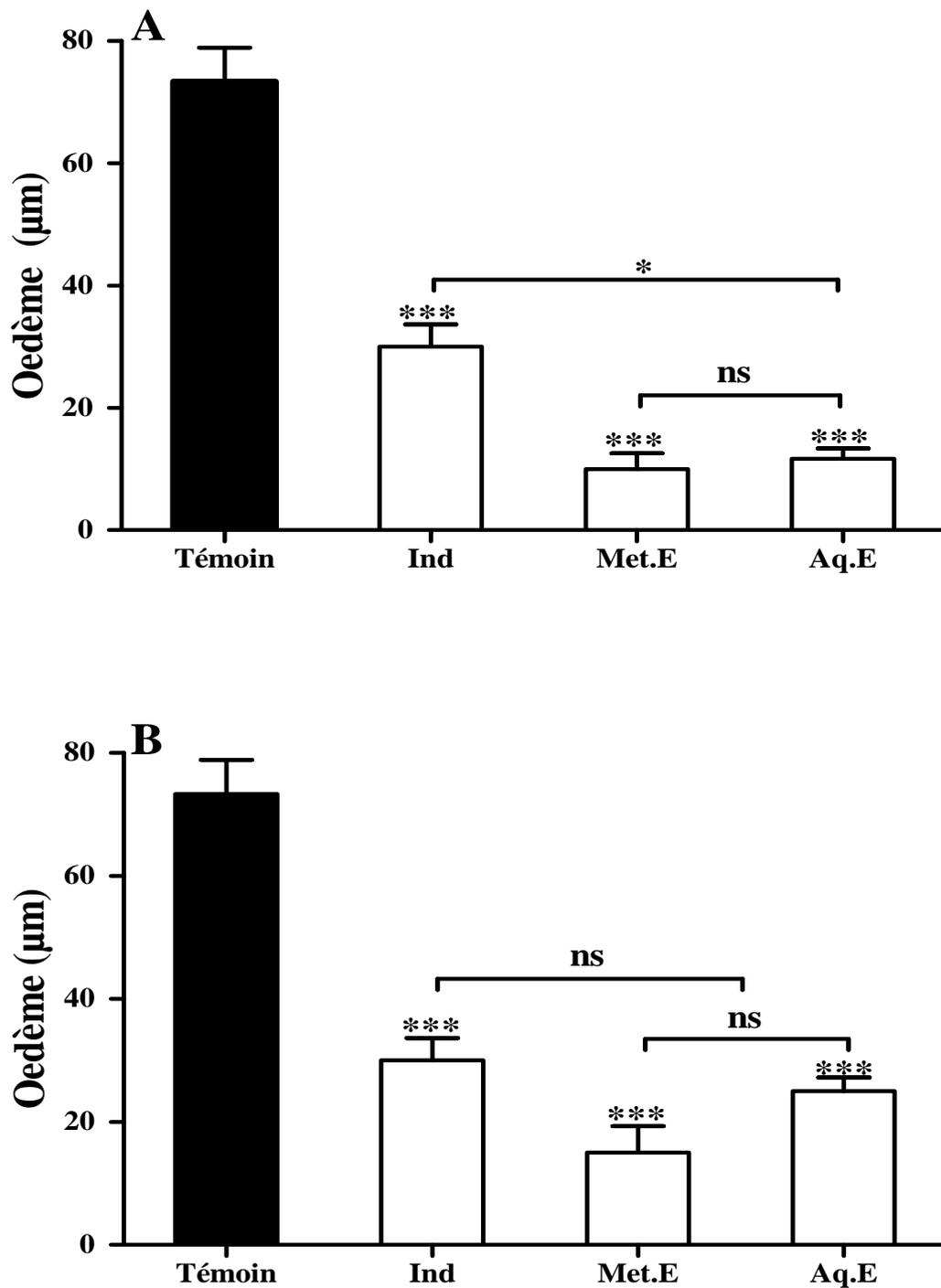


Figure 13 : Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris. L'œdème est induit par une application locale de 80 µg d'huile de croton sur la face interne de l'oreille droite. Les souris sont traitées localement par 2 mg/oreille des extraits méthanolique (E.Met) ou aqueux (E.Aq) ou par 0.5 mg/oreille d'indométacine (Ind). Les souris du groupe témoin reçoivent uniquement l'agent irritant. Les valeurs représentent la moyenne ± SEM (n = 6). *** : p < 0.001 vs. le témoin non traité avec les extraits.

III.2. Effet sur l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat

L'injection de 0.1 ml de λ -carragénine dans l'aponévrose plantaire de la patte du rat, provoque un œdème qui augmente progressivement et atteint au bout de 4 heures 1.107 ± 0.103 ml (81.62%) (**Figure 14**). Le prétraitement des rats, par les différents extraits de *C. spinosa* entraîne une diminution de l'évolution de cet œdème. Cette diminution est temps et dose indépendante. Les deux extraits des feuilles à 200 mg/kg montrent une forte inhibition de l'œdème. A partir de la 3^{ème} heure les inhibitions exercées par les deux extraits méthanolique ou aqueux atteignent leurs maximums (63%) et restent presque maintenues dans le même niveau durant les 6 heures de l'expérience. A 400 mg/kg, l'E.Aq des feuilles de *C. spinosa* semble être plus puissant que l'E.Met qui n'exerce que 23-32% d'inhibition. Dans le cas des extraits des bourgeons floraux, les effets exercés par les deux doses 200 et 400 mg/kg des deux extraits sont assez proche et varient entre 24-69% pour l'E.Met et 15-45% pour l'E.Aq. L'aspirine (100 mg/kg) utilisée comme anti-inflammatoire de référence, a montré une inhibition très élevée (83-92%).

III.3. Effet sur le recrutement des neutrophiles

Chez les souris du groupe témoin, l'injection de la carragénine dans la cavité de la poche d'aire entraîne un recrutement leucocytaire important ($7.71 \pm 0.77 \times 10^6$ leucocytes/ml) (**Figure 15**). Le prétraitement des souris avec les extraits de *C. spinosa* réduit la migration des cellules inflammatoires vers le site inflammatoire. Cette réduction n'est cependant significative ($p < 0.001$) que dans le cas des extraits méthanoliques des deux parties de la plante avec des taux d'inhibitions de $44.38 \pm 0.44\%$ et $48.92 \pm 0.23\%$ pour l'extrait des feuilles et des bourgeons floraux, respectivement. Ces inhibitions sont statistiquement similaires à celle obtenue par l'indométacine ($41.03 \pm 0.27\%$).

III.4. Effet analgésique

Les résultats obtenus montrent que l'injection de l'acide acétique provoque une grande intensité de crampes abdominales chez les souris du groupe témoin. Durant un intervalle de 30 min elles atteignent 143 ± 10.20 contractions. L'administration de 400 et 200 mg/kg des extraits a montré un effet analgésique très important (**Figure 16**). Pour ces deux doses respectivement, les inhibitions obtenues par les extraits méthanoliques des deux parties de la plante sont très proches de 74.59% et 75.80% pour l'extrait des feuilles et de 81.53% et 74.54% pour l'extrait des bourgeons. Ces inhibitions sont

statiquement similaires à celle engendrée par l'aspirine à 100 mg/kg (73.28%). Dans le cas des extraits aqueux, les extraits des feuilles montrent un effet relativement faible de 55.80% et 48.98% pour les doses 400 et 200 mg/kg, respectivement, en comparaison avec l'extrait des bourgeons qui est de 70.90% et 67.69% pour les deux doses, respectivement.

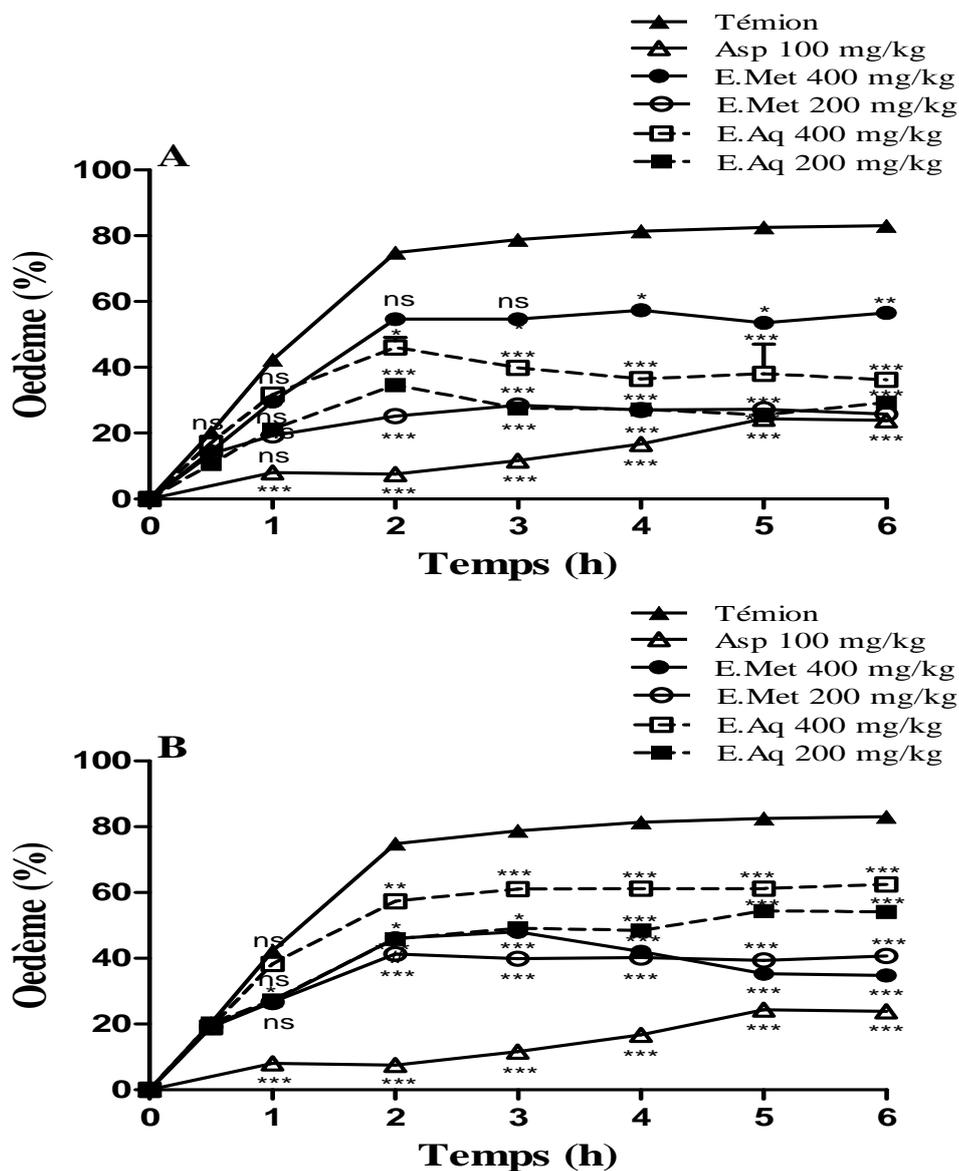


Figure 14: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur l'œdème de la patte induit chez le rat par la carragénine. L'œdème est induit par l'injection de 0.1 ml du carragénine 1%. Les rats sont traités oralement une heure avant l'injection de la carragénine par 200 ou 400 mg/Kg des extraits méthanolique (E.Met) ou aqueux (E.Aq) des feuilles ou des bourgeons floraux ou par 100 mg/kg de l'aspirine (Asp). Les rats du groupe témoin reçoivent uniquement le véhicule. Les valeurs représentent la moyenne \pm SEM (n = 6). *** : $p < 0.001$, ** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$, ns : non significatif vs. le témoin non traité avec les extraits.

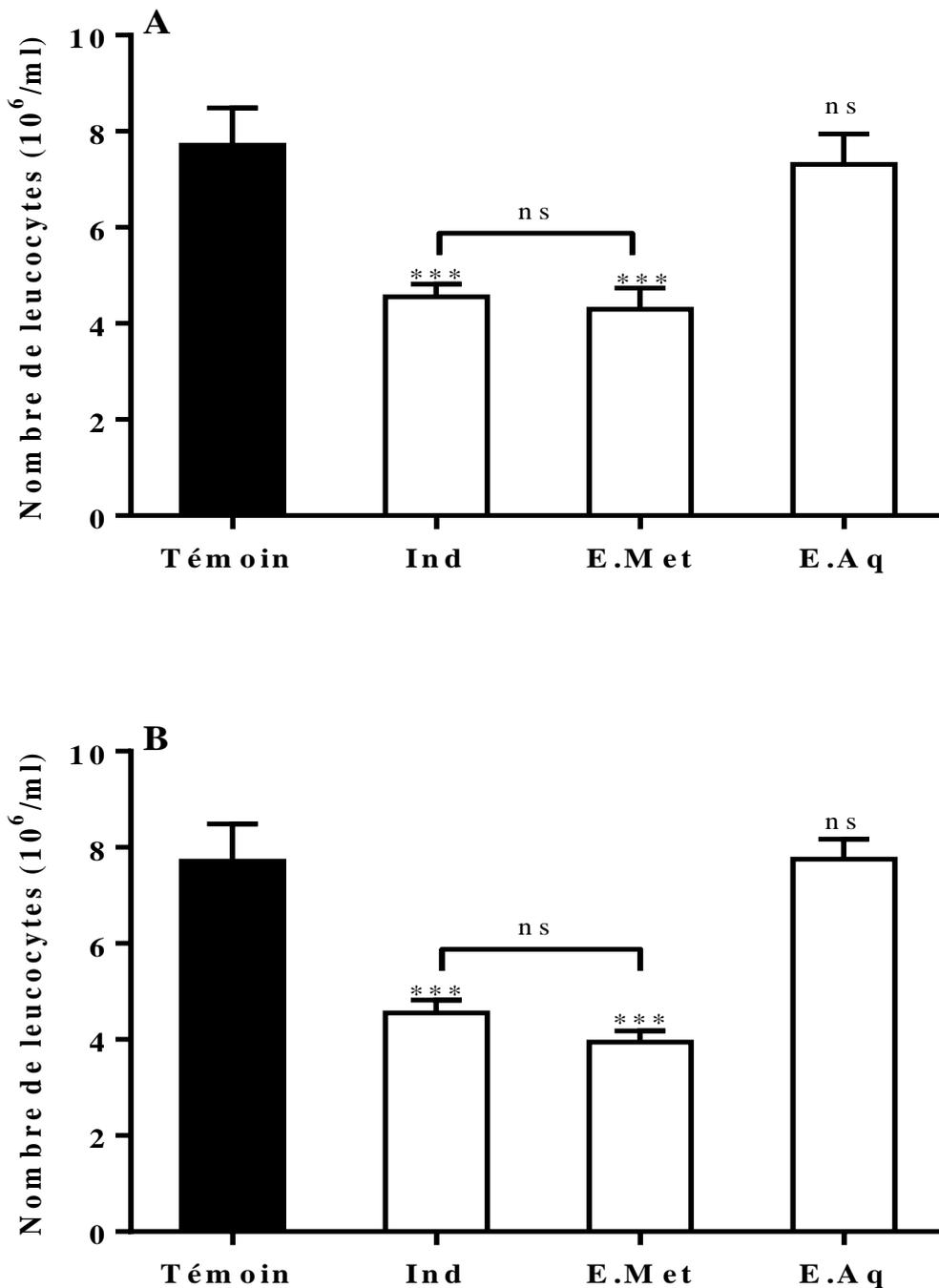


Figure 15 : Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur l'infiltration des neutrophiles vers la poche d'air. L'inflammation est induite par l'injection de 0.1 ml du carragénine (1%) dans la poche d'air. Une heure avant l'induction de l'inflammation, les souris sont traitées par 1 mg/poche de l'extrait méthanolique (E.Met) ou aqueux (E.Aq) des feuilles ou des bourgeons floraux ou par 0.1 mg/poche d'indométacine (Ind). Les valeurs représentent la moyenne \pm SEM (n = 6). *** : $p < 0.001$, ns : non significatif vs. le témoin non traité avec les extraits.

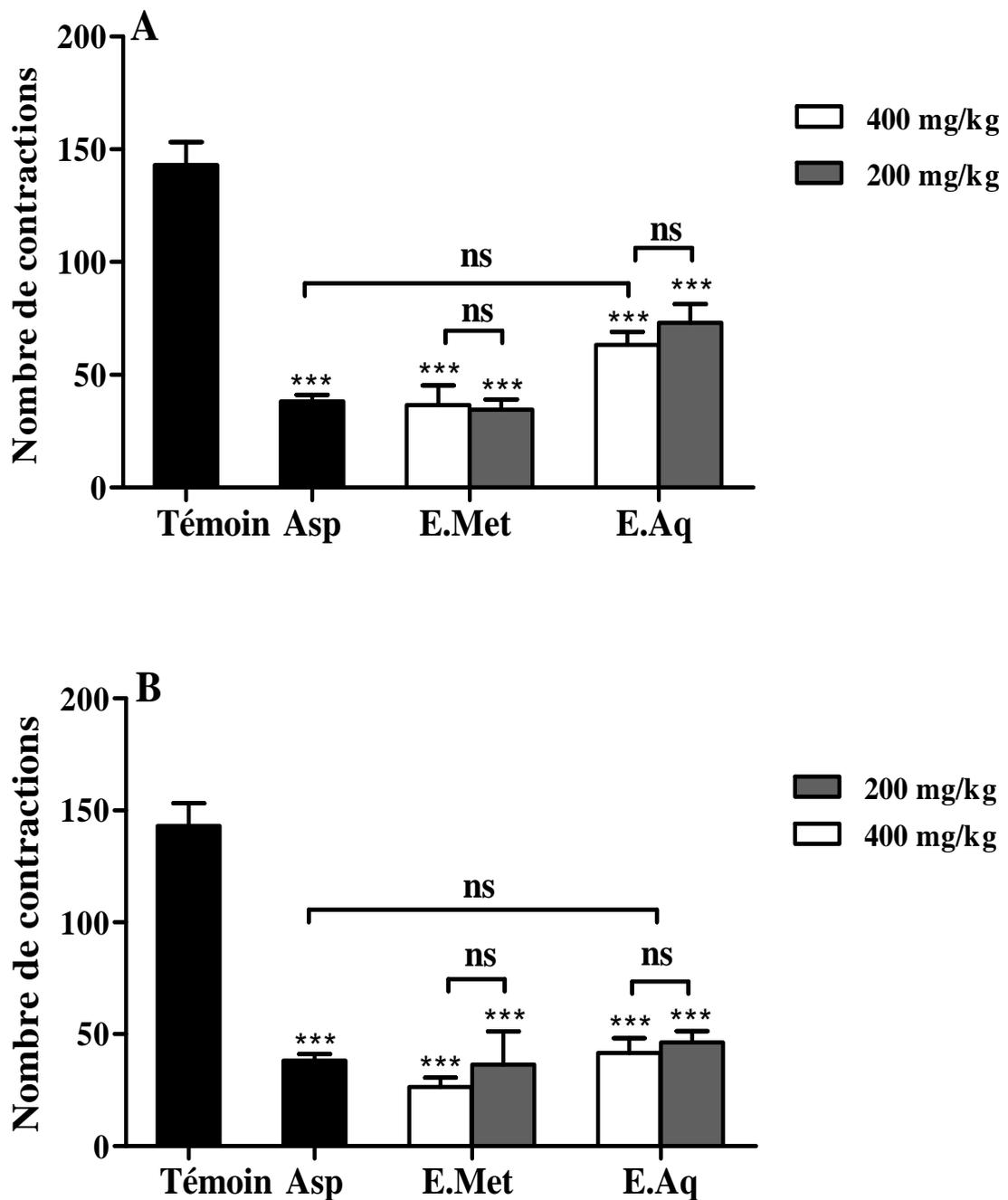


Figure 16: Effet analgésique des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa*. La douleur est induite par l'injection intra-péritonéale de l'acide acétique 0.6%. Les souris des groupes tests sont traitées oralement par 200 et 400 mg/kg de l'extrait méthanolique (E.Met) ou de l'extrait aqueux (E.Aq) des feuilles ou des bourgeons floraux ou par 100 mg/kg de l'aspirine (Asp). Les souris du groupe témoin reçoivent uniquement le véhicule. Les valeurs représentent les moyennes \pm SEM (n = 5). *** : $p < 0.001$ vs. le témoin non traité avec les extraits.

IV. Activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits de *Capparis spinosa*

IV.1. Cytotoxicité des extraits

L'incubation des cellules avec les extraits méthanolique et aqueux des deux parties de *C. spinosa* a donné une viabilité supérieure à 90%, sans enregistrer aucune différence significative par rapport aux cellules non traitées (**Figure 17**).

IV.2. Effet sur la production des médiateurs inflammatoires

IV.2.1. Effet sur la production des cytokines pro-inflammatoires

Les résultats obtenus montrent que dans les conditions basales, les PBMCs produisent spontanément le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-8 (**Figure 18**). En comparaison avec le TNF- α et l'IL-1 β détectés à des concentrations très faibles correspondent à 2.8 ± 2.62 pg/ml et 7.14 ± 0.72 pg/ml respectivement, les PBMCs produisent des quantités très importantes de l'IL-8 (645.79 ± 32.24 pg/ml). La stimulation des cellules par la Con A augmente significativement la production de ces cytokines. En comparaison avec les concentrations basales, la production de TNF- α et de l'IL-1 β est augmentée d'un facteur 15 et 2.6, respectivement. Par contre la production de l'IL-8 est légèrement augmentée (803.32 ± 21.67 pg/ml). D'un autre côté, l'exposition des PBMCs au Con A induit une forte production de l'IFN- γ (380.62 ± 14.76 pg/ml). Cette production est hautement significative ($p < 0.001$) par rapport aux cellules non stimulées qui sont incapables de produire cette cytokine.

De la même manière que les PBMCs, les neutrophiles produisent spontanément le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-8 (**Figure 18**). En réponse à la Con A, une élévation significative de la production de TNF- α a été enregistrée. Le taux de cette cytokine est augmenté de 7 fois en comparaison avec la production basale. Une production importante de l'IFN- γ (308.19 ± 18.85 pg/ml) est également observée après exposition de ces cellules au Con A. Dans le cas de l'IL-8 et de l'IL-1 β , une légère élévation est notée entre la production spontanée et stimulée.

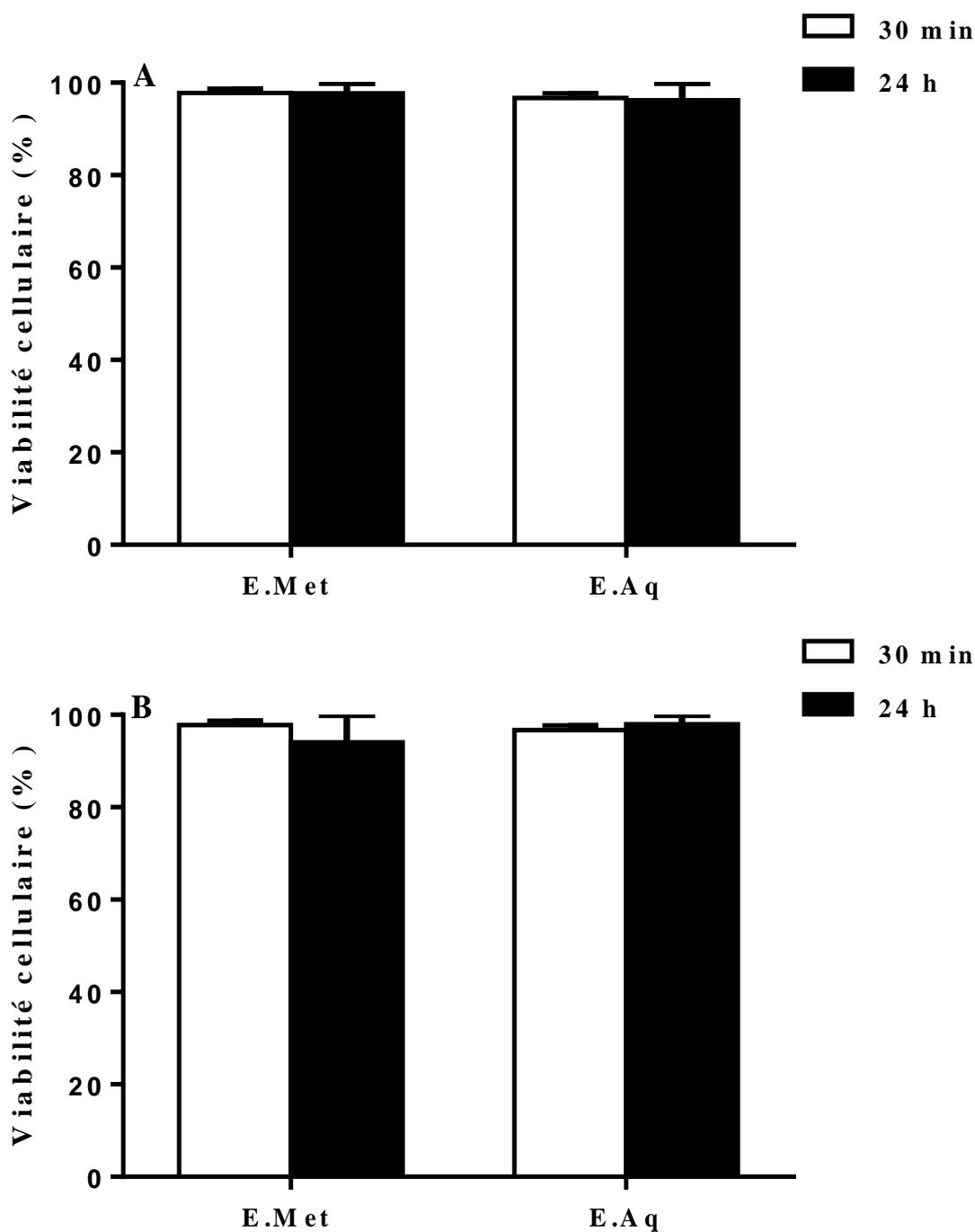


Figure 17: Effet cytotoxique des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* envers les neutrophiles. La cytotoxicité des extraits méthanoliques (E.Met) et aqueux (E.Aq) est évaluée par le test d'exclusion au bleu de Trypan. Les cellules (3×10^6 cellules/ml) sont incubées pendant 30 min ou pendant une nuit en présence des extraits (100 $\mu\text{g/ml}$) à 37 °C. La viabilité cellulaire est exprimée en pourcentage par rapport au contrôle (cellules incubées sans extraits) considéré comme le 100% de viabilité. Chaque histogramme représente la moyenne \pm SD ($n = 3$).

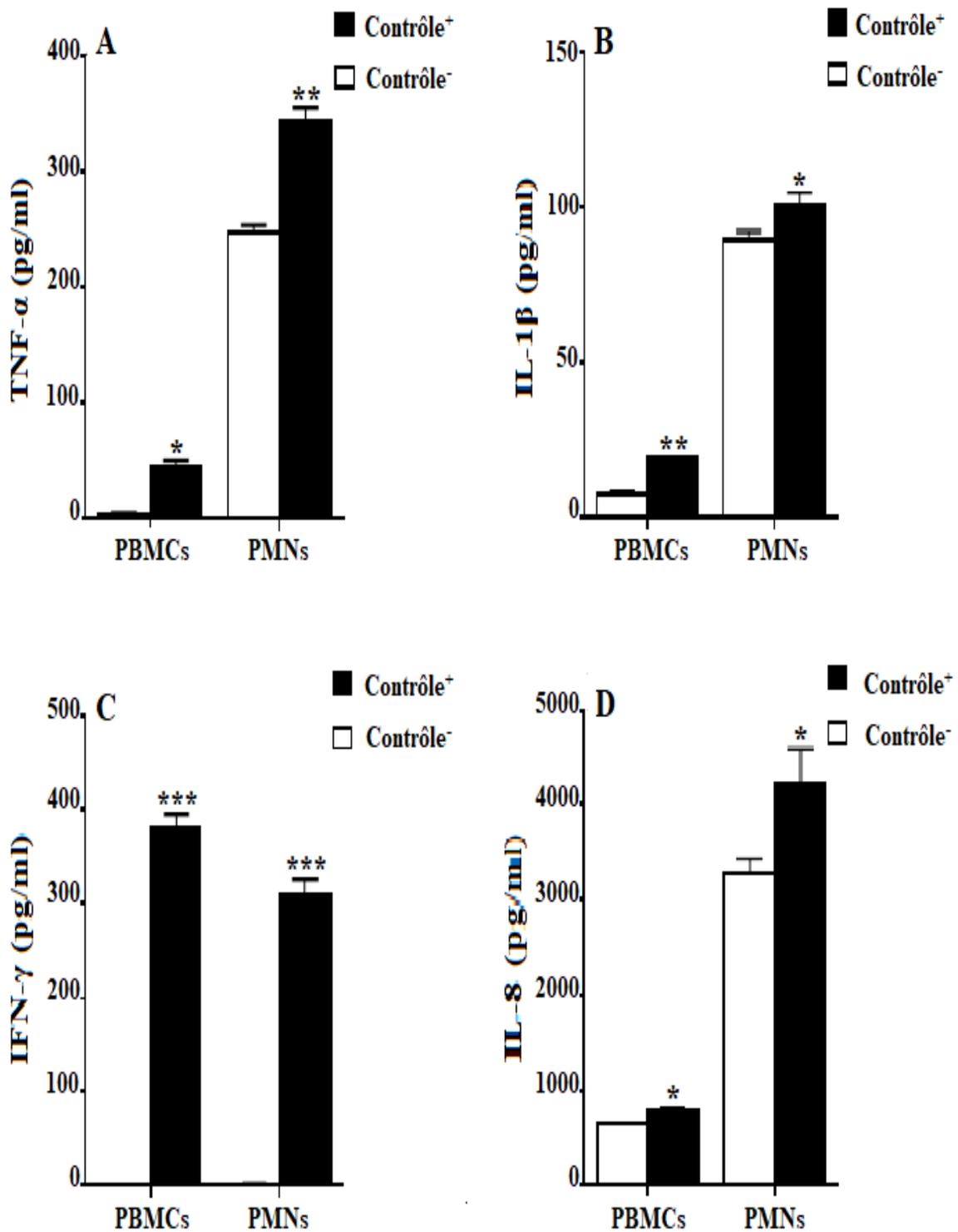


Figure 18: Concentrations basales (contrôle⁻) et en présence de la concanavoline A (contrôle⁺) des cytokines pro-inflammatoires dans le surnageant des mononucléaires périphériques (PBMCs) et des neutrophiles (PMNs). Les cellules sont cultivées pendant une nuit à 37°C dans une atmosphère humide contenant 5% de CO₂. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n = 3). *** : p < 0.001, ** : p < 0.01, * : p < 0.05 vs. le contrôle⁻.

IV.2.1.1. Effet sur la production de TNF- α

L'incubation des PBMCs en présence des différentes concentrations des extraits des feuilles de *C. spinosa*, montre un effet inhibiteur sur la production de TNF- α (**Figure 19**). Les inhibitions exercées par l'E.Met sont statistiquement significatives à 50 $\mu\text{g/ml}$ et à 100 $\mu\text{g/ml}$ ($66.60 \pm 9.15\%$ et $77.42 \pm 4.61\%$, respectivement) (**Figure 19 A**). En comparaison à cet extrait, les inhibitions exercées par l'E.Aq sont relativement faibles et de l'ordre de $20.60 \pm 5.05\%$ et $43.45 \pm 1.62\%$ pour les deux concentrations, respectivement.

De même, la production de TNF- α par les PBMCs est également diminuée par l'E.Met des bourgeons floraux. Cette diminution est significative à 50 $\mu\text{g/ml}$ et à 100 $\mu\text{g/ml}$ et atteint de $26.77 \pm 2.3\%$ et $21.28 \pm 1.23\%$, respectivement. En revanche, le traitement des cellules par l'E.Aq de cette partie de la plante a montré un effet inducteur dose-dépendant sur la production de cette cytokine (**Figure 19 B**). A 100 $\mu\text{g/ml}$, la quantité de TNF- α est 4 fois augmentée par rapport aux cellules du contrôle traitées seulement par la Con A.

Les neutrophiles en réponse aux différentes concentrations des extraits méthanoliques des deux parties de la plante ne montre aucun changement significatif sur la production de TNF- α . Par contre, leur traitement avec les concentrations les plus élevées de l'E.Aq des feuilles et toutes les concentrations de l'E.Aq des bourgeons floraux augmente la production de cette cytokine. A 100 $\mu\text{g/ml}$ le taux de cette cytokine est augmenté d'un facteur de 1.3 pour les deux extraits (**Figure 20**).

IV.2.1.2. Effet sur la production de l'IL-1 β

Dans le surnageant des PBMCs cultivés en présence de différentes concentrations des extraits des feuilles de *C. spinosa*, une inhibition significative de la production de l'IL-1 β a été détectée (**Figure 21 A**). À 100 $\mu\text{g/ml}$, l'E.Aq de cette partie de la plante a aboli totalement (100%) la production de cette cytokine. Statistiquement, cet effet est similaire à celui exercé par l'E.Met qui est de l'ordre de $94.38\% \pm 8.04\%$. Aux faibles concentrations, l'E.Aq avec un effet inhibiteur varie entre 67% et 80%, semble d'être plus actif que l'E.Met ayant montré un effet inhibiteur de 17 à 22%.

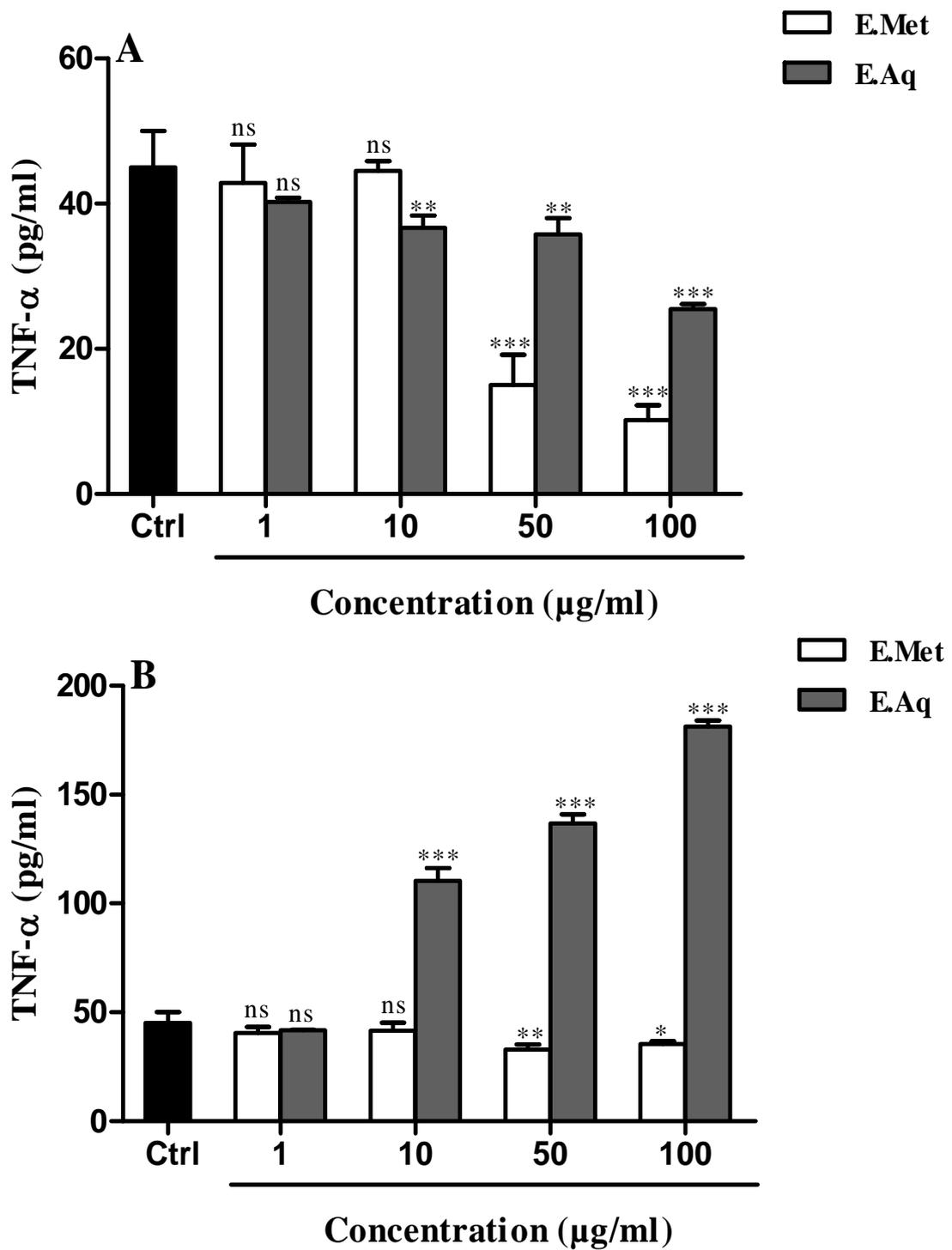


Figure 19: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur la production de TNF- α par les mononucléaires périphériques. Les cellules (2×10^5 cellules/ml) traitées par différentes concentrations (1, 10, 50 et 100 µg/ml) des extraits méthanoliques (E.Met) ou aqueux (E.Aq) et stimulées par 5 µg/ml de concanavaline A sont incubées à 37°C et 5% de CO₂ pendant une nuit. Après centrifugation, les surnageants sont récoltés afin de doser le TNF- α par ELISA. Les valeurs présentent la moyenne \pm SD (n = 3). *** : p<0.001, ** : p<0.01, * : p<0.05, ns : non significatif vs. le contrôle (Ctrl) non traité avec les extraits.

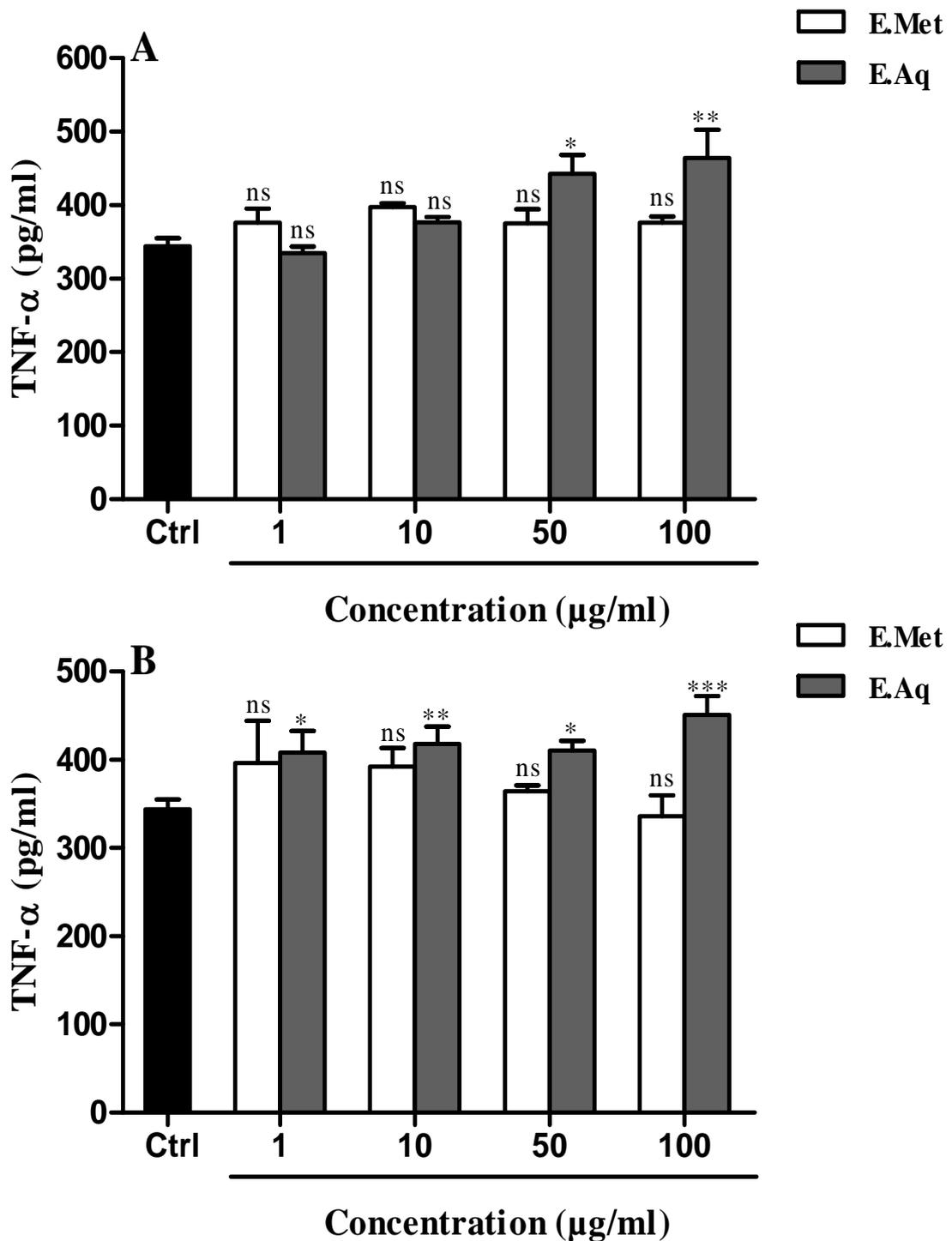


Figure 20: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur la production de TNF- α par les neutrophiles. Les cellules (4×10^5 cellules/ml) traitées par différentes concentrations (1, 10, 50 et 100 $\mu\text{g/ml}$) des extraits méthanoliques (E.Met) ou aqueux (E.Aq) et stimulées par 5 $\mu\text{g/ml}$ de concanavaline A sont incubées à 37°C et 5% de CO₂ pendant une nuit. Après centrifugation, les surnageants sont récoltés afin de doser le TNF- α par ELISA. Les valeurs présentent la moyenne \pm SD (n = 3). *** : p<0.001, ** : p<0.01, * : p<0.05, ns : non significatif vs. le contrôle (Ctrl) non traité avec les extraits.

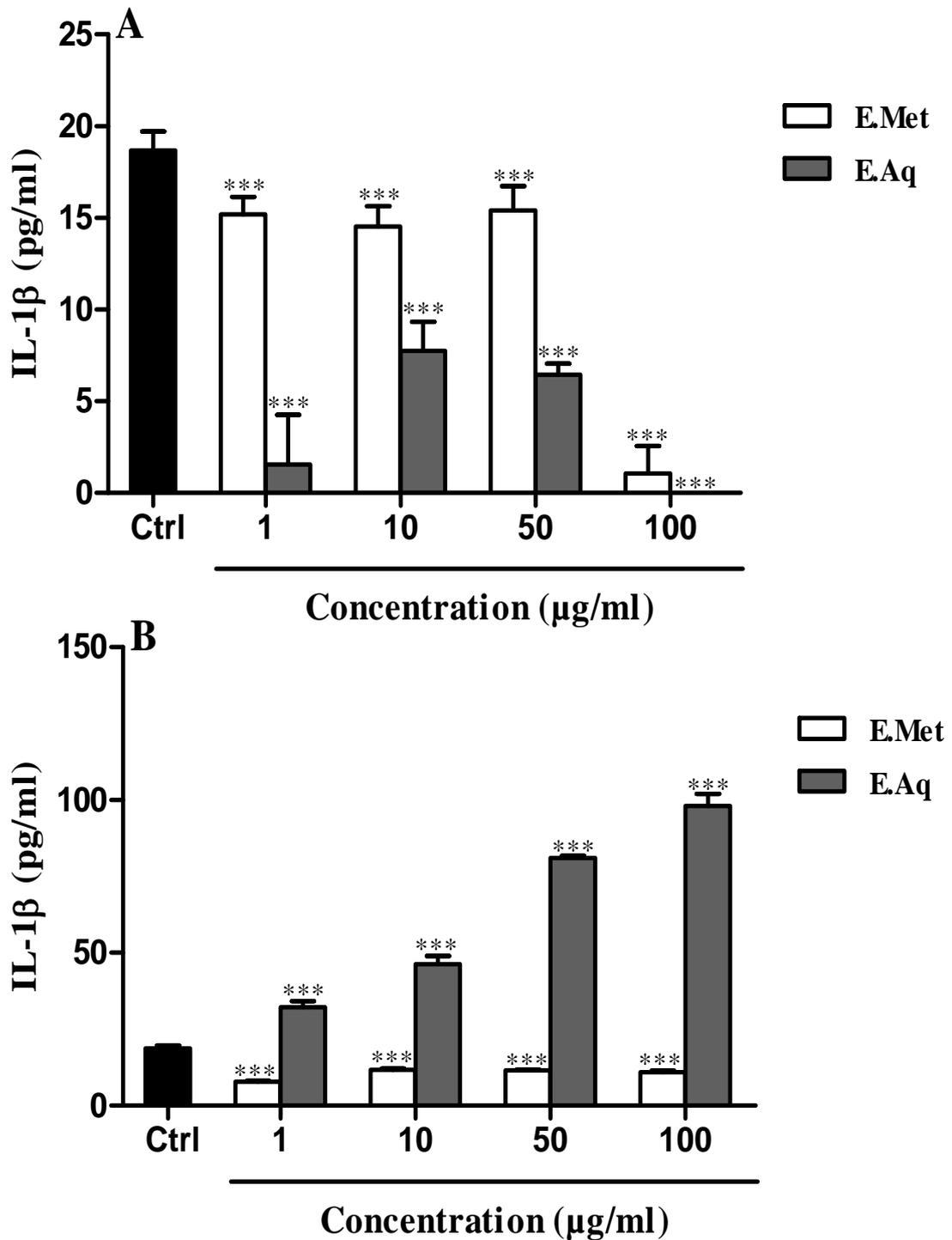


Figure 21: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur la production de l'IL-1 β par les mononucléaires périphériques. Les cellules (2×10^5 cellules/ml) traitées par différentes concentrations (1, 10, 50 et 100 $\mu\text{g/ml}$) des extraits méthanoliques (E.Met) ou aqueux (E.Aq) et stimulées par 5 $\mu\text{g/ml}$ de concanavaline A sont incubées à 37°C et 5% de CO₂ pendant une nuit. Après centrifugation, les surnageants sont récoltés afin de doser l'IL-1 β par ELISA. Les valeurs présentent la moyenne \pm SD (n = 3). *** : p<0.001 vs. le contrôle (Ctrl) non traité avec les extraits.

La capacité des PBMCs à produire l'IL-1 β est aussi diminuée par l'E.Met des bourgeons floraux. L'inhibition maximale est obtenue à 1 μ g/ml de cet extrait dont le pourcentage d'inhibition est de 58.15 \pm 1.83%. Comme c'est le cas pour le TNF- α , le traitement par l'E.Aq de cette partie de la plante augmente fortement et d'une manière dose dépendante la production de l'IL-1 β . A 100 μ g/ml, le taux de cette cytokine est augmenté de 3.46 fois, par rapport aux cellules non traitées (**Figure 21 B**).

L'incubation des PMNs en présence des différents extraits de *C. spinosa* a réduit significativement la sécrétion de l'IL-1 β (**Figure 22**). Dans le cas des extraits méthanolique et aqueux des feuilles, les meilleures inhibitions sont exercées par les faibles concentrations (1 et 10 μ g/ml) dont les pourcentages d'inhibition atteignent 34% et 31% pour les deux extraits. À fortes concentrations (50 et 100 μ g/ml), l'E.Met montre un effet inhibiteur puissant (28% et 25%, respectivement) que l'E.Aq qui exerce 17.41% et 11.8%, respectivement. Les inhibitions obtenues par les deux extraits des bourgeons floraux sont assez proches et varient entre 30% et 43%.

IV.2.1.3. Effet sur la production de l'IL-8

L'incubation des PBMCs stimulés avec les différents extraits des feuilles de *C. spinosa* a diminué la production de l'IL-8. En présence de l'E.Met cette inhibition n'est significative qu'à 1 μ g/ml dont le pourcentage d'inhibition est de 21%. Cette inhibition est très proche à celle obtenue par l'E.Aq à 1 μ g/ml (20%). Cet extrait a exercé aussi des inhibitions significatives (11%-18%) sur la production de de cette cytokine avec les autres concentrations testées (**Figure 23 A**). Les extraits méthanolique et aqueux des bourgeons floraux n'exercent aucun effet apparent sur la production de l'IL-8 (**Figure 23 B**).

A l'exception de l'E.Aq des feuilles qui ne présente aucun effet significatif sur la production de l'IL-8 par les PMNs Con A-stimulés, les autres extraits montrent un pouvoir inhibiteur important sur la production de cette cytokine (**Figure 24**). A 100 μ g/ml, l'E.Met des feuilles exerce la meilleure inhibition (54%), suivi par l'E.Aq des bourgeons floraux avec une inhibition de 28% puis l'E.Met qui exerce 19% d'inhibition.

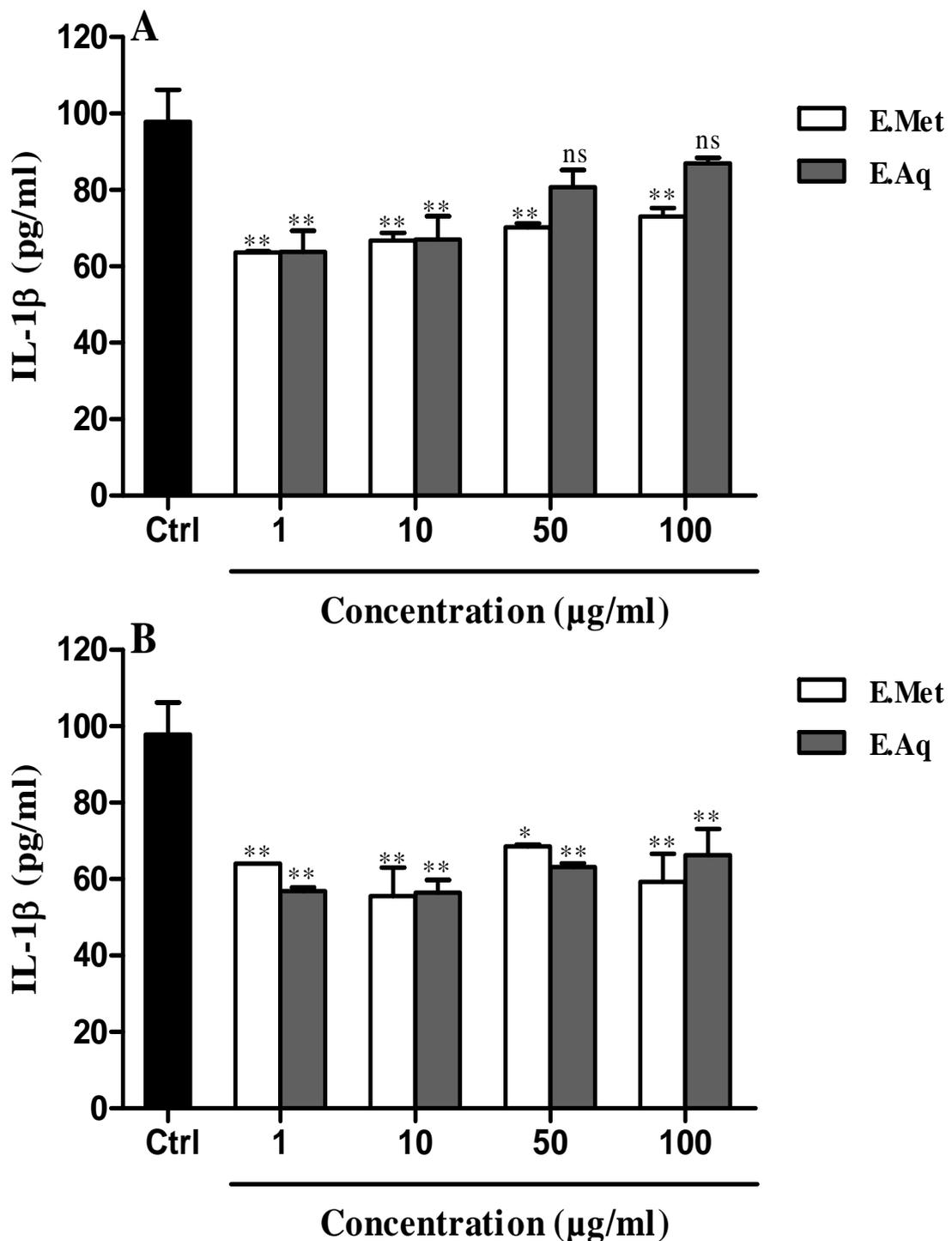


Figure 22: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur la production de l'IL-1 β par les neutrophiles. Les cellules (4×10^5 cellules/ml) traitées par différentes concentrations (1, 10, 50 et 100 $\mu\text{g/ml}$) des extraits méthanoliques (E.Met) ou aqueux (E.Aq) et stimulées par 5 $\mu\text{g/ml}$ de concanavaline A sont incubées à 37°C et 5% de CO₂ pendant une nuit. Après centrifugation, les surnageants sont récoltés afin de doser l'IL-1 β par ELISA. Les valeurs présentent la moyenne \pm SD (n = 3). **: p<0.01, * : p<0.05, ns : non significatif vs. le contrôle (Ctrl) non traité avec les extraits.

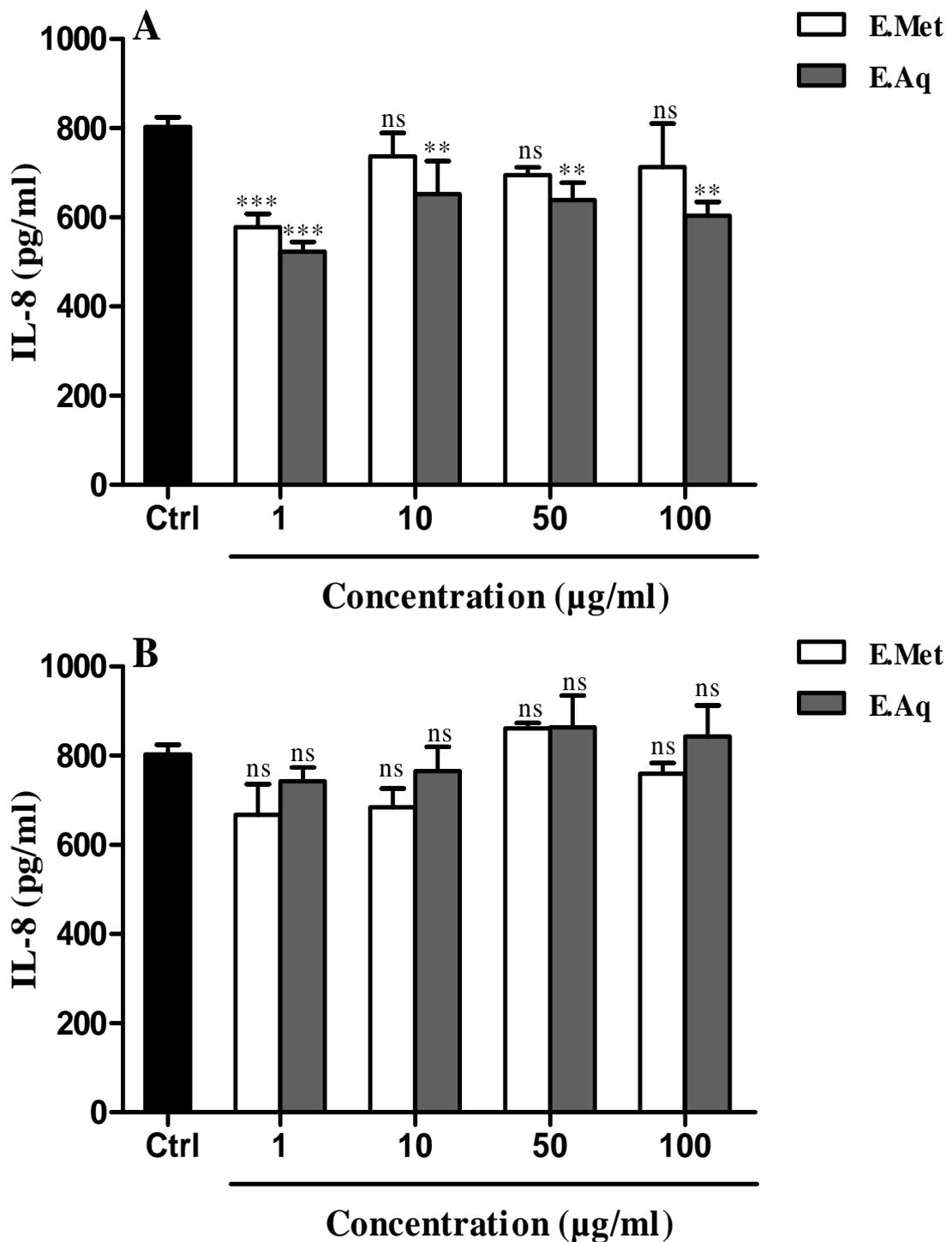


Figure 23: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur la production de l'IL-8 par les mononucléaires périphériques. Les cellules (2×10^5 cellules/ml) traitées par différentes concentrations (1, 10, 50 et 100 µg/ml) des extraits méthanoliques (E.Met) ou aqueux (E.Aq) et stimulées par 5 µg/ml de concanavaline A sont incubées à 37°C et 5% de CO₂ pendant une nuit. Après centrifugation, les surnageants sont récoltés afin de doser l'IL-8 par ELISA. Les valeurs présentent la moyenne ± SD (n = 3). *** : p<0.001, ** : p<0.01, ns : non significatif vs. le contrôle (Ctrl) non traité avec les extraits.

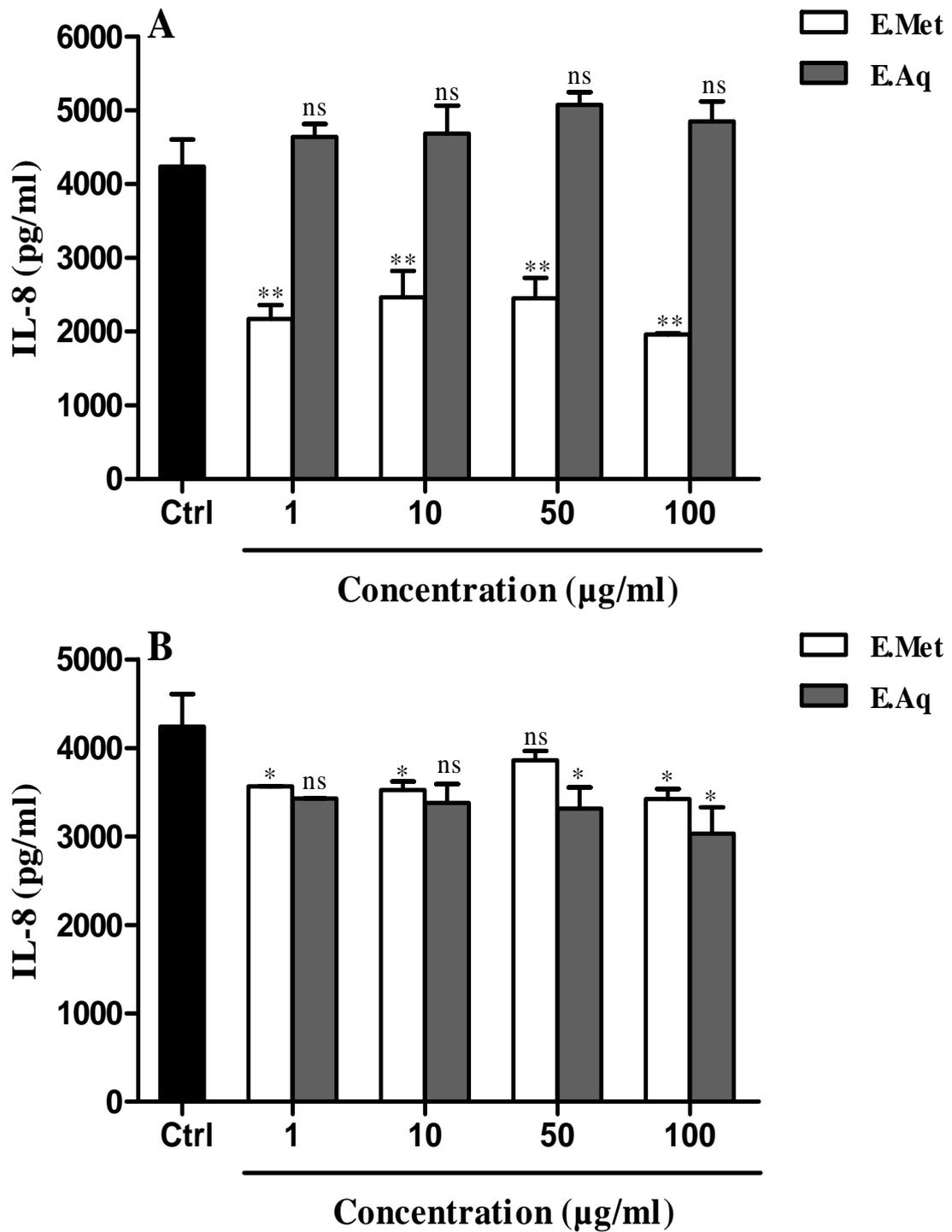


Figure 24: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur la production de l'IL-8 par les neutrophiles. Les cellules (4×10^5 cellules/ml) traitées par différentes concentrations (1, 10, 50 et 100 µg/ml) des extraits méthanoliques (E.Met) ou aqueux (E.Aq) et stimulées par 5 µg/ml de concanavaline A sont incubées à 37°C et 5% de CO₂ pendant une nuit. Après centrifugation, les surnageants sont récoltés afin de doser l'IL-8 par ELISA. Les valeurs présentent la moyenne ± SD (n = 3). **: p<0.01, * : p<0.05, ns : non significatif vs. le contrôle (Ctrl) non traité avec les extraits.

IV.2.1.4. Effet sur la production de l'IFN- γ

Les résultats obtenus montrent que le traitement des PBMCs avec les extraits méthanolique et aqueux des feuilles de *C. spinosa* prévient significativement la production de l'IFN- γ (**Figure 25 A**). A 100 $\mu\text{g/ml}$, les inhibitions obtenues par les deux extraits sont statistiquement identiques et de l'ordre de 75% pour l'E.Met et 77% pour l'E.Aq. Dans le cas des extraits des bourgeons floraux, la production de l'IFN- γ est significativement diminuée sous l'effet des fortes concentrations (100 et 50 $\mu\text{g/ml}$) de deux extraits. A 100 $\mu\text{g/ml}$, l'E.Met exerce un effet de 45% et l'E.Aq exerce un effet de 53% (**Figure 25 B**).

D'un autre côté, l'incubation des neutrophiles avec les différentes concentrations des extraits méthanolique et aqueux des feuilles de *C. spinosa* a réduit significativement la production de l'IFN- γ (**Figure 26 A**). L'E.Met avec 17%-40% d'inhibition semble être plus puissant que l'E.Aq qui n'est significatif qu'à 100 $\mu\text{g/ml}$ (16%). Les résultats obtenus montrent aussi que L'E.Aq des bourgeons floraux prévient la production d'IFN- γ avec un taux d'inhibition qui peut atteindre 41% à 100 $\mu\text{g/ml}$. Contrairement à l'E.Aq, l'E.Met de cette partie de la plante ne montre aucun effet significatif (**Figure 26 B**).

IV.2.2. Effet sur la production des cytokines anti-inflammatoires

IV.2.2.1. Effet sur la production de l'IL-10

La stimulation des PBMCs par la Con A induit une production relativement faible de l'IL-10 (10.77 ± 0.72 pg/ml). En comparaison avec les cellules non stimulées cette sécrétion est hautement significative ($p < 0.001$). Le traitement des cellules avec les extraits de *C. spinosa* n'induit aucun changement significatif sur la production de cette cytokine (**Figure 27**).

IV.2.2.2. Effet sur la production de TGF- β

La Con A stimule fortement la production du TGF- β (507.68 ± 10.14 pg/ml) par les PBMCs, en comparaison avec la concentration basale (337.63 ± 10.14 pg/ml). Comme il est illustré dans la **Figure 28**, seulement le traitement des cellules par l'E.Aq des bourgeons floraux qui montre une inhibition significative sur la production de cette cytokine (33%-46%). A 100 $\mu\text{g/ml}$, l'E.Met de cette partie de la plante montre aussi une légère augmentation (19%) dans le taux de TGF- β .

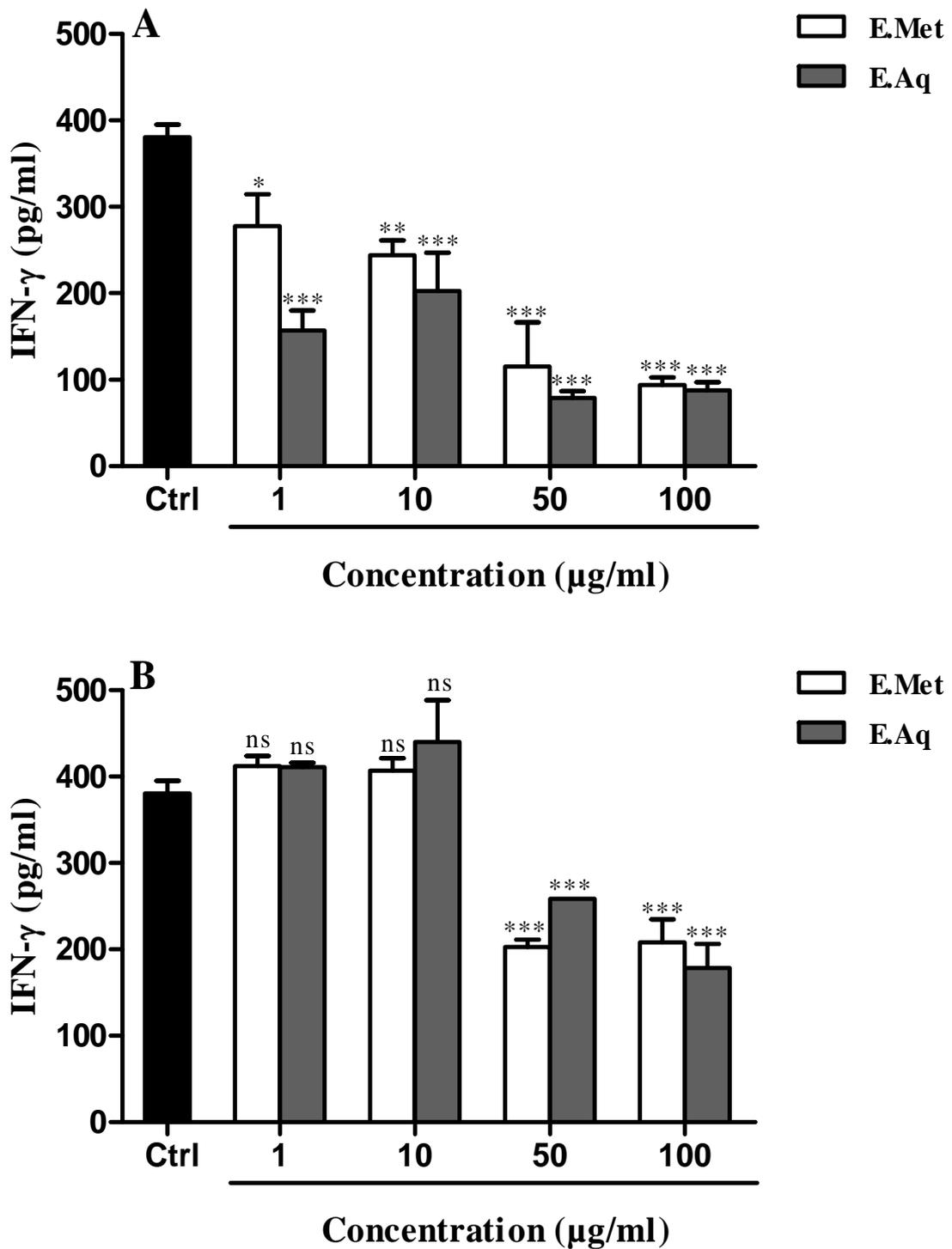


Figure 25: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur la production de l'IFN- γ par les mononucléaires périphériques. Les cellules (2×10^5 cellules/ml) traitées par différentes concentrations (1, 10, 50 et 100 $\mu\text{g/ml}$) des extraits méthanoliques (E.Met) ou aqueux (E.Aq) et stimulées par 5 $\mu\text{g/ml}$ de concanavaleine A sont incubées à 37°C et 5% de CO₂ pendant une nuit. Après centrifugation, les surnageants sont récoltés afin de doser l'IFN- γ par ELISA. Les valeurs présentent la moyenne \pm SD (n = 3). *** : p<0.001, ** : p<0.01, * : p<0.05, ns : non significatif vs. le contrôle (Ctrl) non traité avec les extraits.

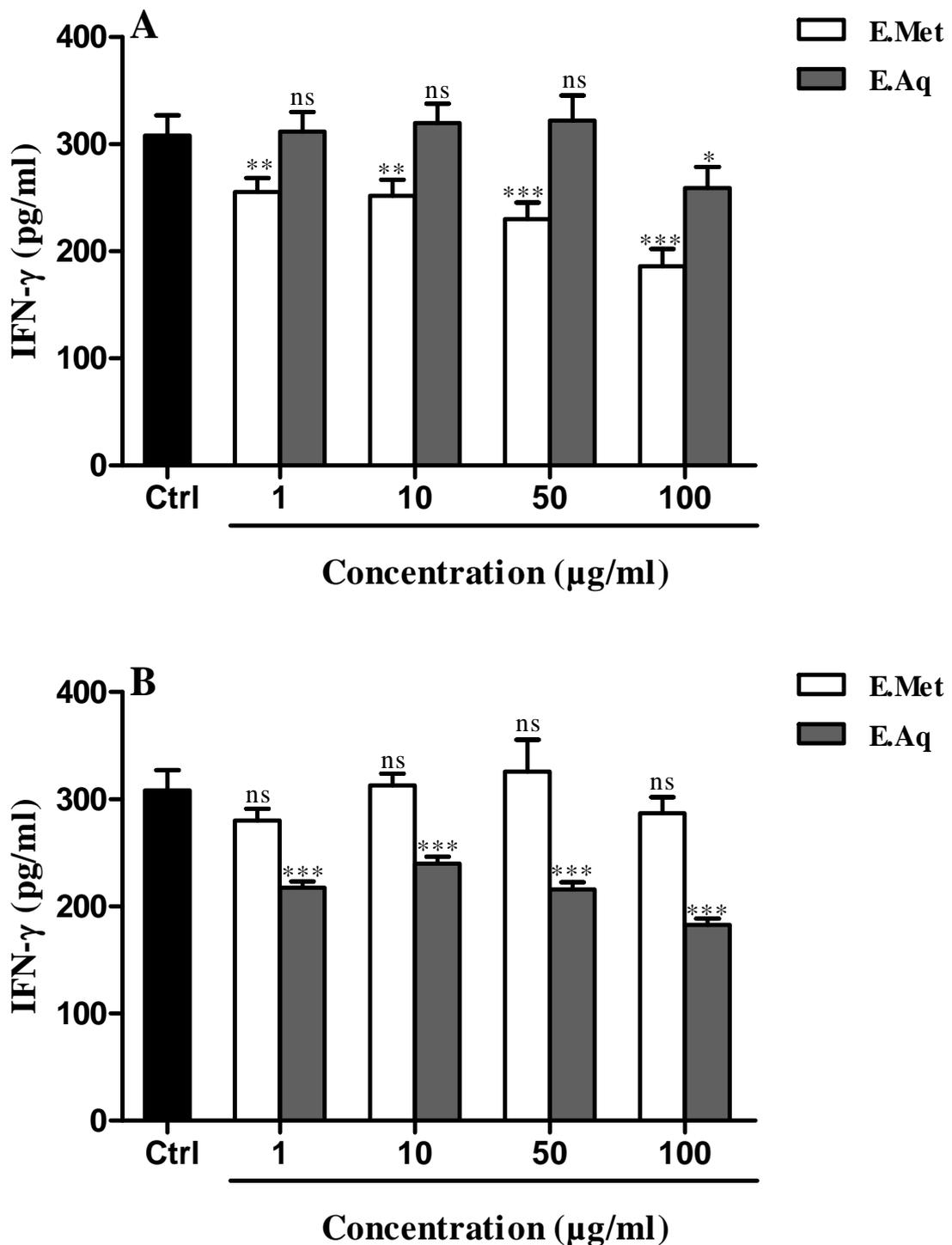


Figure 26: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur la production de l'IFN- γ par les neutrophiles. Les cellules (4×10^5 cellules/ml) traitées par différentes concentrations (1, 10, 50 et 100 $\mu\text{g/ml}$) des extraits méthanoliques (E.Met) ou aqueux (E.Aq) et stimulées par 5 $\mu\text{g/ml}$ de concanavaline A sont incubées à 37°C et 5% de CO₂ pendant une nuit. Après centrifugation, les surnageants sont récoltés afin de doser l'IFN- γ par ELISA. Les valeurs présentent la moyenne \pm SD (n = 3). *** : p<0.001, ** : p<0.01, * : p<0.05, ns : non significatif vs. le contrôle (Ctrl) non traité par les extraits.

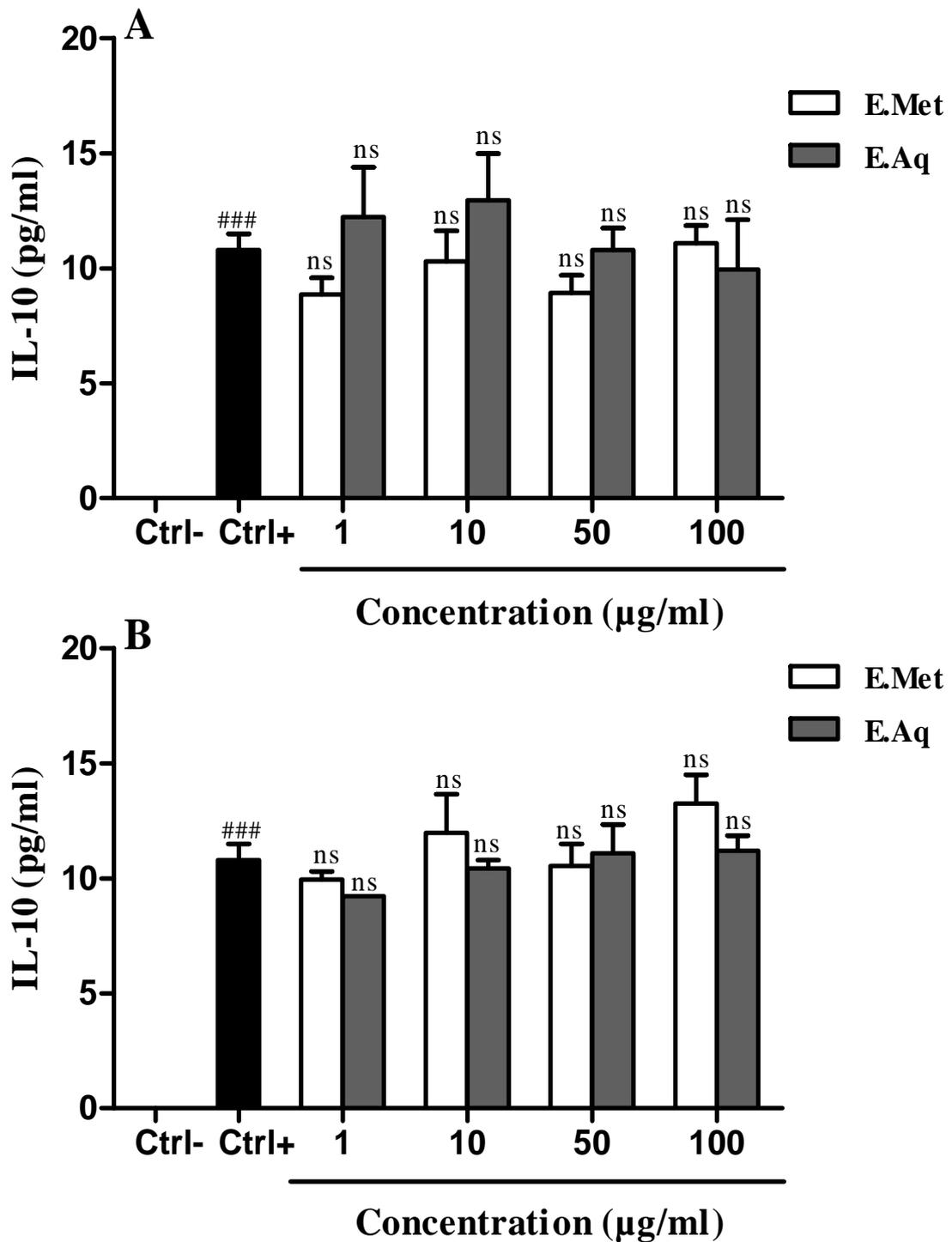


Figure 27: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur la production de l'IL-10. Les mononucléaires périphériques (2×10^5 cellules/ml) traités par différentes concentrations (1, 10, 50 et 100 µg/ml) des extraits méthanoliques (E.Met) ou aqueux (E.Aq) et stimulés par 5 µg/ml de concanavaline A sont incubés à 37°C et 5% de CO₂ pendant une nuit. Après centrifugation, les surnageants sont récoltés afin de doser l'IL-10 par ELISA. Les valeurs présentent la moyenne ± SD (n = 3). ### : p<0.001 vs. le contrôle négatif (Ctrl⁻ : cellules non stimulées et non traitées avec les extraits). ns : non significatif vs. le contrôle positif (Ctrl⁺ : cellules stimulées et non traitées par les extraits).

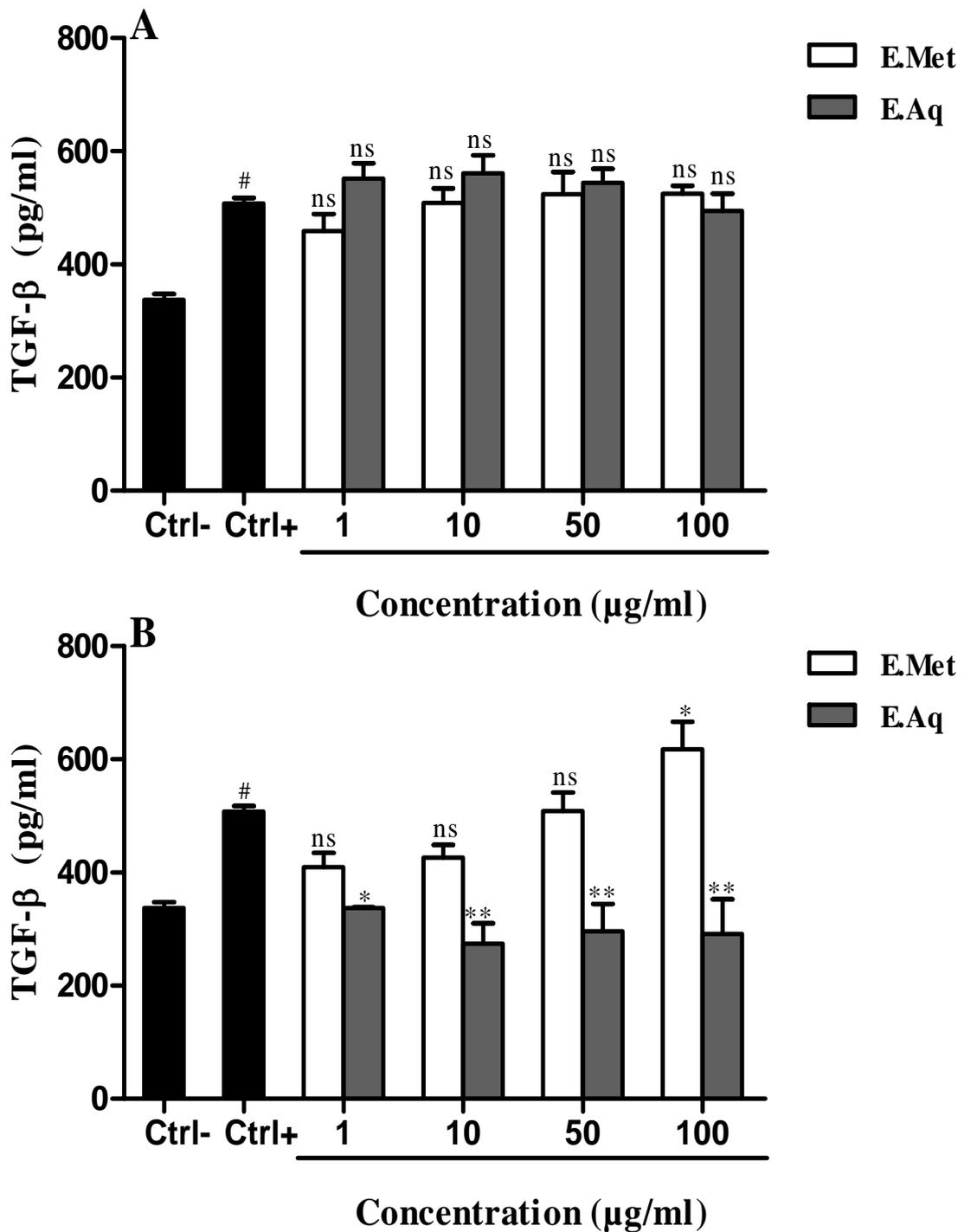


Figure 28: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur la production de TGF- β . Les mononucléaires périphériques (2×10^5 cellules/ml) traités par différentes concentrations (1, 10, 50 et 100 $\mu\text{g/ml}$) des extraits méthanoliques (E.Met) ou aqueux (E.Aq) et stimulés par 5 $\mu\text{g/ml}$ de concanavaline A sont incubés à 37°C et 5% de CO₂ pendant une nuit. Après centrifugation, les surnageants sont récoltés afin de doser le TGF- β par ELISA. Les valeurs présentent la moyenne \pm SD ($n = 3$). #: $p < 0.001$ vs. le contrôle négatif (Ctrl⁻: cellules non stimulées et non traitées avec les extraits). **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$, ns: non significatif vs. le contrôle positif (Ctrl⁺: cellules stimulées et non traitées avec les extraits).

IV.2.3. Effet sur la production de leucotriène B4

Dans les conditions basales, les neutrophiles produisent 125.81 ± 11.93 ng/ml de LTB4. Cette production est significativement augmentée ($p < 0.05$) après l'exposition des cellules au Con A. Cette augmentation est d'un facteur 1.34 en comparaison avec la production spontanée. Comme il est illustré dans la **Figure 29 A**, seulement le traitement des cellules par l'E.Met des bourgeons floraux qui montre une réduction significative de la production de LTB4. Toutes les concentrations testées de cet extrait donnent 21%-25% d'inhibition. Les autres extraits n'ont montré aucune inhibition sur les productions de LTB4.

IV.2.4. Effet sur la production de l'anion superoxyde

Les neutrophiles activés par l'fMLP en présence de cytochalasine B libèrent une quantité importante de l'anion superoxyde ($9.06 \mu\text{M}/10^6$ PMNs) en comparaison avec les neutrophiles non activés qui libèrent spontanément $3.31 \mu\text{M}/10^6$ PMNs de ce radical.

Le prétraitement des neutrophiles par les extraits de *C. spinosa* prévient significativement ($p < 0.001$) la production de l'anion superoxyde (**Figure 30**). A $100 \mu\text{g/ml}$, l'E.Met et l'E.Aq des feuilles exercent un effet inhibiteur maximal de $70.39 \pm 8.73\%$ et $53.01 \pm 1.03\%$, respectivement. Ces inhibitions sont proches de celles obtenues par les deux extraits des bourgeons floraux ($71.16 \pm 8.89\%$ et $66.91 \pm 2.66\%$), mais restent un peu moins que celle obtenue par la SOD ($80 \pm 8.89\%$).

IV.3. Effet sur l'activité de la myéloperoxydase

Les résultats obtenus montrent que l'incubation du surnageant enzymatique en présence de différentes concentrations des extraits méthanolique et aqueux des feuilles et des bourgeons floraux de *C. spinosa* inhibe l'activité de la myéloperoxydase (**Figure 31**). A fortes concentrations (50 et $100 \mu\text{g/ml}$), les inhibitions obtenues par tous les extraits sont assez proches et varient entre 56%-67%. Cependant, aux faibles concentrations (1 et $10 \mu\text{g/ml}$), les extraits des feuilles semblent être plus actifs que les extraits des bourgeons floraux qui ne montrent aucun effet significatif.

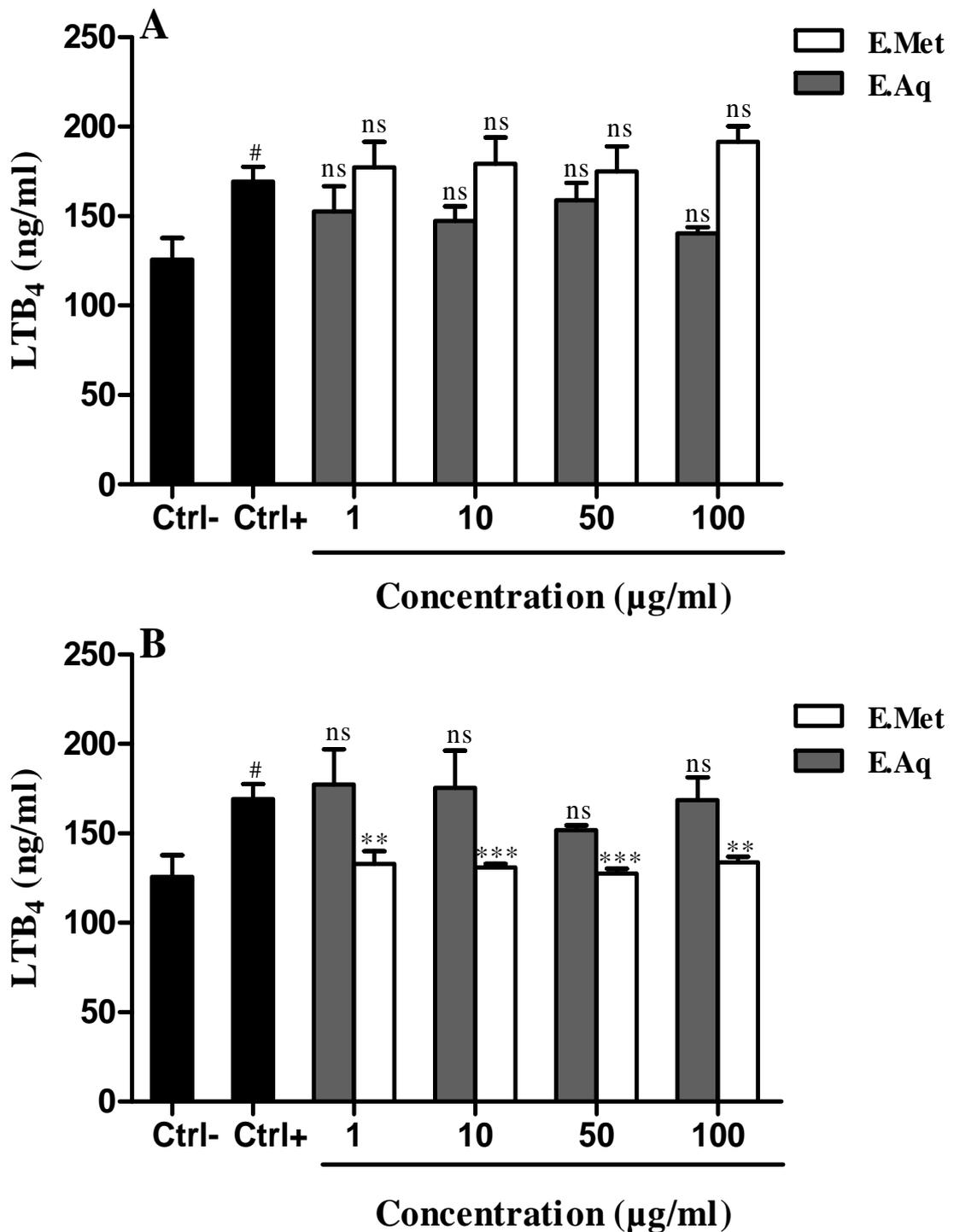


Figure 29: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur la production de LTB₄. Les neutrophiles (4×10^5 cellules/ml) traités par différentes concentrations (1, 10, 50 et 100 µg/ml) des extraits méthanoliques (E.Met) ou aqueux (E.Aq) et stimulés par 5 µg/ml de concanavaline A sont incubés à 37°C et 5% de CO₂ pendant une nuit. Après centrifugation, les surnageants sont récoltés afin de doser le LTB₄ par ELISA. Les valeurs présentent la moyenne ± SD (n = 3). # : p<0.001 vs. le contrôle négatif (Ctrl⁻ : cellules non stimulées et non traitées avec les extraits). *** : p<0.001, ** : p<0.01, ns : non significatif vs. le contrôle positif (Ctrl⁺ : cellules stimulées et non traitées avec les extraits).

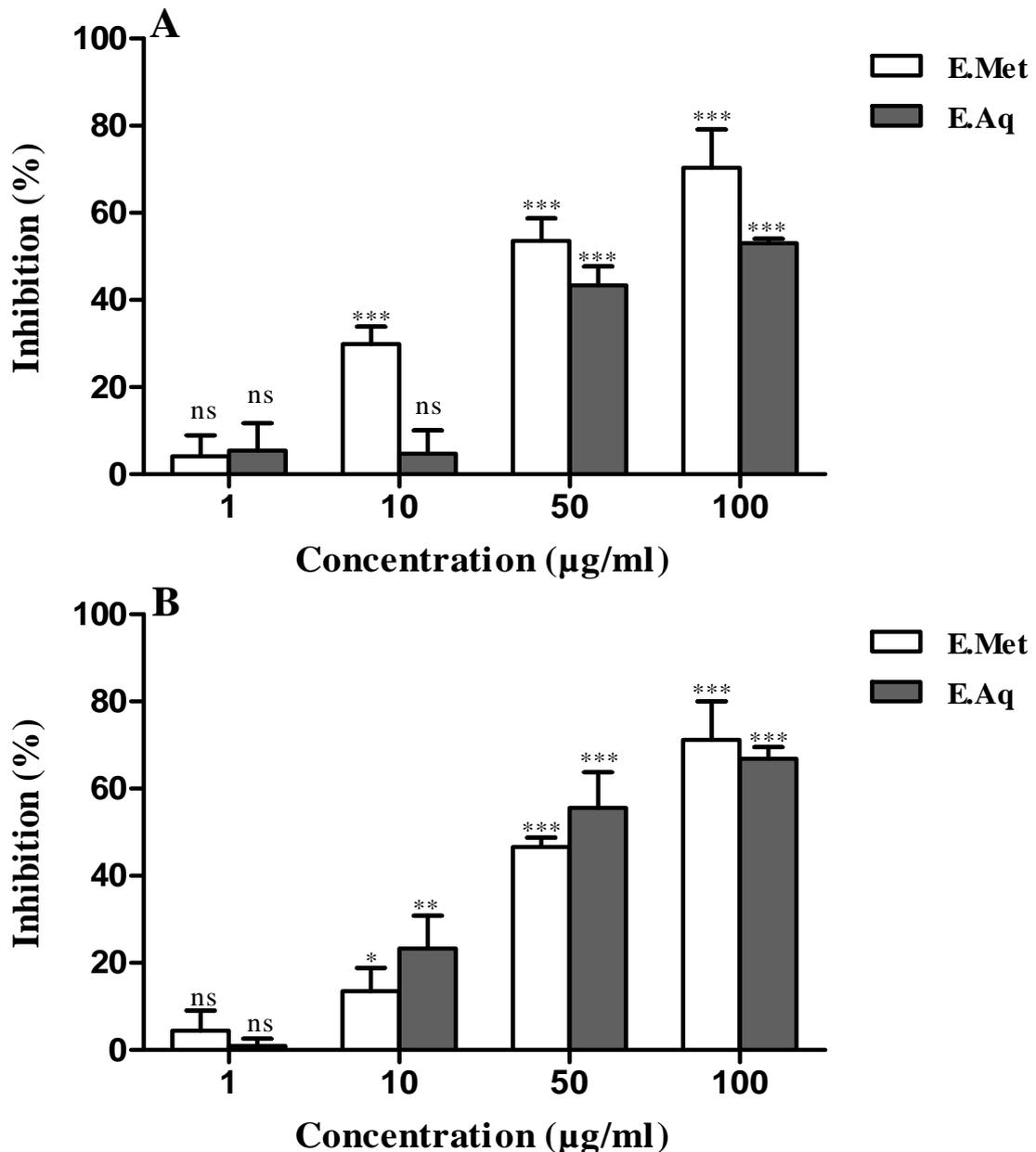


Figure 30: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur la production de l'anion superoxyde par les neutrophiles. Les neutrophiles (2.5×10^6 cellules/ml) préincubés à 37°C pendant 10 min en présence de différentes concentrations (1, 10, 50 et 100 µg/ml) de l'extrait méthanolique (E.Met) ou aqueux (E.Aq) des deux parties de la plante sont activés par l'fMLP/cytochalasine B (10^{-6} M/ 10^{-5} M) et incubés en présence de cytochrome C (0.2 mg/ml) à 37°C pendant 15 min. Après centrifugation, la réduction de cytochrome C est mesurée à 550 nm. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la production des anions superoxydes par rapport au contrôle (cellules stimulées et non traitées par les extraits) considéré comme le 100%. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n = 3$). *** : $p < 0.001$, ** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$, ns : non significative vs. le contrôle.

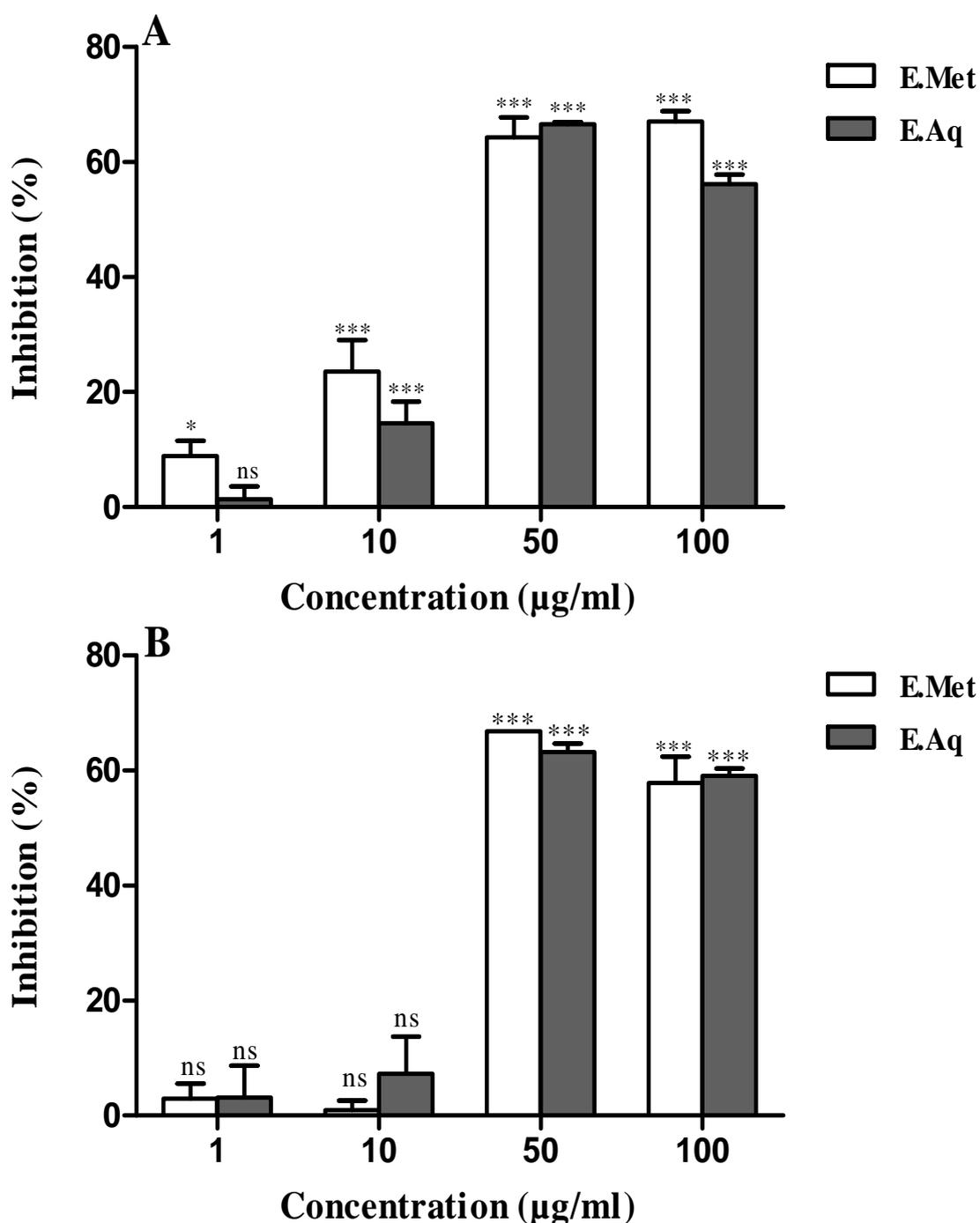


Figure 31: Effet des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur l'activité de la myéloperoxydase. Le surnageant contenant la myéloperoxydase (MPO) libérée par les neutrophiles-fMLP stimulés (5.5×10^6 cellules/ml) est incubé avec différentes concentrations (1, 10, 50, 100 µg/ml) des extraits méthanoliques (E.Met) ou aqueux (E.Aq) pendant 10 min à 37°C. Après l'addition du tétraméthylbenzidine et de H₂O₂, l'activité de la MPO est détectée par mesure de l'absorbance à 405 nm. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la production de la MPO par rapport au contrôle (surnageant non traité par les extraits) considéré comme le 100%. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n = 3$). *** : $p < 0.001$, * : $p < 0.05$, ns : non significatif vs. le contrôle.

IV.4. Effet stabilisant de la membrane plasmique

Les résultats montrent que le traitement des érythrocytes humains par le milieu hypotonique induit une altération des membranes plasmiques ce qui conduit à leur hémolyse. Le traitement par les extraits de *C. spinosa* protège de manière hautement significative ($p < 0.001$) les érythrocytes contre cette hémolyse (**Tableau 4**). La meilleure protection est obtenue par les extraits méthanoliques qui exercent environ 94% de protection. Les extraits aqueux montrent une activité relativement faible de 56%. L'activité antihémolytique de tous les extraits est supérieure à celle exercée par l'aspirine à 100 $\mu\text{g/ml}$ qui est de 13%.

Tableau 4 : Effet protecteur des extraits de *C. spinosa* contre l'hémolyse des hématies humaines induites par le milieu hypotonique.

	Extrait	Inhibition (%)
Feuilles	Met	93.03 \pm 0.11***
	Aq	56.25 \pm 1.43***
Bourgeons	Met	94.26 \pm 0.62***
	Aq	55.94 \pm 0.46***
Aspirine		13.01 \pm 1.73*

Les valeurs représentent la moyenne \pm SD ($n = 3$). Met : extrait méthanolique, Aq : extrait aqueux. *** : $p < 0.001$, * : $p < 0.05$ vs. le contrôle non traité avec les extraits.

V. Activité antioxydante des extraits de *Capparis spinosa*

V. 1. Effet anti-radicalaire du radical DPPH

Les résultats illustrés dans la **Figure 32** indiquent clairement que tous les extraits testés montrent une activité anti-radicalaire dose-dépendante très importante vis-à-vis du radical DPPH. Les profils de cette activité révèlent que l'E.Met des feuilles est le plus actif que les autres extraits. En effet, une concentration de 50.61 $\mu\text{g/ml}$ seulement de cet extrait est nécessaire pour peiger 50% de radical DPPH (**Tableau 5**). Cette concentration est meilleure que celle obtenue avec le BHT, utilisé comme un antioxydant standard.

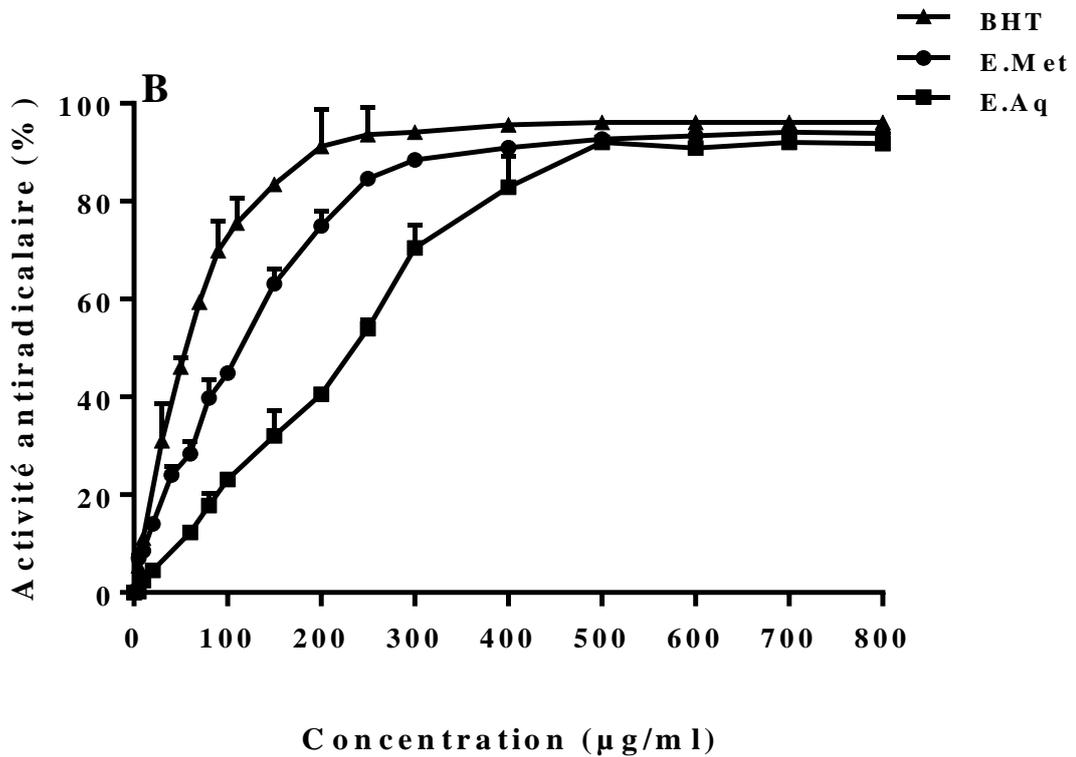
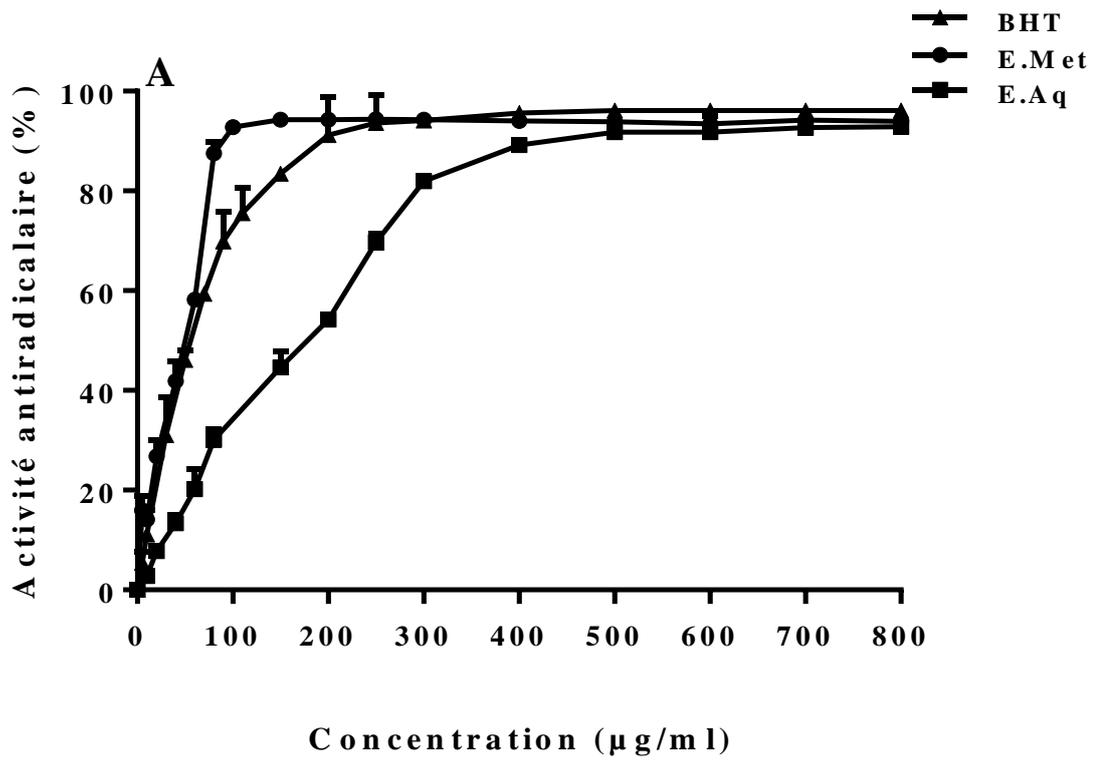


Figure 32: Activité anti-radicalaire des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa*. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n = 3$).

Tableau 5 : Concentration inhibitrice (IC₅₀) ou effective (EC₅₀) de l'activité anti-radicalaire, chélatrice et réductrice des extraits de *C. spinosa*.

Extrait		Activité anti-radicalaire	Activité chélatrice	Activité réductrice
		IC ₅₀ (µg/mg)	EC ₅₀ (µg/mg)	IC ₅₀ (µg/mg)
Feuilles	Met	50.61 ± 4.23	169.19 ± 6.85	81.58 ± 10.39
	Aq	177.54 ± 2.59	315.49 ± 15.01	144.48 ± 5.67
Bourgeons	Met	117.13 ± 5.87	171.16 ± 1.17	119.71 ± 3.64
	Aq	226.97 ± 7.11	947.82 ± 30.04	199.28 ± 11.84
BHT/EDTA		58.64 ± 1.89	5.97 ± 0.17	15.95 ± 0.61

Les valeurs représentent la moyenne ± SD (*n* = 3). Met : extrait méthanolique, Aq : extrait aqueux

V.2. Effet chélateur du fer ferreux

Les extraits de *C. spinosa* montrent une activité chélatrice concentration dépendante. Les deux extraits méthanoliques représentent une activité chélatrice très importante en comparaison avec les extraits aqueux. Cette activité atteint son maximum (89% et 53%) à 400 µg/ml de l'extrait méthanolique et aqueux des feuilles, respectivement (**Figure 33**). A la même concentration, l'E.Met des bourgeons floraux exerce aussi une chélation maximale de 86%. Alors que, l'E.Aq représente un effet chélateur relativement faible de 25% à 600 µg/ml. L'EDTA utilisé comme chélateur standard, présente toujours une activité chélatrice la plus puissante (**Tableau 5**).

V.3. Pouvoir réducteur

Les extraits méthanolique et aqueux des deux parties de *C. spinosa* montrent un pouvoir réducteur concentration-dépendant (**Figure 34**). Les profils d'absorbance à 700 nm obtenus révèlent que les deux extraits méthanoliques possèdent un pouvoir réducteur plus puissant que celui des extraits aqueux. En effet, d'après les valeurs d'IC₅₀, l'E.Met des feuilles semble être le plus actif suivi dans l'ordre par l'E.Met des bourgeons floraux, l'E.Aq des feuilles et en dernier lieu l'E.Aq des bourgeons floraux. Le BHT utilisé comme un antioxydant standard est le plus puissant (**Tableau 5**).

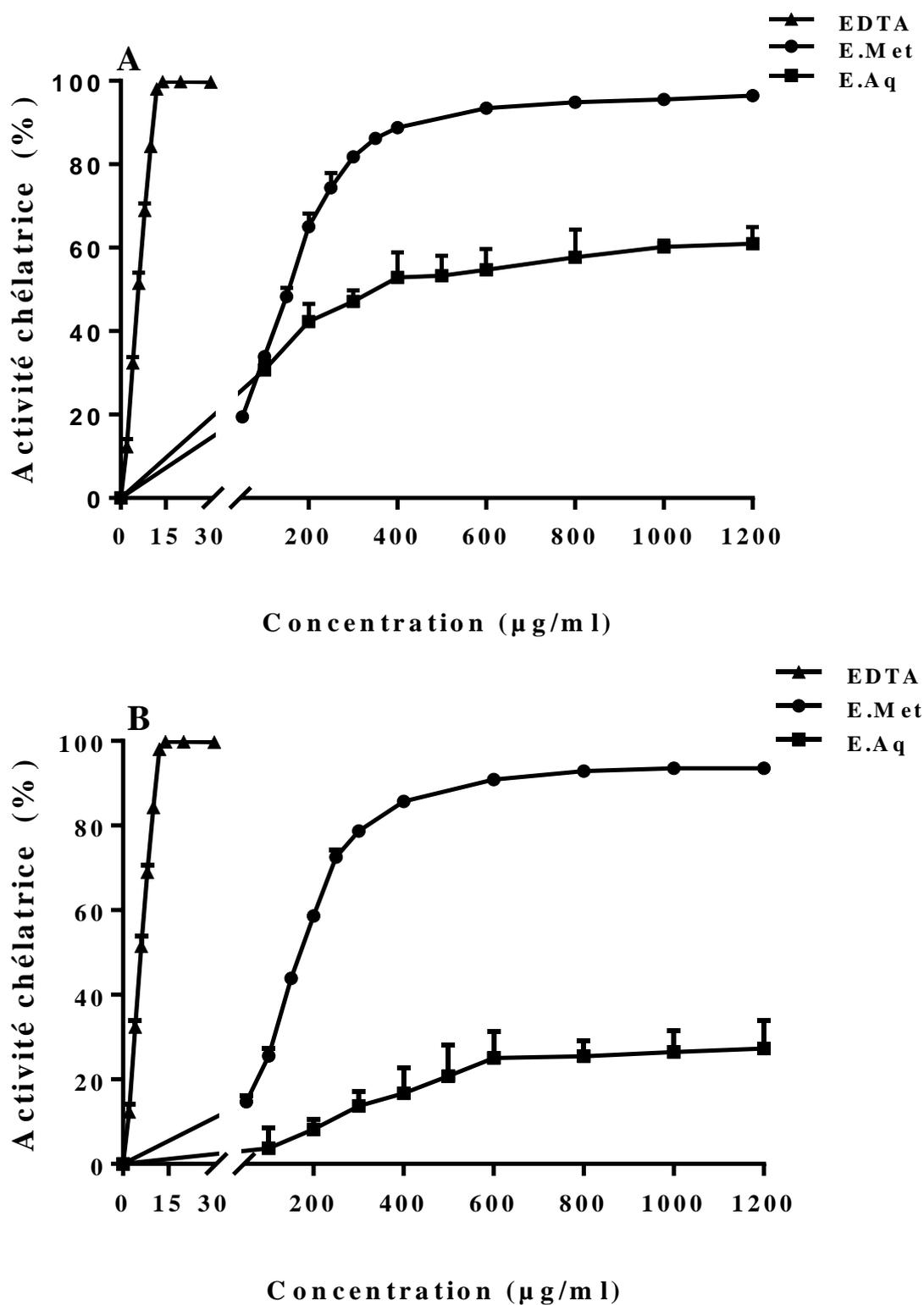


Figure 33: Activité chélatrice du fer ferreux des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa*. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n = 3$).

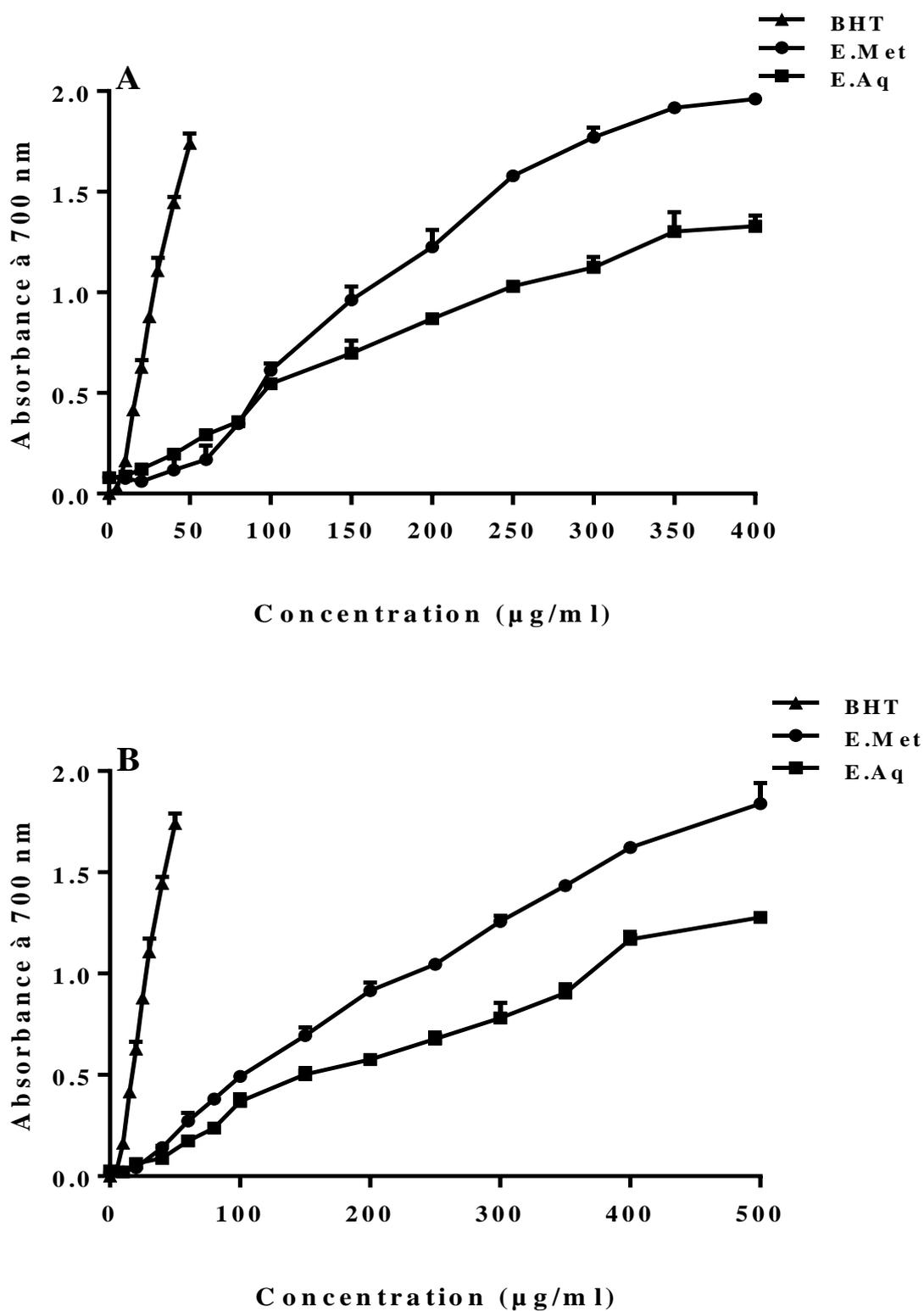


Figure 34: Pouvoir réducteur des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa*. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n = 3$).

V.4. Effet sur le blanchiment de la β -carotène

Le suivi de la cinétique du blanchissement de β -carotène pendant 2 h a révélé que tous les extraits ainsi que le BHT inhibent de manière significative ($p < 0.05$) l'oxydation couplée de l'acide linoléique/ β -carotène par rapport au contrôle négatif (**Figure 35**). L'E.Aq des feuilles semble être le meilleur inhibiteur de l'oxydation de l'acide linoléique avec 72%. Cette inhibition est similaire à celle obtenue avec le BHT (74%), suivi dans l'ordre par l'E.Met des feuilles avec 66%, puis l'E.Aq et l'E.Met des bourgeons floraux avec 55% et 48%, respectivement.

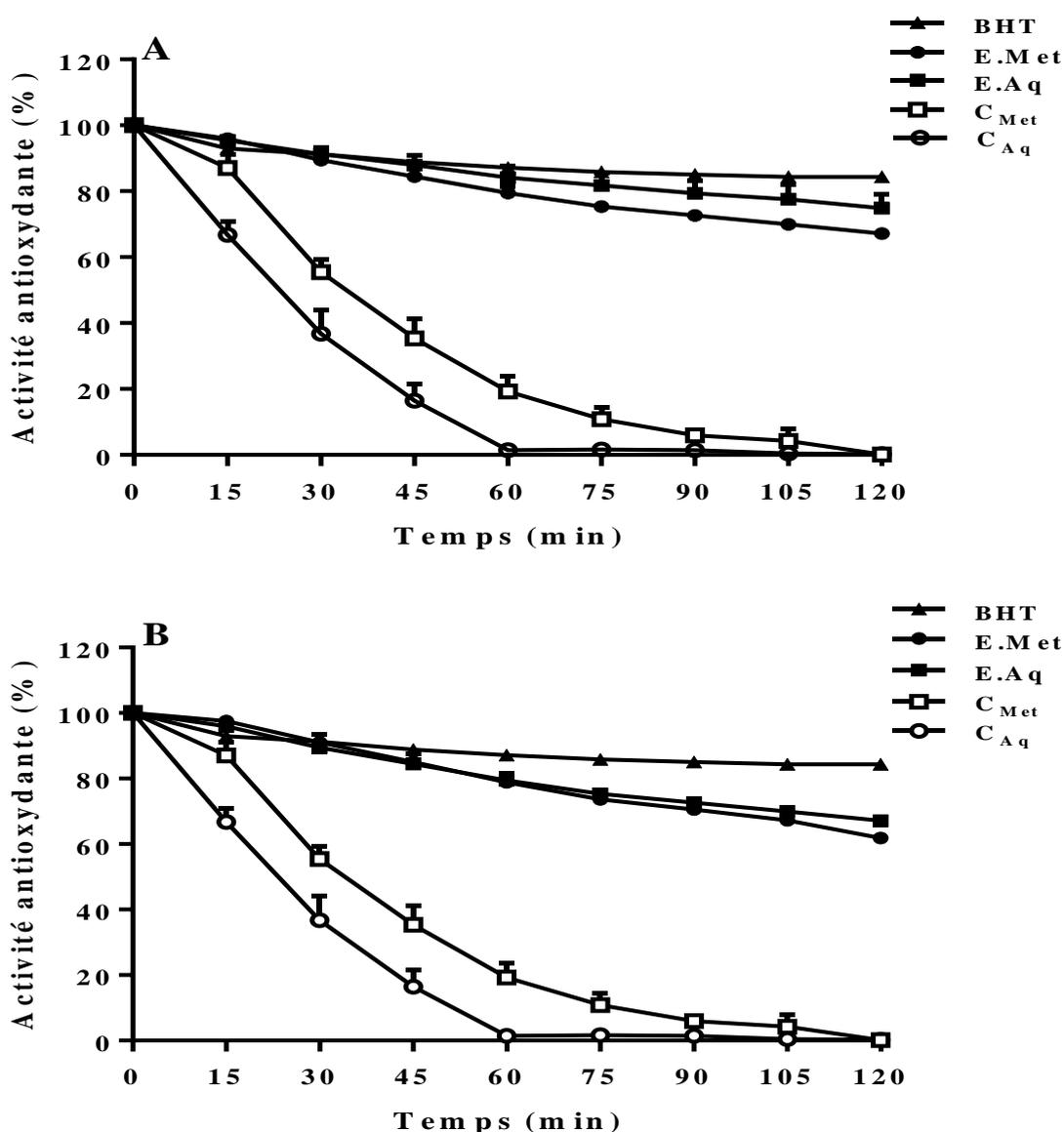


Figure 35: Effets des extraits des feuilles (A) et des bourgeons floraux (B) de *C. spinosa* sur le blanchiment de β -carotène. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n = 3$).

DISCUSSION

DISCUSSION

La physiopathologie de nombreuses maladies inflammatoires telles que l'athérosclérose, l'arthrite rhumatoïde, les maladies chroniques de l'intestin, l'Alzheimer et le cancer est due à une production accrue des médiateurs pro-inflammatoires à savoir les cytokines pro-inflammatoires, les médiateurs lipidiques et les enzymes hydrolytiques destructives. Par conséquent, ces médiateurs font la cible privilégiée de plusieurs anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. Cependant, l'usage prolongé de ces médicaments provoque des troubles métaboliques et endocriniens, cardiovasculaires, gastro-intestinaux et rénaux (Strehl et *al.*, 2011 ; Bernstein et *al.*, 2017). Dès lors, la recherche de médicaments alternatifs plus fiables avec moins d'effets indésirables s'avère nécessaire. Les plantes médicinales par leur richesse en métabolites secondaires qui sont doués de nombreuses activités biologiques peuvent être la source idéale de ces médicaments.

C. spinosa est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques incluant l'activité anti-inflammatoire (Tlili et *al.*, 2011 ; Anwar et *al.*, 2016 ; Chedraoui et *al.*, 2017). Malgré que cette activité est étudiée auparavant, le mécanisme anti-inflammatoire de cette plante n'est pas encore bien élucidé. De ce fait, dans cette étude, l'effet des extraits méthanoliques et aqueux des feuilles et des bourgeons floraux de cette plante sur l'inflammation et sur certains médiateurs clés (cytokines, LTB₄, MPO et ROS) de cette réaction est investigué.

I. Extraction et analyse phytochimique des extraits de *Capparis spinosa*

L'extraction des métabolites secondaires dépend de plusieurs paramètres, dont certains sont liés au matériel végétal et d'autres sont dépendants du type d'extraction, de la nature du solvant utilisé, de la température et de la durée du processus d'extraction (Terblanche et *al.*, 2017). Le matériel végétal utilisé dans la présente étude est le broyat des feuilles et des bourgeons floraux de *C. spinosa* déjà séché à l'ombre et à température ambiante. Le séchage à l'obscurité prévient les transformations chimiques ou enzymatiques des molécules. Alors que, l'utilisation de la poudre à la place de la plante entière a pour but d'améliorer l'extraction du fait de rendre l'échantillon plus homogène, augmenter la surface du contact avec le solvant et faciliter sa pénétration à l'intérieur des cellules (Jones et Kinghorn, 2005 ; Seidel, 2005).

Le type du solvant constitue un facteur crucial qui influence sur le rendement d'extraction en métabolites secondaires des extraits. En effet, chaque solvant, selon sa polarité ne peut extraire que les composés de la même ou de très proche polarité (Mottaleb et Sarker, 2012). Pour cela, l'eau ne peut extraire que les composés polaires, alors que le méthanol avec sa capacité d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires extrait un grand nombre de métabolites secondaires polaires, de moyenne et de faible polarité (Seidel, 2005). L'utilisation d'un mélange hydroalcoolique augmente aussi le rendement d'extraction, il extrait à la fois des composés solubles dans l'eau et dans le méthanol. En effet, des études antérieures ont montré que le mélange méthanol/eau à différents ratios représente les meilleurs rendements en métabolites (Khoddami et *al.*, 2013).

L'extraction méthanolique est menée sous agitation pendant 24 h ce qui permet l'accélération du processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait en préservant la bio-activité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite permet d'obtenir le maximum de composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction (Seidel, 2005). Cependant, l'extraction aqueuse a montré un rendement plus élevé que l'extraction méthanolique, cela peut être dû probablement à l'effet thermique, du fait que la température élevée provoque la perturbation des cellules et facilite la pénétration de l'eau et la solubilisation des molécules amphiphiles (Albano et Miguel, 2011).

L'abondance de polyphénols et flavonoïdes dans les extraits méthanoliques de *C. spinosa* est expliquée par la capacité du méthanol à solubiliser une large gamme de composés phénolique comme les anthocyanines, acides phénoliques, catéchines, flavonoïdes et procyanidines (Bleve et *al.*, 2008 ; Ross et *al.*, 2009) en comparaison avec l'eau qui extrait préférentiellement les procyanidines et les flavanols (Diouf et *al.*, 2009). De même, l'utilisation du mélange méthanol/eau augmente la capacité du méthanol à extraire en plus les métabolites hydrophiles comme les tanins.

Les résultats de cette étude montrent que les extraits méthanoliques et aqueux des deux parties de la plante renferment des quantités importantes en polyphénols totaux. En effet, plusieurs études ont montré la richesse de *C. spinosa* en composés phénoliques (Bhoyar et *al.*, 2011 ; Akkari et *al.*, 2016; Mansour et *al.*, 2016). De même, la présente étude a révélé que la plante contient des quantités relativement modérées de tanins. Les deux extraits des bourgeons floraux contiennent des quantités égales en tanins ce qui témoigne la présence des tanins condensés et non condensés dans cette partie de la plante.

Dans les feuilles le taux élevé des tanins est observé dans l'E.Met des feuilles, ce qui indique l'abondance des tanins condensés dans cette partie de la plante. Des études antérieures ont rapporté que les feuilles, les bourgeons, les fruits et les racines de la plante renferment plusieurs composés phénoliques à différentes teneurs (Anwar *et al.*, 2016 ; Chedraoui *et al.*, 2017 ; Zhang et Ma, 2018). Ces variations de la teneur de *C. spinosa* en métabolites secondaires paraît évidente, car l'origine géographique de la plante (climat et sol), la saison de la récolte, la durée et les conditions de stockage influencent largement sur le rendement de l'extraction (Liu *et al.*, 2015 ; Chedraoui *et al.*, 2017). A noter aussi que les métabolites secondaires y compris les composés phénoliques sont associés aux réponses au stress abiotique (Wahid, 2007).

L'analyse des extraits par HPLC-TOF/MS a montré que les flavonoïdes et les acides phénoliques sont détectés en quantités importantes dans tous les extraits. Les constituants majeurs caractérisés sont l'acide *p*-coumarique et la rutine. Ces résultats sont similaires avec ceux rapportés par Mollica et ses collaborateurs (2017). De même, la majorité des composés détectés dans la présente étude ont été caractérisés par Siracusa et ses collaborateurs (2011) dans les extraits de *C. spinosa*, avec la prédominance de la rutine qui forme environ 50% des polyphénols totaux. La rutine est un flavonoïde largement répandu dans les plantes du genre *Capparis* (Ramezani-Gask *et al.*, 2010 ; Mollica *et al.*, 2017). En effet, Tlili et ses collaborateurs (2010b) ont montré que les extraits des feuilles et des fleurs de *C. spinosa* contiennent 13.52 g et 6.93 g de rutine/Kg de plante, respectivement.

II. Activité anti-inflammatoire des extraits de *Capparis spinosa*

La réaction inflammatoire se manifeste avec quatre signes cardinaux chaleur, rougeur, œdème et douleur. Le développement de ces signes est orchestré par un ensemble de médiateurs cellulaires et moléculaires. L'inhibition de l'activité des cellules inflammatoires et la modulation de la production des médiateurs clés dans la réaction inflammatoire par des anti-inflammatoires, sans effets néfastes, régulent l'inflammation et mènent à la disparition ou la diminution des symptômes inflammatoires.

II.1. Activité anti-inflammatoire *in vivo*

L'application locale de l'huile de croton et l'injection sous-plantaire de carragénine sont deux modèles d'inflammation aiguë, largement utilisés pour le criblage de molécules

douées d'activité anti-inflammatoire (Sadeghi *et al.*, 2014 ; Ishola *et al.*, 2015). Il est bien admis que l'administration de ces agents irritant induit une réponse inflammatoire locale au niveau du site d'application (Cicala *et al.*, 2007 ; Rauh *et al.*, 2012). Cette réponse est traduite par un œdème locale qui est la conséquence d'une vasodilatation, d'une augmentation de la perméabilité vasculaire et une migration leucocytaires (Borsato *et al.*, 2014).

L'effet phlogénique de l'huile de croton est dû principalement à son principe actif, le 12 O-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA) (Saraiva *et al.*, 2011). Le TPA induit une réponse inflammatoire aigue caractérisée par une formation d'un œdème, qui s'initie dans les deux premières heures, puis il atteint son maximum au bout de 6 heures (TrivellatoGrassi *et al.*, 2013). Cette réaction est déclenchée par l'activation de la protéine kinase C (PKC), qui active à son tour plusieurs cascades enzymatiques comme les MAPK (mitogen activated protein kinase) et la PLA2, favorisant la libération de nombreux médiateurs tels que l'acide arachidonique, le PAF, l'histamine et la sérotonine qui contribuent à la vasodilatation et à l'augmentation de la perméabilité vasculaire (Saraiva *et al.*, 2011 ; Leite *et al.*, 2011 ; Passos *et al.*, 2012). En outre, la PKC via un mécanisme indirect qui implique l'activation du facteur de transcription NF- κ B induit l'expression de plusieurs cytokines et chimiokines (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 et le TNF- α) qui activent la migration cellulaire (Song *et al.*, 2008 ; Valenzuela-Barra *et al.*, 2015). Le facteur NF- κ B induit également l'expression de COX2, LOX5 et de iNOS, qui amplifient le processus inflammatoire par la synthèse des prostaglandines, des leucotriènes et de NO (Ho *et al.*, 2007, Aquila *et al.*, 2009 ; Valenzuela-Barra *et al.*, 2015).

Le traitement par les extraits de la plante étudiée a réduit potentiellement le développement de l'œdème induit par l'huile de croton. Ceci montre que ces extraits possèdent une activité anti-inflammatoire et peuvent réduire la production des médiateurs inflammatoires impliqués dans ce modèle d'inflammation. D'après TrivellatoGrassi et ses collaborateurs (2013), cette activité est liée en grande partie aux effets des molécules sur le métabolisme de l'acide arachidonique. En effet, les inhibiteurs de PLA2, des COX et de la LOX5, ainsi que les antagonistes de LTB4 ont montré un effet anti-inflammatoire remarquable (Saraiva *et al.*, 2011). L'effet antagoniste et inhibiteur de l'histamine, de la sérotonine et des ROS est également proposés (Crummey *et al.*, 1987 ; Ho *et al.*, 2007 ; Song *et al.*, 2008). En outre, El Azhary et ses collaborateurs (2017) ont rapporté que l'activité des extraits de *C. spinosa* est due à la réduction de l'infiltration des cellules immunitaires vers le site inflammatoire.

Les feuilles et les bourgeons floraux de *C. spinosa* contiennent une large gamme de molécules bioactives dont les constituants majeurs sont les flavonoïdes, les indoles et les acides phénoliques (Moufid et *al.*, 2016). En effet, plusieurs acides phénoliques dont certains sont identifiés dans cette étude tels que l'acide p-coumarique, l'acide férulique, l'acide caféique et certains dérivés de l'acide hydroxybenzoïque ont montré une activité anti-œdémateuse très importante (Fernández et *al.*, 1998). De même, les flavonoïdes détectés dans la plante soit glycosylés ou non glycosylés comme la quercétine, le keampférol ainsi que leurs dérivés glycosylés préviennent significativement le développement de l'œdème de l'oreille induit chez la souris par l'huile de croton ou par l'acide arachidonique (Kim et *al.*, 1993 ; Lee et *al.*, 1993 ; Kim et *al.*, 2004). Canali et ses collaborateurs (2000) ont rapporté que les polyphénols, notamment les flavonoïdes affectent la production du TNF- α , l'FN- γ , l'IL-1 β et du NO. Cette inhibition est en partie liée aux effets inhibiteurs de ces composés sur l'activation du facteur NF- κ B qui induit l'expression de plusieurs gènes inflammatoire comme ceux qui codent pour les cytokines pro-inflammatoires, le iNOS, les COX et les LOX (Sánchez et *al.*, 2015). En outre, les composés phénoliques pourraient exercer des effets inhibiteurs directs sur des enzymes impliquées dans la transduction du signal intracellulaire comme la phosphoinositide 3 kinase (PI3-kinase), la PKC et les MAPKs (Gamet-Payraastre et *al.*, 1999 ; Selloum et *al.*, 2001).

La réaction inflammatoire induite par la carragénine est décrite comme un phénomène biphasique durant lequel plusieurs médiateurs se coopèrent pour réaliser cette réaction. La phase initiale (une heure) est attribuée à la libération de l'histamine, de la sérotonine et des bradykinines (Nisar et *al.*, 2013 ; Sadeghi et *al.*, 2014). En conséquence, la perméabilité vasculaire est augmentée, ce qui facilite l'infiltration des neutrophiles et l'accumulation du plasma dans l'espace interstitiel et la formation d'un œdème. Durant la phase tardive, l'infiltration massive de neutrophiles est engendrée par la production de plusieurs facteurs pro-inflammatoires comprenant les prostaglandines, les leucotriènes, les protéases, les lysozymes, les cytokines et les ROS (Huang et *al.*, 2013 ; Nisar et *al.*, 2013 ; Sadeghi et *al.*, 2014).

Le traitement par les extraits de la plante, à l'exception l'E.Met des bourgeons floraux, a inhibé significativement l'œdème de la patte durant la deuxième phase de son développement seulement. Ceci suggère que l'activité anti-inflammatoire des extraits s'exerce davantage sur la production des médiateurs impliqués dans cette phase. Ces résultats se concordent relativement avec les travaux de Bektas et ses collaborateurs (2012) ayant

démonstré, en utilisant le même modèle expérimental, que l'activité anti-inflammatoire de *Capparis ovata* n'est significative qu'à partir de 90 min. D'après ces auteurs, cette activité est due à l'inhibition des leucotriènes, des protéases, des lysosomes et des prostaglandines.

D'après Zhou et ses collaborateurs (2010), cette activité anti-œdémateuse des extraits de *C. spinosa* est probablement due aux effets synergiques des flavonoïdes, des acides phénoliques et des indoles détectés dans la plante. En effet, la rutine comme étant le flavonoïde majeur du genre *Capparis* ainsi que d'autres composés, comme la quercétine, la curcumine et l'acide éllagique ont montré un rôle puissant contre l'œdème de la patte induit chez le rat par la carragénine (Selloum et al., 2003 ; Heeba et al., 2012 ; Mansouri et al., 2015). L'effet anti-inflammatoire de ces métabolites secondaires repose toujours sur l'inhibition des médiateurs inflammatoires ainsi que l'inhibition des mécanismes de la transduction du signal impliqués dans l'activation des cellules inflammatoires (Iwalewa et al., 2007). Moutia et ses collaborateurs (2016) ont démontré la capacité de l'extrait des feuilles à induire l'expression des gènes qui codent pour les cytokines anti-inflammatoires (IL-4) et à inhiber l'expression de ceux qui codent pour les cytokines pro-inflammatoires (IL-17). Cette capacité confirme les travaux de Zhou et ses collaborateurs (2011) ayant montré que deux biflavonoïdes (ginkgetine et isoginkgetine) isolés de *C. spinosa* sont capables d'inhiber l'activation du facteur de transcription NF-κB.

Tenant en compte les résultats obtenus dans les deux modèles, il est à noter que les extraits de *C. spinosa* sont plus actifs lors d'une application topique. Cela est expliqué d'une part par la différence de mécanisme d'action des deux agents phlogistiques et d'autre part par l'absorption réduite et le métabolisme des métabolites secondaires lors d'une administration orale. En effet, Fernández et ses collaborateurs (1998) ont montré que les acides phénoliques sont plus actifs lors d'une application topique. Carlson et ses collaborateurs (1989) ont rapporté que la voie d'administration topique est la plus efficace, car elle permet l'absorption des métabolites secondaire en grande quantités.

Les résultats obtenus dans les deux tests permettent de conclure aussi que l'activité anti-inflammatoire des extraits de *C. spinosa* est liée en grande partie à l'effet des extraits sur l'infiltration des cellules inflammatoires ainsi que leurs médiateurs libérés dans le site inflammatoire. Pour cela, la migration cellulaire et la production de certains médiateurs clés de l'inflammation sont vérifiés dans la présente étude.

Les PMNs sont les premiers leucocytes à être recrutés vers le site inflammatoire. Ils prédominent durant les 12 premières heures puis ils sont remplacés progressivement par les monocytes qui seront ensuite différenciés en macrophages (Jilroy et al., 1999).

L'injection de la carragénine dans la cavité de la poche d'air induit une migration leucocytaire via un mécanisme indirect qui implique l'activation des macrophages et la libération de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 et le TNF- α (Lo *et al.*, 1982).

Les PMNs disposent d'un arsenal cytotoxique très puissant qui leur permet d'éliminer les agents pathogènes. Cet arsenal en molécules cytotoxiques telles que les protéases, les enzymes hydrolytiques et les ROS agissent dans des circonstances finement régulées qui impliquent leur déversement dans des phagosomes (García *et al.*, 2011). Cependant, il arrive que les PMNs réagissent d'une manière inappropriée, lorsqu'ils sont suractivés ou incontrôlés et libèrent leurs composés cytotoxiques dans le milieu extracellulaire. Cela conduit le plus souvent à des lésions tissulaires graves qui sont à l'origine de développement de plusieurs maladies inflammatoires (Bote *et al.*, 2012). Pour lutter contre ces pathologies, il est donc important de contrôler l'accumulation et/ou l'activation de ces cellules.

Les résultats de cette étude, ont montré que les extraits méthanoliques du *C. spinosa* préviennent significativement l'infiltration des PMNs vers la cavité de la poche d'air. Cela est expliqué par la présence des substances bioactives dans les extraits méthanoliques qui empêchent la migration de ces cellules. A nos connaissances, l'effet des extraits de *C. spinosa* sur la migration des PMNs *in vivo* n'a pas été vérifié auparavant. Cependant, l'étude des coupes histologiques des oreilles enflammées par le 2,4-dinitro-1-fluorobenzédine a montré que les extraits des feuilles et des fleurs de *C. spinosa* inhibent l'infiltration des lymphocytes vers le site inflammatoire (El Azhary *et al.*, 2017).

En se basant sur le mécanisme par lequel la carragénine induit la migration cellulaire vers le site inflammatoire, il est raisonnable de suggérer que l'effet anti-migratoire des extraits est dû principalement à l'inhibition de la production de cytokines pro-inflammatoires (l'IL-1 et le TNF- α). Ces cytokines stimulent l'expression et la synthèse de plusieurs molécules d'adhésion et de chimiokines qui interviennent dans le processus de la migration cellulaire (Borish et Steinke, 2003). De même, Fernandes et ses collaborateurs (2015) ont rapporté l'inhibition combinée de la migration des cellules inflammatoires et la production de ces cytokines dans ce modèle d'inflammation.

La richesse des extraits du *C. spinosa* en composés phénoliques et en flavonoïdes peut contribuer à cet effet. En effet, des études antérieures ont corrélé cette activité avec ces composés bioactifs présents dans les extraits de plantes (Bouriche *et al.*, 2016 ; Messaoudi *et al.*, 2016). Il a été rapporté que l'acide caféique, qui est l'un des constituant du *C. spinosa*, inhibe la production de NO dans les macrophages, supprime les voies de la

transduction et réduit la production de TNF- α , d'IL-6 et d'IL-1 β (Búfalo et *al.*, 2013 ; Zhang et *al.*, 2014). L'acide p-coumarique, identifié dans la plante, montre aussi un effet anti-inflammatoire en inhibant l'expression de la iNOS et la COX2 (Yoon et *al.*, 2014). *In vivo*, cet acide modifie l'indice de la phagocytose par les macrophage et diminue l'expression des médiateurs inflammatoires comme le TNF- α (Pragasam et *al.*, 2013). L'acide gallique et l'acide éllagique ont montré un effet inhibiteur sur les prostaglandines et les cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α (Seo et *al.*, 2016).

D'un autre côté, les extraits de *C. spinosa* ont montré un effet analgésique très important contre la douleur induite chez la souris par l'acide acétique. La réponse nociceptive causée par l'acide acétique dépend également de la libération de certaines cytokines telles que le TNF- α et l'IL-1 β par la mobilisation des macrophages et des mastocytes dans la cavité péritonéale (Ribeiro et *al.*, 2000). De ce fait, l'effet analgésique des extraits de *C. spinosa* est probablement dû à l'inhibition de la libération de ces médiateurs. Selon Arslan et ses collaborateurs (2010), cette activité est due à la présence de composés actifs comme les composés phénoliques, des sucres réducteurs et des tanins. Cela se concorde avec des études antérieures qui ont rapporté que les plantes contenant des tanins, des flavonoïdes et acides phénoliques possèdent des effets analgésiques et anti-inflammatoires *in vivo* (Starec et *al.*, 1988 ; Bektas et *al.*, 2012).

II.2. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

Afin de déterminer l'effet des extraits de *C. spinosa* sur la production de certains médiateurs inflammatoires, des PBMCs ou des PMNs sont incubés en présence de différentes concentrations (1, 10, 50 et 100 $\mu\text{g/ml}$) des extraits de la plante étudiée.

Ces extraits ne montrent aucun effet sur la viabilité cellulaire. De tels résultats indiquent que l'effet des extraits sur les PMBCs et les PMNs ne pourrait être dû à leur effet cytotoxique. En effet, des études antérieures ont rapporté que les extraits du *C. spinosa* ne représentent aucun effet toxique sur plusieurs types cellulaires. Panico et ses collaborateurs (2005) ont montré que l'extrait méthanolique de *C. spinosa* à 200 $\mu\text{g/ml}$ ne présente aucun pouvoir toxique sur les chondrocytes. De même, Arena et ses collaborateurs (2007) ont rapporté que l'extrait aqueux des bourgeons floraux du *C. spinosa* à 600 $\mu\text{g/ml}$ n'a aucun effet toxique sur les leucocytes mononucléaires. Récemment, Moutia et ses collaborateurs (2016) ont montré également que les extraits des feuilles de *C. spinosa* jusqu'à 800 $\mu\text{g/ml}$ ne représentent aucun effet cytotoxique sur les PBMCs.

II.2.1. Effet des extraits sur la production des cytokines

Au cours du processus inflammatoire, les cytokines pro-inflammatoires sont parmi les premiers médiateurs libérés. LIL-1 β et le TNF- α jouent un rôle essentiel dans l'orchestration de l'inflammation. Sous leur action, les différents types cellulaires produisent d'autres cytokines, des médiateurs lipidiques, des enzymes protéolytiques, des ROS, des chimiokines et autant de facteurs impliqués directement dans l'entretien du processus inflammatoire (Borish et Steinke, 2003 ; Cavaillon, 2011). La cytokine IFN- γ amplifie la réponse inflammatoire en accroissant les productions d'IL-1 β et de TNF- α (Sol et *al.*, 2008). L'action combinée de ces cytokines aboutit souvent à l'élimination des agents pathogènes et la récupération de l'homéostasie. Cependant, une production excessive de ces médiateurs favorise la persistance de la réaction inflammatoire et conduit au développement de plusieurs pathologies inflammatoires. D'ailleurs, les inhibiteurs de ces cytokines, sous forme d'anticorps monoclonaux ou d'antagonistes de leurs récepteurs, font preuve comme outils thérapeutiques bénéfiques dans certaines maladies inflammatoires ou auto-immunes (Vincent, 2014 ; Serrero et *al.*, 2017 ; Baker et Isaacs, 2018).

Les résultats de cette étude montrent que l'incubation des PBMCs ou des PMNs avec la Con A augmente la production de toutes les cytokines testées. La Con A est un mitogène d'origine végétale utilisé le plus souvent pour induire la prolifération des lymphocytes (Shinohara et Tsukimoto, 2018). Dans les PBMCs, ce mitogène reconnaît les lymphocytes T et les monocytes. Dans les lymphocytes T, il induit la production de l'IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, TNF- α , et l'IFN- γ (Louis et *al.*, 1997 ; Sass et *al.*, 2002 ; Carlotti et *al.*, 2004 ; Norian et *al.*, 2015). Il a été montré que dans les macrophages le site de liaison avec la Con A est le LFA-1 (Gong et *al.*, 2017). Cette glycoprotéine qui appartient à la famille des intégrines a été décrite comme récepteurs de la Con A chez le neutrophile (Christiansen et Skubitz, 1988). D'une manière générale, la liaison de la Con A aux membranes des leucocytes induit la formation des nucléotides cycliques (adénosine et guanosine monophosphate cyclique) impliquées dans la signalisation intracellulaire (Norian et *al.*, 2015).

Dans les PBMCs, la production de la majorité des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IFN- γ , IL-8) testées dans cette étude est diminuée significativement en présence des deux extraits méthanolique et aqueux des feuilles et l'E.Met des bourgeons de *C. spinosa*. Ces extraits ne montrent aucun effet significatif sur la production de l'IL-10 et même de TGF- β qui n'est modifié (légère augmentation) que par 100 μ g/ml de l'E.Met des

bourgeons floraux. Cela paraît évident, car dans les conditions physiologiques normales la production des cytokines anti-inflammatoires est régulée par les cytokines pro-inflammatoires.

La capacité des extraits *C. spinosa* à inhiber ces cytokines pro-inflammatoires peuvent alors expliquer leur activité anti-inflammatoire observée précédemment *in vivo*. Cette suggestion est encore renforcée, par le fait que l'E.Aq des bourgeons floraux, qui ne montre aucun effet significatif sur la migration cellulaire, n'inhibe que la production de l'IFN- γ . En plus, cet extrait induit fortement la production de TNF- α et l'IL-1 β , ce qui explique l'effet inhibiteur de cet extrait sur la production de TGF- β .

Dans le cas des PMNs, les extraits méthanoliques et aqueux des deux parties ont inhibé aussi la production de IL-1 β , IL-8 et l'IFN- γ . En parallèle, les extraits aqueux des deux parties de la plante montrent un effet stimulateur sur la production de TNF- α . En comparaison avec les PBMCs, cette différence de réponse peut être attribuée aux effets des extraits sur les différentes voies de signalisation impliquées par la Con A dans chaque type cellulaire.

Les études qui ont démontré l'effet des extraits de *C. spinosa* sur la production des cytokines sont très peu. Dans l'étude d'Arena et ses collaborateurs (2008) il a été montré que l'extrait aqueux des bourgeons augmente significativement la production de TNF- α , IFN- γ et d'IL-12 par les PBMCs, tandis que Moutia et ses collaborateurs (2016) ont démontré que le traitement de ces cellules par la fraction aqueuse de l'extrait des feuilles réduit significativement l'expression de la cytokine pro-inflammatoire IL-17 et induit l'expression de l'IL-4. Dans la même étude, ces auteurs ont rapporté que cet extrait ne montre aucun effet significatif sur l'expression de TNF- α , IL-10 et TGF- β . Les résultats de la présente étude se concordent partiellement avec ces études. Les différences notées peuvent être expliquées par la différence de la nature des extraits utilisés. La composition de ces derniers en métabolite secondaire diffère, en effet, en fonction du procédé d'extraction et de la nature du matériel végétal. Les analyses phytochimiques effectuées dans cette étude ont révélé l'abondance de la rutine dans les extraits de la plante. Ce flavonoïde a été démontré par plusieurs études qu'il inhibe la production des cytokines inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-8) *in vivo* et *in vitro* (Lee et al., 2012 ; Wang et al., 2012; Aruna et al., 2014 ; Yeh et al., 2014). La quercétine, le Kaempférol, et l'hésperidine inhibent également la production de l'IL-1 β , l'IL-8, l'IL-6 et le TNF- α (Min et al., 2007 ; Ribeiro et al., 2015; Leyva-López et al., 2016). Cette activité est attribuée principalement à la capacité des flavonoïdes à inhiber plusieurs voies de signalisation intracellulaire ainsi

que l'activation de plusieurs facteurs de transcription (Sharma et al., 2013 ; Ribeiro et al., 2015). En outre, les acides phénoliques détectés dans les extraits de la plante comme l'acide *p*-coumarique, l'acide férulique et l'acide caféique ont montré des capacités à inhiber la production de TNF- α , IL-6 et IL-1 β via leurs effets sur l'activation de facteur NF- κ B (Pragasam et al., 2013 ; Zhang et al., 2014, Zhu et al., 2018).

II.2.2. Effet des extraits sur la production de la leucotriène B4

Le LTB4 est l'un des médiateurs lipidiques qui joue un rôle primordial dans le développement de l'inflammation. Il représente le plus puissant agent chimio-attractant pour les PMNs, comme il provoque la libération massive des ROS (Coruzzi et al., 2007).

La présente étude montre que l'E.Met des bourgeons floraux est le seul extrait qui a inhibé la production de LTB4. Auparavant, l'effet des extraits de *C. spinosa* sur ce médiateur n'a pas été investigué. Cependant, dans une étude menée *in vitro* sur des cultures de chondrocytes humaines, Panico et ses collaborateurs (2008) ont montré que l'E.Met des bourgeons floraux de *C. spinosa* inhibe la production de la PGE2. Cette activité peut être attribuée aux métabolites secondaires bioactifs présents dans l'E.Met des bourgeons floraux. En effet, il a été rapporté que des flavonoïdes comme la quercétine, la rutine, le keampférol, la myristine inhibent la production des prostaglandines, des leucotriènes et d'autres molécules comme les molécules d'adhésion (Iwalewa et al., 2007). En outre, il a été démontré que les flavonoïdes et les acides phénoliques sont capables d'affecter le métabolisme de l'acide arachidonique, soit directement en inhibant la PLA2 et la LOX ou indirectement en inhibant l'expression de ces enzymes par inactivation des facteurs de transcription ou par le blocage de la signalisation intracellulaire (Laughton et al., 1991; Costa et al., 2012 ; Hussain et al., 2016).

II.2.3. Effet des extraits sur la production des espèces réactives de l'oxygène

Au cours du processus inflammatoire, la production des ROS en quantités adéquates par les neutrophiles constitue un élément essentiel pour la destruction des agents pathogènes. Cependant lors d'une production excessive incontrôlée, les ROS interviennent dans les altérations cellulaires (Nisar et al., 2013). Pour cela, la modulation de la production du précurseur des ROS (O₂⁻) à partir des neutrophiles, semble avoir un rôle pivot dans les approches thérapeutiques. En effet, plusieurs agents anti-inflammatoires exercent leurs propriétés anti-inflammatoires via leurs capacités à inhiber la production des ROS par les PMNs (Winrow et al., 1993). Pour cela, dans la présente étude, l'effet des

extraits de la plante sur la production de l'anion superoxyde par les PMNs a été évalué par le suivi de la réduction de ferricytochrome C en ferrocycytochrome C par les électrons supplémentaires de l'anion superoxyde formé par NADHP oxydase.

Premièrement, la stimulation des PMNs par le fMLP/CB induit un ensemble de voies de signalisation comprenant des phospholipases et des kinases (PKC, MAPK, PI3-kinase). En conséquence, de nombreuses protéines y compris les composantes de la NADPH oxydase seront phosphorylées, ce qui favorise leur activation et la production de l' O_2^- (El Benna *et al.*, 2005 ; Bréchar *et al.*, 2013).

En présence des extraits la capacité des PMNs activés à produire l' O_2^- est significativement réduite. La production de l' O_2^- par les neutrophiles peut être inhibée par la modulation des voies de signalisation. Cependant, un effet scavenger direct sur ce radical peut expliquer cette inhibition.

Cette activité est due à la présence des métabolites secondaires bioactifs dans les extraits testés, en particulier les flavonoïdes ayant montré leur effet inhibiteur sur la flambée respiratoire chez les PMNs (Ciz *et al.*, 2012 ; Ribeiro *et al.*, 2013). D'après Ciz et ses collaborateurs (2012) l'activité des flavonoïdes est due à l'inhibition de la voie de la PKC, la phospholipase D et celle des MAPK qui jouent un rôle dans l'activation du complexe NADHP. De même, dans une étude menée *in vitro* par Selloum et ses collaborateurs (2001), il a été démontré que la rutine et la quercétine détectés en quantités importantes dans les extraits de la plante, inhibent la génération des ROS par les PMNs fMLP-stimulés et il a été prouvé que ces composés sont des inhibiteurs spécifiques de la PI3-kinase. A côté des flavonoïdes, il a été rapporté que les acides phénoliques tels que les dérivés de l'acide caféique inhibent la flambée respiratoire dans les neutrophiles humains stimulés par fMLP (Dudek *et al.*, 2016).

II.2.4. Effet des extraits sur l'activité de la myéloperoxydase

Lors d'une inflammation, les PMNs activés déversent leurs contenus en MPO dans le phagosome afin de détruire les microorganismes, grâce à sa capacité de produire HOCl qui oxyde une large gamme de molécules biologiques. Cependant, elle peut causer des dommages tissulaires grave lors d'une inflammation exacerbée (DeVargas *et al.*, 2016). *In vivo*, l'activité du MPO est déterminée le plus souvent pour détecter la présence des neutrophiles dans le site de l'inflammation, tant que cette enzyme est plus spécifique des PMNs.

Le prétraitement des surnageants enzymatiques avec les extraits de *C. spinosa* a provoqué une forte inhibition de l'activité de la MPO. L'analyse de ces extraits par HPLC-TOF/MS montre la présence de plusieurs acides phénoliques tels que l'acide *p*-coumarique, l'acide férulique, l'acide caféique et certains dérivés de l'acide hydroxybenzoïque. Ces composés sont capables d'inhiber l'activité de la MPO *in vitro* et *in vivo* (Fernández et al., 1998 ; Kato et al., 2003). Les flavonoïdes, présents aussi dans les extraits étudiés, comme la quercétine, le kaempférol et la rutine inhibent également l'activité de cette enzyme (Shiba et al., 2008 ; Lu et al., 2018). Le mécanisme par lequel les flavonoïdes inhibent l'activité de la MPO a été interprété dans plusieurs études. Selon ces études, les flavonoïdes peuvent se fixer sur le site actif de l'enzyme et se comportent comme inhibiteur compétitif grâce à leurs groupements hydroxyles en position 3, 5, et 4' et la double liaison en C2-C3 (Meotti et al., 2008 ; Shiba et al., 2008 ; Tian et al., 2017). Un effet inhibiteur indirect via les capacités de ces composés à piéger les ROS et à chélater les ions métalliques nécessaire à l'activité de cette enzyme est également proposé (Malle et al., 2007).

II.2.5. Effet des extraits sur la stabilité membranaire

Dans les phagocytes la destruction des agents pathogènes s'effectue dans des phagolysosomes. Ces derniers forment un espace fermé prévient la diffusion des enzymes hydrolytiques ainsi que d'autres agents toxiques comme les ROS dans le milieu extracellulaire. Cependant, il arrive que ces agents diffusent dans le milieu extracellulaire en causant la dégradation tissulaire et l'augmentation du stress oxydatif et conduit à l'amplification de l'inflammation. Le maintien de la stabilité membranaire des phagolysosomes ou des lysosomes elles-mêmes représente une approche qui peut limiter la sévérité des syndromes inflammatoires (Vadivu et Lakshmi, 2008 ; Ayinke et al., 2015). Pour cela, la préservation de la stabilité membranaire par les drogues demeure une condition fondamentale pour leur efficacité. Pour cela, dans la présente étude, l'effet des extraits sur la stabilité membranaire des érythrocytes a été évalué. Les érythrocytes ont été choisis vu la ressemblance de leur membrane avec la membrane lysosomale (Reshma et al., 2014 ; Ayinke et al., 2015). Cette membrane est relativement inélastique ce qui conduit à sa rupture après l'exposition des érythrocytes au milieu hypotonique (Kalavani et al., 2016). Le prétraitement des érythrocytes avec les extraits de *C. spinosa* prévient cette lyse. Les extraits méthanoliques ont montré une activité très importante en comparaison avec les extraits aqueux, ce qui témoigne la présence des molécules anti-hémolytiques dans ce type

d'extraits. Plusieurs études ont montré l'activité anti-hémolytique des plantes médicinales (Debnath et al., 2013 ; Anilkumar et Jibin, 2015 ; Oyedapo et al., 2015). Cette activité est attribuée aux métabolites secondaires de ces plantes comme les flavonoïdes, les tanins, les saponines et les terpènes qui ont la capacité de se lier à la composante membranaire et la protègent contre les agents délétères (De Freitas et al., 2008 ; Anilkumar et Jibin, 2015 ; Oyedapo et al., 2015 ; Kalavani et al., 2016).

III. Activité antioxydante des extraits de *Capparis spinosa*

De nombreuses recherches ont montré que l'activité anti-inflammatoire des extraits des plantes est liée à leur capacité antioxydante. Pour cela, il est intéressant d'évaluer l'activité antioxydante des extraits du *C. spinosa* par plusieurs tests complémentaires.

Les résultats de cette étude montrent que les extraits de *C. spinosa* possèdent un effet piègeur vis-à-vis du radical DPPH remarquable. La différence d'activité notée entre les extraits aqueux et organiques est souvent attribuée au fait que les extraits organiques sont plus riches en métabolites secondaires polaires de moyenne et de faibles polarité (Kintzios et al., 2010). Des études précédentes ont montré le pouvoir anti-radicalaire de l'extrait méthanolique de *C. spinosa* (Germanò et al., 2002 ; Bhoyar et al., 2011 ; Mansour et al., 2016). Cette activité a été démontré qu'elle est en corrélation avec la teneur en polyphénols (Akkari et al., 2016), ce qui renforce les résultats obtenus dans la présente étude. Les composés phénoliques tels que les phénols surtout les flavonoïdes (la rutine, la quercétine et le kaempférol 3-O-rutinoside) sont présents en quantités importantes dans la plante et ils sont connus comme des antioxydants (Prakash et al., 2007; Gupta et al., 2010 ; Siracusa et al., 2011).

Les antioxydants à pouvoir chélateur présents dans les extraits peuvent former des liaisons avec les métaux (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{+2}) et réduisent leur potentiel redox, stabilisent leur forme oxydée et protègent les cellules contre les endommagements induits par le stress oxydant (Wu et al., 2006). Les ions métalliques sont en grande partie séquestrés *in vivo*, mais une capacité élevée de chélation d'ions ferreux par les antioxydants empêche d'aggraver certaines maladies liées aux stress oxydant (Turgut et al., 2015 ; Dusek et al., 2016).

Les résultats de la présente étude montre que les extraits méthanoliques de *C. spinosa* exercent une activité chélatrice remarquable. Cette activité pourrait être attribuée à la solubilité des agents chélateurs dans le méthanol. Les constituants organiques sont les

plus capables d'inhiber la formation du complexe Fe^{2+} -ferrozine, en capturant les ions ferreux avant la ferrozine. Il a été rapporté que les agents chélateurs sont efficaces comme antioxydants secondaires, car ils réduisent le potentiel redox en stabilisant la forme oxydée des ions métalliques (Gülçin et al., 2007). Ces résultats sont en concordance avec les travaux de Bouriche et ses collaborateurs (2017) qui ont mis en évidence une corrélation réciproque entre la teneur des extraits en composés phénoliques et en flavonoïdes et leur activité chélatrice. Les effets antioxydants des flavonoïdes (quercétine, myricétine, morine) sont dus en partie à leurs capacités de fixer les métaux à plusieurs sites (Verdan et al., 2011).

Le pouvoir réducteur des antioxydants exprime la capacité de ces composés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) par donation d'un électron. Cette réduction est évaluée par le suivie de l'augmentation de l'intensité de la couleur qui dépend du pouvoir réducteur de l'échantillon étudié (Gülçin et al., 2011).

D'une manière similaire à ce qui est cité précédemment, les extraits méthanoliques des feuilles et des bourgeons de *C. spinosa* les plus riches en composés phénolique montrent un pouvoir réducteur le plus important. Ces résultats sont en concordance avec les travaux de Bhojar et ses collaborateurs (2011) qui ont mis en évidence une corrélation réciproque entre la teneur des extraits de *C. spinosa* en composés phénolique en flavonoïde et leur activité réductrice. Pour élucider le mécanisme réactionnel des flavonoïdes, Firuzi et ses collaborateurs (2005) ont testé le pouvoir réducteur de 18 flavonoïdes et ils ont conclu que la capacité réductrice de ces molécules dépend essentiellement de leur structure et de leur potentiel redox.

Les réactions incontrôlées des ROS avec les lipides membranaires conduits à une génération innombrable de radicaux libres produits dans une réaction en chaîne, qui induit une détérioration des membranes cellulaires et amplifie l'inflammation (Kardeh et al., 2014; Pisoschi et Pop, 2015). En effet, l'oxydation des lipides est impliquée dans plusieurs pathologies inflammatoires telles que l'athérosclérose et les maladies neurodégénératives (Ramana et al., 2013).

Dans le système acide linoléique- β carotène, les radicaux libres (hydroperoxydes) produits par l'oxydation de l'acide linoléique provoquent l'oxydation du β -carotène ce qui conduit à sa décoloration (Prior et al., 2005). La présence des antioxydants dans les extraits minimise l'oxydation du β -carotène et conserve sa couleur (Naidu et al., 2011). Les extraits de *C. spinosa* inhibent l'oxydation du β -carotène grâce à leurs caractéristiques structurales comme agents antioxydants et à leur potentiel d'interagir avec les lipides et de

pénétrer dans les bicouches lipidiques (Saija et *al.*, 1995). D'après Frankel et Meyer (2000), dans ce système les antioxydants apolaires se concentrent à l'interface lipide-eau et empêchent la formation des radicaux lipidiques et l'oxydation du β -carotène, alors que les antioxydants apolaires moins efficaces restent solubles dans la phase aqueuse. Il a été démontré que la structure et la lipophilie de la majorité des polyphénols sont des facteurs déterminants des propriétés antioxydantes de ces composés dans la couche lipidique de la membrane (Djeridane et *al.*, 2010). Plusieurs composés phénoliques ont montré un potentiel contre l'oxydation des lipides, ce qui explique leur activité anti-inflammatoire (Guo et *al.*, 1996 ; Yoshino et Murakami, 1998 ; Yilmaz et *al.*, 2004).

***CONCLUSION ET
PERSPETIVES***

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'objectif principal du présent travail était d'adopter des bases scientifiques pour la validation de certaines propriétés anti-inflammatoires attribuées aux extraits de la plante *Capparis spinosa*.

Cette étude montre que les extraits des feuilles et des bourgeons floraux de la plante présentent un intérêt réel et potentiel dans le traitement de l'inflammation et la protection contre l'oxydation. En effet, il a été démontré *in vivo* que les extraits méthanoliques et aqueux des deux parties de cette plante sont doués d'activités anti-œdémateuse, anti-migratoire et analgésique. Cela indique que ces extraits peuvent moduler la production et/ou l'activité de différents médiateurs impliqués dans le développement du processus inflammatoire. Effectivement, *in vitro*, les deux extraits des feuilles et l'extrait méthanolique des bourgeons floraux ont fait preuve d'inhiber la sécrétion et l'activité de plusieurs médiateurs pro-inflammatoires. En outre, tous les extraits ont protégé la stabilité membranaire.

Une activité antioxydante très importante a été enregistrée *in vitro* avec tous les extraits de *C. spinosa*, grâce à leur capacité à piéger les radicaux libres, chélater et réduire le fer et à leur tendance d'inhiber la peroxydation lipidique.

La majorité des propriétés pharmacologiques des plantes médicinales sont attribuées à leurs métabolites secondaires, notamment les composés phénoliques qui possèdent plusieurs activités biologiques y compris l'activité anti-inflammatoire. En effet, l'analyse phytochimique des extraits de *C. spinosa* a révélé la présence de plusieurs composés phénoliques. Ceci explique toutes les activités des extraits démontrées dans cette étude et supporte l'usage traditionnel de cette plante dans le soulagement de maladies inflammatoires.

Malgré que cette étude a révélé que l'activité anti-inflammatoire des extraits de *C. spinosa* est due à l'inhibition de la production de certains médiateurs inflammatoires ; responsables du développement de ce processus, le mécanisme moléculaire par lequel ces extraits exercent ces effets reste à explorer tout en vérifiant leurs effets sur l'expression génétique des médiateurs inflammatoires. En plus, il est souhaitable d'élargir le spectre d'étude sur d'autres médiateurs soit *in vitro* ou *in vivo*. De même, il serait intéressant d'isoler, purifier et identifier les molécules responsables des diverses activités étudiées.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Afsharypuor S, Jeiran K, Jazy AA, (1998). First investigation of the flavour profiles of the leaf, ripe fruit and root of *Capparis spinosa* var. mucronifolia from Iran. *Pharm Acta Helv*, **72**, 307–309.
- Ageel AM, Parmar NS, Mossa JS, Yahya MAA, Said MSA, Tariq M, (1986). Anti-inflammatory activity of some Saudi Arabian medicinal plants. *Agents Action*, **17**, 383–384.
- Aghel N, Rashidi I, Mombeini A, (2010). Hepatoprotective activity of *Capparis spinosa* root bark against CCl₄ induced hepatic damage in mice. *Iran J Pharm Res*, **6**, 285–290.
- Ahmed AU, (2011). An overview of inflammation: mechanism and consequences. *Front Biol*, **6**, 274–281.
- Akkari H, B'chir F, Hajaji S, Rekiki M, Sebai E, Hamza H, Darghouth MA , Gharbi M, (2016). Potential anthelmintic effect of *Capparis spinosa* (Capparidaceae) as related to its polyphenolic content and antioxidant activity. *Vet Med*, **61**, 308–316.
- Albano SM, Miguel MG, (2011). Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Ind Crop Prod*, **33**, 338–343.
- Ali ZN, Eddouks M, Michael JB, (2007). Cardiovascular effect of *Capparis spinosa* aqueous extract. Part III: antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Am J Pharmacol Toxicol*, **2**, 111–115.
- Alon R, Feigelson S, (2002). From rolling to arrest on blood vessels: leukocyte tap dancing on endothelial integrin ligands and chemokines at sub-second contacts. *Semin Immunol*, **14**, 93–104.
- Al-Said MS, Abdelsattar EA, Khalifa SI, El-Feraly FS, (1988). Isolation and identification of an anti-inflammatory principle from *Capparis spinosa*. *Pharmazie*, **43**, 640–641.
- Al-Soqeer A, (2011). Antioxidant activity and biological evaluation of hot-water extract of *Artemisia monosperma* and *Capparis spinosa* against lead contamination. *Res J Bot*, **6**, 11–20.
- Alten R, Gromnica-Ihle E, Pohl C, Emmerich J, Steffgen J, Roscher R, Sigmund R, Schmolke B, Steinmann G, (2004). Inhibition of leukotriene B₄-induced CD11B/CD18 (Mac-1) expression by BIIL 284, a new long acting LTB₄ receptor antagonist, in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, **63**, 170–176.
- Alzergy AA, Elgharbawy SM, Mahmoud GS, Mahmoud MR, (2015). Role of *Capparis spinosa* in ameliorating trichloroacetic acid induced toxicity in liver of *Swiss albino* mice. *Life Sci J*, **12**, 26–39

- Amro BI, Haddadin RN, Tawaha K, Mohammad M, Mashallah S, M Assaf A. (2013). In vitro antimicrobial and anti-inflammatory activity of Jordanian plant extracts: a potential target therapy for Acne vulgaris. *Afr J Pharm Pharmacol*, **7**, 2087–2099.
- Anilkumar M, Jibin Johny J, (2015). Evaluation of *in vitro* anti-inflammatory activity of the methanolic extract of *Litsea quinqueflora* (Dennst.) Suresh. *IOSR J Pharm Biol Sci*, **10**, 32–36.
- Annabi B, Lord-Dufour S, Vezina A, Beliveau R, (2012). Resveratrol targeting of carcinogen-induced brain endothelial cell inflammation biomarkers MMP-9 and COX-2 is Sirt1-independent. *Drug Target Insights*, **6**, 1–11.
- Anwar F, Muhammad G, Hussain MA, Zengin G, Alkharfy KM, Ashraf M, Gilani AH, (2016). *Capparis spinosa* L.: A plant with high potential for development of functional foods and nutraceuticals/pharmaceuticals. *Int Pharmacol*, **12**, 201–219.
- Aquila S, Giner RM, Recio MC, Spegazzini ED, Rios JL, (2009). Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Cayaponia tayuya* roots. *J Ethnopharmacol*, **121**, 333–337.
- Arango Duque G, Descoteaux A, (2014). Macrophage cytokines: involvement in immunity and infectious diseases. *Front Immunol*, **5**, 491.
- Arena A, Bisignano G, Pavone B, Tomaino A, Bonina FP, Saija A, Cristani M, D'Arrigo M, Trombetta D, (2007). Antiviral and immunomodulatory effect of a lyophilized extract of *Capparis spinosa* L. *Buds. Phytother Res*, **22**, 313–317.
- Arend WP, Dayer JM, (1995). Inhibition of the production and effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor α in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, **38**, 151–160.
- Arnaud L, Haroche J, Piette JC, Amoura Z, (2009). Biothérapies des maladies auto-immunes : quelles perspectives ? *Presse Med*, **38**, 749–760.
- Arslan R, Bektas N, Ozturk Y, (2010). Antinociceptive activity of methanol extract of fruits of *Capparis ovata* in mice. *J Ethnopharmacol*, **131**, 28–32.
- Aruna R, Geetha A, Suguna P, (2014). Rutin modulates ASC expression in NLRP3 inflammasome: a study in alcohol and cerulein-induced rat model of pancreatitis. *Mol Cell Biochem*, **396**, 269–280.
- Ashraf M, Murakami M, Kudo I, (1996). Cross-linking of the high-affinity IgE receptor induces the expression of cyclo-oxygenase 2 and attendant prostaglandin generation requiring interleukin 10 and interleukin 1 beta in mouse cultured mast cells. *Biochem J*, **320**, 965–973.
- Ayinke AB, Morakinyo MA, Olalekan IM, Philip TO, Mariam OO, Oluokun OO, (2015). *In vitro* evaluation of membrane stabilizing potential of selected bryophyte species. *EJMP*, **6**, 181–190.
- Babior BM, (2004). NADPH oxidase. *Curr Opin Immunol*, **16**, 42–47.
- Bachoual R, Boczkowski J, (2005). Rôle des cytokines dans l'inflammation bronchopulmonaire. *EMC-Pneumologie*, **2**, 74–85.

- Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunete C, Dine T, Vasseur J, Gazin J.C, Pinkas M, Luycky M and Gazin M (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittelforschung*, **46**, 1086–1089.
- Baker KF, Isaacs JD, (2018). Novel therapies for immune-mediated inflammatory diseases: What can we learn from their use in rheumatoid arthritis, spondyloarthritis, systemic lupus erythematosus, psoriasis, Crohn's disease and ulcerative colitis?. *Ann Rheum Dis*, **77**, 175–187.
- Baraut J, Farge D, Jean-Louis F, Kesmandt H, Durant C, Verrecchia F, Michel L, (2012). Les cytokines dans la sclérodémie systémique. *Pathol Biol* (Paris), **60**, 127–139.
- Barnig C, (2016). Médiateurs lipidiques pro-résolvant dans l'inflammation allergique. *Rev Fr Allergol* , **56**, 38–42.
- Bate-Smith EC, (1973). Haemanalysis of tannins, the concept of relative Astringency. *phytochemistry*, **12**, 907–912.
- Baud L, (2001). Mécanismes d'interruption de la réaction inflammatoire et leur contrôle. *Nutr Clin Métabol*, **15**, 11–15.
- Bektas N, Arslan R, Goger F, Kirimer N, Ozturk Y, (2012). Investigation for anti-inflammatory and anti-thrombotic activities of methanol extract of *Capparis ovate* buds and fruits. *J Ethnopharmacol*, **142**, 48–52.
- Bernstein N, Akram M, Daniyal M, Koltai H, Fridlender M, Gorelick J, (2018). Antiinflammatory potential of medicinal plants: a source for therapeutic secondary metabolites. *Adv Agron*, **150**, 131–183.
- Bhojar MS, Mishra PG, Naik KP, Srivastava R, (2011). Estimation of antioxidant activity and total phenolics among natural populations of Caper (*Capparis spinosa*) leaves collected from cold arid desert of trans-Himalayas. *Aust J Crop Sci*, **5**, 912–919.
- Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, Peschon JJ, Slack JL, Wolfson MF, Castner BJ, Stocking KL, Reddy P, Srinivasan S, Nelson N, Boiani N, Schooley KA, Gerhart M, Davis R, Fitzner JN, Johnson RS, Paxton RJ, March CJ, Cerretti DP, (1997). A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor-alpha from cells. *Nature*, **385**, 729–33.
- Bleve M, Ciurlia L, Erroi E, Lionetto G, Longoc L, Rescioa L, Schettino T, Vasaollo G, (2008). An innovative method for the purification of anthocyanins from grape skin extracts by using liquid and sub-critical carbon dioxide. *Sep Purif Technol*, **64**, 192–197.
- Borish LC, Steinke JW, (2003). Cytokines and chemokines. *J Allergy Clin Immunol*, **111**, S460–S475.
- Borsato DM, Prudente AS, Döll-Boscardin PM, Borsato AV, Luz CF, Maia BH, Cabrini DA, Otuki MF, Miguel MD, Farago PV, Miguel OG, (2014). Topical anti-

- inflammatory activity of a monofloral honey of *Mimosa scabrella* provided by *Melipona marginata* during winter in southern Brazil. *J Med Food*, **17**, 817–825.
- Bote ME, García JJ, Hinchado MD, Ortega E, (2012). Inflammatory/stress feedback dysregulation in women with fibromyalgia. *Neuroimmunomodulation*, **19**, 343–351.
- Bouriche H, Boudoukha C, Belambri S A, Boucif A, Senator A (2009). Implication of tyrosine kinase, PKC, P13kinase in signalling pathways of human neutrophil chemotaxis, respiratory burst and degranulation. *Sc Technol Devpt*, **5**, 89–91
- Bouriche H, Kada S, Assaf AM, Senator A, Gul F, Demirtas I, (2016). Phytochemical screening and anti-inflammatory properties of Algerian *Hertia cheirifolia* methanol extract. *Pharm Biol*, **54**, 2584–2590.
- Bouriche H, Kada S, Senator A, Demirtas I, Ozen T, Toptanci BC, Kızıl G, Kızıl M, (2017). Phenolic content and biomolecule oxidation protective activity of *Globularia alypum* extracts. *Braz Arch Biol Technol*, **64**, 1–14.
- Bradley JR, (2008). TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol*, **214**, 149–160.
- Bravo L, (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev*, **56**, 317–333.
- Brécharde S, Plançon S and Tschirhart EJ, (2013). New insight into the regulation of neutrophil NADPH oxidase activity in the phagosome: A focus on the role of lipid and Ca²⁺ signaling. *Antioxid and Redox Signaling*, **18**, 661–676.
- Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, Weinrauch Y, Zychlinsky A, (2004). Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*, **303**, 1532–1535.
- Búfalo MC, Ferreira I, Costa G, Francisco V, Liberal J, Cruz MT, Lopes MC, Batista MT, Sforcin JM, (2013). Propolis and its constituent caffeic acid suppress LPS-stimulated pro-inflammatory response by blocking NF-κB and MAPK activation in macrophages. *J Ethnopharmacol*. **149**, 84–92.
- Byrne A, Reen DJ, (2002). Lipopolysaccharide induces rapid production of IL-10 by monocytes in the presence of apoptotic neutrophils. *J Immunol*, **168**, 1968–1977.
- Calis I, Kuruuzum A, Ruedi P, (1999). 1 H -indole-3 acetonitrile glycosides from *Capparis spinosa* fruits. *Phytochemistry*, **50**, 1205–1208.
- Canali R, Vignolini F, Nobili F, Mengheri E, (2000). Reduction of oxidative stress and cytokine-induced neutrophil chemoattractant (CINC) expression by red wine polyphenols in zinc deficiency induced intestinal damage of rat. *Free Radic Biol Med*, **28**, 661–670.
- Cantagrel A, Degboé Y, Constantin A, Davignon JL, (2017). Le TNF-α, l'interleukine-6 et l'interleukine-1: trois cytokines centrales de la polyarthrite. *Revue du rhumatisme monographies*, **84**, 325–330.

- Carlotti AP, Franco PB, Elias LL, Facincani I, Costa EL, Foss N, Moreira AC, de Castro M, (2004). Glucocorticoid receptors, *in vitro* steroid sensitivity, and cytokine secretion in idiopathic nephrotic syndrome. *Kidney Int*, **65**, 403–408.
- Carlson RP, O’Neil-Davis L, Calhoun W, Datko L, Musser JH, Kreft AF, Chang JY, (1989). Effect of a 5-lipoxygenase (5-LO)/cyclooxygenase (CO) inhibitor, WY-47,288, on cutaneous models of inflammation. *Agents Actions*, **26**, 319–328.
- Cassatella MA, Meda L, Gasperini S, Calzetti F, Bonora S, (1994). Interleukin 10 (IL-10) upregulates IL-1 receptor antagonist production from lipopolysaccharide-stimulated human polymorphonuclear leukocytes by delaying mRNA degradation. *J Exp Med*, **179**, 1695–1699.
- Cassatella MA, (2010). Neutrophils II. In: Fundamentals of inflammation. Serhan CN, Ward PA, Gilroy DW. Eds. *Cambridge University Press* (New York), 49–64.
- Cavaillon JM, (2011). Médiateurs de l’inflammation. In : Sepsis sévère et choc septique. Martin C, Vincent JL. *Springer-Verlag* (France), 19–58.
- Chedraoui S, Abi-Rizk A, El-Beyrouthy M, Chalak L, Ouaini N, Rajjou L, (2017). *Capparis spinosa* L. in a systematic review: a xerophilous species of multi values and promising potentialities for agrosystems under the threat of global warming. *Front Plant Sci*, **8**, 1845.
- Chen S, Springer TA, (1999). An automatic braking system that stabilizes leukocyte rolling by an increase in selectin bond number with shear. *J Cell Biol*, **144**, 185–200.
- Cho SY, Park SJ, Kwon MJ, Jeong TS, Bok SH, Choi WY, Jeong WI, Ryu SY, Do SH, Lee CS, Song JC, Jeong KS, (2003). Quercetin suppresses proinflammatory cytokines production through MAP kinases and NF-kappaB pathway in lipopolysaccharide-stimulated macrophage. *Mol Cell Biochem*, **243**, 153–160.
- Christiansen NP, Skubitz KM, (1988). Identification of the major lectin-binding surface proteins of human neutrophils and alveolar macrophages. *Blood*, **71**, 1624–1632.
- Cicala C, Morello S, Alfieri A, Velleco V, Marzocco S, Autore G, (2007). Haemostatic imbalance following carrageenan induced rat paw oedema. *Eur J Pharmacol*, **577**, 156–161.
- Ciz M, Denev P, Kratchanova M, Vasicek O, Ambrozova G, Lojek A, (2012). Flavonoids inhibit the respiratory burst of neutrophils in mammals. *Oxid Med Cell Longev*, **2012**, 181295.
- Cohen HJ, Chovaniec ME, (1978). Superoxide generation by digitonin-stimulated guinea pig granulocytes. A basis for a continuous assay for monitoring superoxide production and for the study of the activation of the generating system. *J Clin Invest*, **61**, 1081–1087.
- Coruzzi G, Venturi N, Spaggiari S, (2007). Gastrointestinal safety of novel nonsteroidal antiinflammatory drugs: Selective COX-2 inhibitors and beyond. *Acta Biomed*, **78**, 96–110.

- Costa G, Francisco V, Lopes MC, Cruz MT, Batista MT, (2012). Intracellular signaling pathways modulated by phenolic compounds: application for new anti-inflammatory drugs discovery. *Curr Med Chem*, **19**, 2876–28900.
- Crummey A, Harper GP, Boyle EA, Mangan FR, (1987). Inhibition of arachidonic acid-induced ear oedema as a model for assessing topical anti-inflammatory compounds. *Agents Actions*, **20**, 69–76.
- Cynober L, (2000). Médiateurs de l'inflammation : contrôle par les nutriments azotés. *Nutr Clin Métabol*, **14**, 194–200.
- Dalmas E, Tordjman J, Guerre-Millo M, Clément K, (2011). Le tissu adipeux un nouveau terrain de jeu pour les cellules immunitaires, *Med Sci*, **27**, 993–999.
- Davidson EM, Rae SA, Smith MJH, (1983). Leukotriene B-4, a mediator of inflammation present in synovial fluid in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, **43**, 677–679.
- De Freitas MV, Netto Rde C, Da Costa Huss JC, De Souza TM, Costa JO, Firmino CB, Penha-Silva N, (2008). Influence of aqueous crude extracts of medicinal plants on the osmotic stability of human erythrocytes. *Toxicol In Vitro*, **22**, 219–24.
- Debnath PC, Das A, Islam A, Islam MA, Hassan MM, Gias Uddin SM, (2013). Membrane stabilization – A possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of a Bangladeshi medicinal plant: *Erioglossum rubiginosum* (Bara Harina). *Phcog J*, **5**, 104–107.
- Dejean C, Richard D, (2013). Mécanismes d'action des glucocorticoïdes. *Rev Méd Interne*, **34**, 264–268.
- Demaret J, Monneret G, Venet F, (2014). Altérations phénotypiques et fonctionnelles des polynucléaires neutrophiles au cours des états septiques sévères. *R F L*, **2014**, 65–70.
- Demirtaş I, Gecibesler IH, Yaglioglu AS, (2013). Antiproliferative activities of isolated flavone glycosides and fatty acids from *Stachys byzantina*. *Phytochem Lett*, **6**, 209–214.
- Derbel S, Ghedira K (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytother*, **3**, 28–34.
- Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V, (1996). Cytokines pro-inflammatoires et cellules phagocytaires. *Rev Fr Allergol*, **36**, 310–314.
- DeVargas FS, Almeida PD, de Boleti AP, Pereira MM, De Souza TP, De Vasconcellos MC, Nunez CV, Pohlit AM, Lima ES, (2016). Antioxidant activity and peroxidase inhibition of Amazonian plants extracts traditionally used as anti-inflammatory. *BMC Complement Altern Med*, **16**, 1–8.
- Devillier P, (2005). Effets synergiques et additifs entre les différentes classes d'anti-inflammatoires de l'asthme. *Rev fr allergol*, **45**, 416–421.

- Diouf PN, Stevanovic T, Cloutier A, (2009). Study on chemical composition: antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions. *Food Chem*, **113**, 897–902.
- Djeridane A, Yousfi M, Brunel JM and Stocker P, (2010). Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the *in vitro* antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food Chem Toxicol*, **48**, 2599–2606.
- Dudek K, Dudkowski Ł, M, Bazyłko A, Kazmierski S K, Kiss A, (2016). Caffeic acid derivatives isolated from the aerial parts of *Galinsogaparviflora* and their effect on inhibiting oxidative burst in human neutrophils. *Phytochem. Lett*, **16**, 303–310.
- Dusek P, Schneider SA, Aaseth J, (2016). Iron chelation in the treatment of neurodegenerative diseases. *J Trace Elem Med Biol*, **38**, 81–92.
- Dussauze H, Bourgault I, Doleris LM, Prinseau J, Baglin A, Hanslik T, (2007). Corticothérapie systémique et risque infectieux. *Rev Méd Interne*, **28**, 841–851.
- Eddouks M, Maghrani M, Lemhadri A, Ouahidi ML, Jouad H, (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). *J Ethnopharmacol*, **103**, 82–97.
- Eiserich JP, Hristova M, Cross CE, Jones AD, Freeman BA, Halliwell B, van der Vliet A, (1998). Formation of nitric oxide-derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. *Nature*, **391**, 393–397.
- El Azhary K, Tahiri Jouti N, El Khachibi M, Moutia M, Tabyaoui I, El Hou A, Achtaq H, Nadifi S, Habti N, Badou A, (2017). Anti-inflammatory potential of *Capparis spinosa* L. *in vivo* in mice through inhibition of cell infiltration and cytokine gene expression. *BMC Complement Altern Med*, **17**, 81.
- El Benna J, Dang PMC, Gougerot-Pocidallo MA and Elbim C, (2005). Phagocyte NADPH oxidase: a multicomponent enzyme essential for host defenses. *Arch Immunol Ther Exp*, **53**, 199–206.
- Ellis V, Murphy G, (2001). Cellular strategies for proteolytic targeting during migration and invasion. *FEBS Lett*, **506**, 1–5.
- Essakalli M, Atouf O, Bennani N, Benseffaj N, Ouadghiri S, Brick C, (2009). Toll-like récepteurs. *Pathol Biol*, **57**, 430–438.
- Fadok VA, Bratton DL, Konowal A, Freed PW, Westcott JY, Henson PM, (1998). Macrophages that have ingested apoptotic cells *in vitro* inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta 1, PGE2, and PAF. *J Clin Invest*, **101**, 890–898.
- Felipe SA, Rodrigues ES, Martin RP, Paiva AC, Pesquero JB, Shimuta SI, (2007). Functional expression of kinin B1 and B2 receptors in mouse abdominal aorta. *Braz J Med Biol Res*, **40**, 649–655.

- Feng X, Lu J, Xin H, Zhang L, Wang Y, Tang K, (2011). Anti-arthritic active fraction of *Capparis spinosa* L. fruits and its chemical constituents. *Yakugaku Zasshi*, **131**, 423–429.
- Fernandez-Botran R, (1991). Soluble cytokine receptors: their role in immunoregulation. *FASEB*, **5**, 2567–2574.
- Fernández MA, Sáenz MT, García MD, (1998). Anti-inflammatory Activity in Rats and Mice of Phenolic Acids Isolated from *Scrophularia frutescens*. *J Phap Pharmacol*, **50**, 1183–1 186.
- Fernandes HB, Machado DL, Dias JM, Brito TV, Batista JA, Silva RO, Pereira ACTC, Ferreira GP, Ramos MV, Medeiros JVR, Aragão KS, Ribeiro RA, Barbosa ALR, Oliveira JS, (2015). Laticifer proteins from *Plumeria pudica* inhibit the inflammatory and nociceptive responses by decreasing the action of inflammatory mediators and pro-inflammatory cytokines. *Rev bras Farmacogn*, **25**, 269–277.
- Fici S, (2001). Intraspecific variation and evolutionary trends in *Capparis spinosa* L. (Capparaceae). *Plant Syst Evol*, **228**, 123–141.
- Fici S, (2014). A taxonomic revision of the *Capparis spinosa* group (Capparaceae) from the Mediterranean to Central Asia. *Phytotaxa*, **174**, 1–24.
- Firuzi O, Lacanna A, Petrucci R, Marrosu G, Saso L, (2005). Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by "ferric reducing antioxidant power" assay and cyclic voltammetry. *Biochim Biophys Acta*, **1721**, 174–1784.
- Frankel EN, Meyer AS, (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J Sci Food Agric*, **80**, 1925–1941.
- Fu XP, Wu T, Abdurahim M, Su Z, Hou XL, Aisa HA, Wu H, (2008). New spermidine alkaloids from *Capparis spinosa* roots. *Phytochem Lett*, **1**, 59–62.
- Fukui S, Iwamoto N, Takatani A, Igawa T, Shimizu T, Umeda M, Nishino A, Horai Y, Hirai Y, Koga T, Kawashiri SY, Tamai M, Ichinose K, Nakamura H, Origuchi T, Masuyama R, Kosai K, Yanagihara K, Kawakami A, (2018). M1 and M2 Monocytes in rheumatoid arthritis: A contribution of imbalance of M1/M2 monocytes to osteoclastogenesis. *Front Immunol*, **8**, 1958.
- Gabay C, Lamacchia C, Palmer G, (2010). IL-1 pathways in inflammation and human diseases. *Nat Rev Rheumatol*, **6**, 232–41.
- Gadgoli C, Mishra SH, (1999). Antihepatotoxic activity of *p*-methoxy benzoic acid from *Capparis spinosa*. *J Ethnopharmacol*, **66**, 187–192.
- Gamet-Payrastre L, Manenti S, Gratacap MP, Tulliez J, Chap H, Payrastre B, (1999). Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. *Gen Pharmacol*, **32**, 279–86.
- Ganesan K, Xu B, (2017). A Critical Review on Polyphenols and Health Benefits of Black Soybeans. *Nutrients*, **9**, 455.

- García JJ, Bote E, Hinchado MD, Ortega E, (2011). A single session of intense exercise improves the inflammatory response in healthy sedentary women. *J Physiol Biochem*, **67**, 87–94.
- Germanò MP, De Pasquale R, D'Angelo V, Catania S, Silvari V, Costa C, (2002). Evaluation of extracts and isolated fraction from *Capparis spinosa* L. buds as an antioxidant source. *J Agric Food Chem*, **50**, 1168–1171.
- Gilroy DW, Colville-Nash PR, Willis D, Chivers J, Paul-Clark MJ, Willoughby DA, (1999). Inducible cyclooxygenase may have anti-inflammatory properties. *Nat Med*, **5**, 698–701.
- Goel A, Digvijaya, Garg A, Kumar A, (2016). Effect of *Capparis spinosa* Linn. extract on lipopolysaccharide-induced cognitive impairments in rats. *Indian J Exp Biol*, **54**, 126–132.
- Gong T, Wang X, Yang Y, Yan Y, Yu C, Zhou R, Jiang W, (2017). Plant lectins activate the nlrp3 inflammasome to promote inflammatory disorders. *J Immunol*, **198**, 2082–2092.
- Gougerot-Pocidallo MA, El Benna J, Dangpmc PMC, Elbim C, (2007). Quand les polynucléaires neutrophiles attrapent les agents pathogènes dans leurs filets. *Med Sci*, **23**, 464–465.
- Goulart IM, Mineo JR, Foss NT, (2000). Production of transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta1) by blood monocytes from patients with different clinical forms of leprosy. *Clin Exp Immunol*, **122**, 330–334.
- Gülçin I, Elmastas M, Aboul-Enein HY, (2007). Determination of antioxidant and radical scavenging activity of Basil (*Ocimum basilicum* L. Family Lamiaceae) assayed by different methodologies. *Phytother Res*, **21**, 354–61.
- Gülçin I, F, Sarıkaya SBÖ, Bursal E, Bilsel G, Gören AC, (2011). Polyphenol contents and antioxidant properties of medlar (*Mespilus germanica* L.). *Rec Nat Prod*, **5**, 158–175.
- Gupta VK, Kumria R, Garg M, Gupta M, (2010). Recent updates on free radicals scavenging flavonoids: An overview. *Asian J Plants Sci*, **9**, 108–117.
- Guo Q, Zhao B, Li M, Shen S, Xin W, (1996). Studies on protective mechanisms of four components of green tea polyphenols against lipid peroxidation in synaptosomes. *Biochim Biophys Acta*, **1304**, 210–222.
- Haeffner-Cavaillon N, (1998). La réponse inflammatoire. Seconde partie. *Rev Méd Interne*, **19**, 748–750.
- Heeba GH, Mahmoud ME, El Hanafy AA, (2012). Anti-inflammatory potential of curcumin and quercetin in rats: Role of oxidative stress, heme oxygenase-1 and TNF- α . *Toxicol Ind Health*, **30**, 551–560.
- Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F, (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytother*, **2**, 3–6.

- Henrotin Y, Deby-Dupont G, Reginster JY, (2001). Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. *Rev Med Liege*, **56**, 433–442.
- Henzen C, (2003). Traitement aux glucocorticoïdes: risques et effets secondaires. *Forum Med Suisse*, **3**, 442–446.
- Herlong JL, Scott TR, (2006). Positioning prostanoids of the D and J series in the immunopathogenic scheme. *Immunol Lett*, **102**, 121–31
- Ho YS, Lai CS, Liu HI, Ho SY, Tai C, Pan MH, Wang YJ, (2007). Dihydrolipoic acid inhibits skin tumor promotion through anti-inflammation and anti-oxidation. *Biochem Pharmacol*, **73**, 1786–1795.
- Huang SS, Chiu CS, Lin TH, Lee MM, Lee CY, Chang SJ, Hou WC, Huang GJ, Deng JS, (2013). Antioxidant and anti-inflammatory activities of aqueous extract of *Centipeda minima*. *J Ethnopharmacol*, **147**, 395–405.
- Hurtado-Nedelec M, Dang PMC, Monteiro RC, El Bennab J, Gougerot-Pocidaloa MA, (2014). Physiologie des polynucléaires neutrophiles humains. *R F L*, **2014**, 25–38.
- Huseini HF, Hasani-Rnjbar S, Nayebi N, Heshmat R, Sigaroodi FK, Ahvazi M, Alaei BA, Kianbakht S, (2013). *Capparis spinosa* L. (Caper) fruit extract in treatment of type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Complement Ther Med*, **21**, 447–452.
- Hussain T, Tan B, Yin Y, Blachier F, Tossou MCB, Rahu N, (2016). Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us?. *Oxid Med Cell Longev*, **2016**, 7432797.
- Huynh ML, Fadok VA, Henson PM, (2002). Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF- β 1 secretion and the resolution of inflammation. *J Clin Invest*, **109** (1), 41–50.
- Inocencio C, Rivera D, Obon C, Alcaraz F, Barrena JA, (2006). A systematic revision of *Capparis* section *Capparis* (Capparaceae). *Ann Missouri Bot Gard*, **93**, 122–149.
- Ishola IO, Akinyede A, Lawal SM, Popoola TD, Lawal AM, (2015). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Olax subscorpioidea* Oliv. (Olacaceae) leaf extract in rodents: possible mechanisms of antinociceptive action. *W Afr J Pharm*, **26** (1), 99–112.
- Iwalewa EO, McGaw LJ, Naidoo V, Eloff GN, (2007). Inflammation: The foundation of diseases and disorders: a review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *Afr J Biotechnol*, **6**, 2868–2885.
- Jeon BT, Jeong EA, Shin HJ, Lee Y, Lee DH, Kim HJ, Kang SS, Cho GJ, Choi WS, Roh GS, (2012). Resveratrol attenuates obesity-associated peripheral and central inflammation and improves memory deficit in mice fed a high-fat diet. *Diabetes*, **61**, 1444–1454.

- Jilroy D, Colvillr-Nash PR, Willis D, Chivers J, Paul-Clark MJ and Willoughby DA, (1999). Inducible cyclooxygenase may have anti-inflammatory properties. *Nat Med*, **5**, 698–701.
- Jones WP, Kinghorn AD, (2005). Extraction of plant secondary metabolites. In: natural products isolation. Sarker S D, Latif Z, Gray A I. *Humana Press (Totowa)*, 321–351.
- Jouad H, Rhiouani H, El Hilaly JM, Eddouks M, (2001). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez–Boulemane). *J Ethnopharmacol*, **77**, 175–182.
- Joyce DA, Gibbons DP, Green P, Steer JH, Feldmann M, Brennan FM, (1994). Two inhibitors of pro-inflammatory cytokine release, interleukin-10 and interleukin-4, have contrasting effects on release of soluble p75 tumor necrosis factor receptor by cultured monocytes. *Eur J Immunol*, **24**, 2699–2705.
- Kalavani R, Banu RS, Jeyanthi KA, Sankari TU, Kanna AV, (2016). Evaluation of anti-inflammatory and antibacterial activity of *Pithecellobium dulce* (Benth) extract. *Biotechnol Res*, **2**, 148–154.
- Kanaoka Y, Boyce JA, (2004). Cysteinyl leukotrienes and their receptors: Cellular distribution and function in immune and inflammatory responses. *J Immunol*, **173**, 1503–1510.
- Kardeh S, Ashkani-Esfahani S, Alizadeh AM, (2014). Paradoxical action of reactive oxygen species in creation and therapy of cancer. *Eur J Pharmacol*, **735**, 150–168.
- Kato Y, Nagao A, Terao J, Osawa T (2003). Inhibition of myeloperoxidase catalyzed tyrosylation by phenolic antioxidants *in vitro*. *Biosci Biotechnol Biochem*, **67**, 1136–1139.
- Kendall RT, Feghali-Bostwick CA, (1994). Fibroblasts in fibrosis: novel roles and mediators. *Front Pharmacol*, **5**, 123.
- Kennedy AD, DeLeo FR, (2009). Neutrophil apoptosis and the resolution of infection. *Immunol Res*, **43**, 25–61.
- Khoddami A, Wilkes MA, Roberts TH, (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, **18**, 2328–2375.
- Kim HK, Namgoong SY, Kim HP, (1993). Antiinflammatory activity of flavonoids: Mouse ear edema inhibition. *Arch Pharm Res*, **16**, 18–24.
- Kim MS, Yi JM, Kim SH, Hong SH, Kim HM, (2004). Madimadi, Korean folk medicine, blocks TNF- α , IL-1 β , and IL-8 production by activated human immune cells. *Cytokines*, **25**, 179–186.
- Kintzios S, Papageorgiou K, Yiakoumettis I, Baricevic D and Kusar A, (2010). Evaluation of the antioxidants activities of four Slovene medicinal plant species by traditional and novel biosensory assays. *J Pharm Biomed Anal*, **53**, 773–776.

- Koster R, Anderson M, De Beer J, (1959). Acetic acid for analgesic screening, *Federal Proceeding*, **8**, 412–417.
- Kratofil RM, Kubes P, Deniset JF, (2017). Monocyte conversion during inflammation and injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **37**, 35–42.
- Kuga S, Otsuka T, Niuro H, Nuno H, Nemoto Y, Nakano T, Ogo T, Umei T, Niho Y, (1996). Suppression of superoxide anion production by interleukin-10 is accompanied by a downregulation of the genes for subunit proteins of NADPH oxidase. *Exp Hematol*, **24**, 151–157.
- Kulic-Bilusic T, Blazevic I, Dejanovic B, Milos M, Pifat G, (2010). Evaluation of the antioxidant activity of essential oils from caper (*Capparis spinosa*) and sea fennel (*Crithmum maritimum*) by different methods. *J Food Biochem*, **34**, 286–302.
- Kulic-Bilusic T, Schmoller I, Schnäbele K, Siracusa L, Ruberto G, (2012). The anticarcinogenic potential of essential oil and aqueous infusion from caper (*Capparis spinosa* L.). *FoodChem*, **132**, 261–267.
- Kumar T, Jain V, (2014). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Bridelia retusa* methanolic fruit extract in experimental animals. *Scientific World Journal*. Article ID 890151.
- Lam SK, Ng TB, (2009). A protein with antiproliferative, antifungal and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from caper (*Capparis spinosa*) seeds. *J Phytomed*, **16**, 444–450.
- Lam SK, Han QF, Ng TB, (2009). Isolation and characterization of a lectin with potentially exploitable activities from caper (*Capparis spinosa*) seeds. *Biosci Rep*, **29**, 293–299.
- Lapinet-vera JA, Scapini P, Calzetti F, Pérez O, Cassatella MA, (2000). Gene expression and production of tumor necrosis factor alpha, interleukin-1 β (IL-1 β), IL-8, macrophage inflammatory protein 1 α (MIP-1 α), MIP-1 β , and gamma interferon-inducible protein 10 by human neutrophils stimulated with group B meningococcal outer membrane vesicles. *Infect Immun*, **68**, 6917–6923.
- Laughton MJ, Evans PJ, Moroney MA, Hoult JR, Halliwell B, (1991). Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochem Pharmacol*, **42**, 1673–1681.
- Le K, Chiu F, Ng K, (2007). Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chem*, **105**, 353–363.
- Lee SJ, Kun HS, Hyeun WC, lae CD, Keun YJ, Sam SK, Hyun PK, (1993). Antiinflammatory activity of naturally occurring flavone and flavonol glycosides. *Arch Pharm Res*, **16**, 25–28.
- Lee W, Ku SK, Bae JS, (2012). Barrier protective effects of rutin in LPS-induced inflammation *in vitro* and *in vivo*. *Food Chem. Toxicol*, **50**, 3048–3055.

- Leite LM, Carvalho AG, Ferreira PL, Pessoa IX, Gonçalves DO, Lopes Ade A, Góes JG, Alves VC, Leal LK, Brito GA, Viana GS, (2011). Anti-inflammatory properties of doxycycline and minocycline in experimental models: an *in vivo* and *in vitro* comparative study. *Inflammopharmacology*, **19**, 99–110.
- Lemhadri, A., Eddouks, M., Sulpice, T., and Burcelin, R. (2007). Antihyperglycaemic and anti-obesity effects of *Capparis spinosa* and *Chamaemelum nobile* aqueous extracts in HFD Mice. *Am J Pharm Toxicol*, **2**, 106–110.
- Leyva-López N, Gutierrez-Grijalva EP, Ambriz-Perez DL, Heredia JB, (2016). Flavonoids as cytokine modulators: A possible therapy for inflammation-related diseases. *Int J Mol Sci*, **17**, 921.
- Li HB, Cheng KW, Wong CC, Fan KW, Chen F, Jiang Y, (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chem*, **102**, 771–776.
- Liu W, Liu J, Yin D, Zhao X, (2015). Influence of ecological factors on the production of active substances in the anti-cancer plant *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) T.S. Ying. *PLoS One*, **10**, e0122981.
- Liz R, Pereira DF, Horst H, Dalmarco EM, Dalmarco JB, Simionatto EL, Pizzolatti MG, Girard D, Fröde TS, (2011). Protected effect of *Esenbeckia leiocarpa* upon the inflammatory response induced by carrageenan in a murine air pouch model. *Int Immunopharmacol*, **11**, 1991–1999.
- Lo TN, Almeida AP, Beaven MA, (1982). Dextran and carrageenan evoke different inflammatory response in rat with respect to composition of infiltrates and effect of indomethacin. *J Pharmacol Exp Ther*, **221**, 261–267.
- London CA, Abbas AK, Kelso A, (1998). Helper T cell subsets: heterogeneity, functions and development. *Vet Immunol Immunopathol*. **63**, 37–44.
- Louis H, Le Moine O, Peny MO, Quertinmont E, Fokan D, Goldman M, Devière J, (1997). Production and Role of Interleukin-10 in Concanavalin A-Induced Hepatitis in Mice. *Hepatology*, **25**, 1382–1388.
- Lu N, Sui Y, Tian R, Peng YY, (2018). Inhibitive effects of quercetin on myeloperoxidase-dependent hypochlorous acid formation and vascular endothelial injury. *J Agric Food Chem*, **66**, 4933–4940.
- Malle E, Furtmüller PG, Sattler W, Obinger C, (2007). Myeloperoxidase: a target for new drug development?. *Br J Pharmacol*, **152**, 838–854.
- Manga HM, Brkic D, Marie DEP, Quetin-Leclercq J, (2004). *In vivo* anti-inflammatory activity of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Mull. Arg. (Euphorbiaceae). *J Ethnopharmacol*, **92**, 209–214.
- Mansour BR, Jilani HBI, Bouaziz M, Gargouri B, Elloumi N, Attia H, Ghrabi-Gammar Z, Lassoued S, (2016). Phenolic contents and antioxidant activity of ethanolic extract of *Capparis spinosa*. *Cytotechnology*, **68**, 135–142.

- Mansouri MT, Hemmati AA, Naghizadeh B, Mard SA, Rezaie A, Ghorbanzadeh B, (2015). A study of the mechanisms underlying the anti-inflammatory effect of ellagic acid in carrageenan-induced paw edema in rats. *Indian J Pharmacol*, **47**, 292–298.
- Maresca M, Micheli L, Mannelli LDC, Tenci B, Innocenti M, Khatib M., Mulinacci N, Ghelardini C, (2016). Acute effect of *Capparis spinosa* root extracts on rat articular pain. *J Ethnopharmacol*, **193**, 456–465.
- Marsolais D, Frenette J, (2005). Inflammation et réparation tendineuse. *Med Sci*, **21**, 181–186.
- Mathelier-Fusade P, Delers F, Engler R, (1990). Interleukine-8. *Immunoanal Biol Spec*, **5**, 9–13.
- Matthaus B, Ozcan M, (2002). Glucosinolate composition of young shoots and flower buds of capers (*Capparis* species) growing wild in Turkey. *J Agric Food Chem*, **50**, 7323–7325.
- Matthaus B, Ozcan M, (2005). Glucosinolates and fatty acid, sterol and tocopherol composition of seed oils from *Capparis spinosa* var. *spinosa* and *Capparis ovata* Desf. var. *canescens* (Coss.) Heywood. *J Agric Food Chem*, **53**, 7136–7141.
- Medzhitov R, (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, **454**, 428–435.
- Medzhitov R, (2010). Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell*, **140**, 771–776.
- Mekaj YH, (2016). The roles of platelets in inflammation, immunity, wound healing and malignancy. *Int J Clin Exp Med*, **9**, 5347–5358.
- Meotti F C, Senthilmohan R, Harwood D T, Missau F C, Pizzolatti M G, Kettle A J, (2008). Myricitrin as a substrate and inhibitor of myeloperoxidase: implications for the pharmacological effects of flavonoids. *Free Radic Biol Med*, **44**, 109–120.
- Messaoudi D, Bouriche H, Kada S, Kernouf N, Senator A, (2016). Anti-inflammatory and antioxidant properties of Algerian *Santolina chamaecyparissus*. *Pharm Lett*, **8**, 80–88.
- Middleton EJR, Kandaswami C, Theoharides TC, (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev*, **52**, 673–751.
- Min YD, Choi CH, Bark H, Son HY, Park HH, Lee S, Park JW, Park EK, Shin HI, Kim SH, (2007). Quercetin inhibits expression of inflammatory cytokines through attenuation of NF-kappaB and p38 MAPK in HMC-1 human mast cell line. *Inflamm Res*, **56**, 210–215.
- Minghetti L, Polazzi E, Nicolini A, Levi G, (1998). Opposite regulation of prostaglandin E2 synthesis by transforming growth factor-beta1 and interleukin 10 in activated microglial cultures. *J Neuroimmunol*, **82**, 31–39.

- Mócsai A, (2013). Diverse novel functions of neutrophils in immunity, inflammation, and beyond. *J Exp Med*, **210**, 1283–1299.
- Mollica A, Zengin G, Locatelli M, Stefanucci A, Mocan A, Macedonio G, Carradori S, Onaolapo O, Onaolapo A, Adegoke J, Olaniyan M, Aktumsek A, Novellino E, (2017). Anti-diabetic and anti-hyperlipidemic properties of *Capparis spinosa* L.: *In vivo* and *in vitro* evaluation of its nutraceutical potential. *J Funct Foods*, **35**, 32–42.
- Montero A, Badr KF, (2000). 15-lipoxygenase in glomerular inflammation. *Exp Nephrol*, **8**, 14–19.
- Morgan MJ, Liu ZG, (2011). Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling. *Cell Res*, **21**, 103–115.
- Mottaleb MA et Sarker SD (2012). Accelerated Solvent Extraction for Natural Products Isolation. In : Natural Products Isolation. Sarker SD et Nahar L. *Humana Press* (New York), 75–87.
- Moufid A, Farid O, Eddouks M, (2015). Pharmacological Properties of *Capparis spinosa* Linn. *Int J Diabetol Vasc Dis Res*, **3**, 99–104.
- Moutia M, El Azhary K, Elouaddari A, Al Jahid A, Jamal Eddine J, Seghrouchni F, Habti N, Badou A, (2016). *Capparis Spinosa* L. promotes anti-inflammatory response *in vitro* through the control of cytokine gene expression in human peripheral blood mononuclear cells. *BMC Immunol*, **17**, 26.
- Naidu MM, Shyamala BN, Naik JP, Sulochanamma G, Srinivas P, (2011). Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds. *Lebensm Wiss Technol*, **44**, 45–456.
- Neyestani TR, (2010). Polyphenols and immunity. In: Wild-type food in health promotion and disease prevention. De Meester F, Watson RR. Eds. *Humana Press* (Totowa). 413–433.
- Nisar A, Malik AH, Zargar MA, (2013). *Atropa acuminata* Royle Ex Lindl. Blunts production of pro-inflammatory mediators eicosanoids., leukotrienes, cytokines *in vitro* and *in vivo* models of acute inflammatory responses. *J Ethnopharmacol*, **147**, 584–94.
- Noack M, Kolopp-Sarda MN, (2018). Cytokines et inflammation: physiologie, physiopathologie et utilisation thérapeutique. *Rev Fr Lab*, **489**, 28–37.
- Norian R, Delirezh N, Azadmehr A, (2015). Evaluation of proliferation and cytokines production by mitogen-stimulated bovine peripheral blood mononuclear cells. *Vet Res Forum*, **6**, 265 – 271.
- Ocaña-Fuentes A, Arranz-Gutiérrez E, Señorans FJ, Reglero G, (2010). Supercritical fluid extraction of oregano (*Origanum vulgare*) essential oils: anti-inflammatory properties based on cytokine response on THP-1 macrophages. *Food Chem Toxicol*, **48**, 1568–1575.

- O'Garra A, (1998). Cytokines induce the development of functionally heterogeneous T helper cell subsets. *Immunity*, **8**, 275–283.
- Olivares-Vicente M, Barrajon-Catalan E, Herranz-Lopez M, Segura-Carretero A, Joven J, Encinar JA, Micol V, (2018). Plant-Derived Polyphenols in Human Health: Biological Activity, Metabolites and Putative Molecular Targets. *Curr Drug Metab*, **19**, 351–369.
- Olszowy M, Dawidowicz AL, (2016). Essential oils as antioxidants: their evaluation by DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC, and β -carotene bleaching methods. *Monatsh Chem*. **147**, 2083–2091.
- Oyedapo OO, Makinde MA, Ilesanmi MG, Abimbola OE, Akinwunmi FK, Akinpelu AB, (2015). Biological activities (anti-inflammatory and antioxydant) of fractions and methanolic extract of *Philonotis hastata* (Duby wijk & Margadant). *Afr J Tradit Complement Altern Med*, **12**, 50–55.
- Pacheco Y, Cheria S, hosni R, Aloui R, Gormand F, Chabannes B, Perrin fayolle m, Lagarde M, (1993). Cytokines et eicosanoïdes dans les processus inflammatoires. *Rev. fr. Allergol*, **33**, 298–310.
- Panico AM, Cardile V, Garufi F, Puglia C, Bonina F, Ronsisvalle G, (2005). Protective effect of *Capparis spinosa* on chondrocytes. *Life Sci*, **77**, (20), 2479–2488.
- Pasquier C, (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Rev Fr Lab*. **1995 (276)**, 87–92.
- Passos GF, Medeiros R, Marcon R, Nascimento AF, Calixto JB, Pianowski LF, (2013). The role of PKC/ERK1/2 signaling in the anti inflammatory effect of tetracyclic triterpene euphol on TPA-induced skin inflammation in mice. *Eur J Pharmacol*, **698**, 413–420.
- Pisoschi AM, Pop A, (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem*, **97**, 55–74.
- Pragasam SJ, Venkatesan V, Rasool M, (2013). Immunomodulatory and anti-inflammatory effect of p-coumaric acid, a common dietary polyphenol on experimental inflammation in rats. *Inflammation*, **36**, 169–176.
- Prakash D, Suri S, Upadhyay G, Singh BN, (2007). Total phenol, antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants. *Int J Food Sci Nutr*, **58**, 18–28.
- Prior R.L, Wu X, Schaich K, (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem*, **53**, 4290–302.
- Que F, Mao L, Pan X, (2006). Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. *Food Res Int*, **39**, 581–587.
- Rahmani R, Mahmoodi M, Karimi M, Hoseini F, Heydari R, Salehi M, Yousefi A, (2013). Effect of hydroalcoholic extract of *Capparis spinosa* fruit on blood sugar and lipid profile of diabetic and normal rats. *Zahedan J Res Med Sci*, **15**, 34–38.

- Ramana KV, Srivastava S, Singhal SS, (2013). Lipid peroxidation products in human death and disease. *Oxid Med Longev*, **2013**, 583438.
- Ramezani-Gask M, Bahrani MJ, Shekafandeh A, Salehi H, Taghvaei M, Al-Ahmadi MJ, (2008). A comparison of different propagation methods of common caper-bush (*Capparis spinosa* L.) as a new horticultural crop. *Int J Plant Dev Biol*, **2**, 106–110.
- Rauh LK, Horinouchi CD, Loddi AM, Pietrovski EF, Neris R, Souza-Fonseca-Guimarães F, Buchi DF, Biavatti MW, Otuki MF, Cabrini DA, (2011). Effectiveness of *Vernonia scorpioides* ethanolic extract against skin inflammatory processes. *J Ethnopharmacol*, **138**, 390–397.
- Reshma P, Arun KP, Brindha P, (2014). *In vitro* anti-inflammatory, antioxidant and nephroprotective studies on leaves of *Aegle marmelos* and *Ocimum sanctum*. *Asian J Pharm Clin Res*, **7**, 121–129.
- Ribeiro RA, Vale ML, Thomazzi SM, Paschoalato AB, Poole S, Ferreira SH, Cunha FQ, (2000). Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *Eur J Pharmacol*, **387**, 111–118.
- Ribeiro D, Freitas M, Tomé S.M, Silva A.M, Porto G, Fernandes E, (2013). Modulation of human neutrophils' oxidative burst by flavonoids. *Eur J Med Chem*. **67**, 280–292.
- Ribeiro D, Freitas M, Lima JL, Fernandes E, (2015). Proinflammatory Pathways: The Modulation by Flavonoids. *Med Res Rev*, **35**, 877–936.
- Ricote M, Li AC, Willson TM, Kelly CJ, Glass CK, (1998). The peroxisome proliferator-activated receptor- γ is a negative regulator of macrophage activation. *Nature*, **391**, 79–82.
- Rock KL, Kono H, (2008). The inflammatory response to cell death. *Annu Rev Pathol Mech Dis*, **3**, 99–126.
- Rodman JE, Karol KE, Price RA, Sytsma KJ, (1996). Molecules, morphology and Dahlgren's expanded order capparales. *Syst Bot*, **21**, 289–307.
- Rohit Y, Saurabh R, Ajay S, (2012). Review On Antioxidants Activity And Its Evaluation. *J Pharma Res*, **1**, 41–58.
- Romeo V, Ziino M, Giuffrida D, Conduro C, Verzera A, (2007). Flavour profile of capers (*Capparis spinosa* L.) from the Eolian Archipelago by HS-SPME/GC-MS. *Food Chem*, **101**, 1272–1278.
- Ross KA, Beta T, Arntfield SD, (2009). A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods. *Food Chem*, **113**, 336–344.
- Sadeghi H, Mostafazadeh M, Sadeghi H, Naderian M, Barmak MJ, Talebianpoor MS, Mehraban F, (2014). *In vivo* anti-inflammatory properties of aerial parts of *Nasturtium officinale*. *Pharm Biol*, **52**, 169–174.

- Saija A, Scalese M, Lanza M, Marzullo D, Bonina F, Castelli F, (1995). Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembrane. *Free Radic Biol Med*, **19**, 481–486.
- Saito H, Shimizu H, Mita H, Maeda Y, Akiyama K. Histamine augments VCAM-1 expression on IL-4 and TNF-alpha-stimulated human umbilical vein endothelial cells, (1996). *Int Arch Allergy Immunol*, **111**, 126–32.
- Sánchez A, Calpena AC, Clares B, (2015). Evaluating the Oxidative Stress in Inflammation: Role of Melatonin. *Int J Mol Sci*, **16**, 16981-7004.
- Saraiva M, O'Garra A, (2010). The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat Rev Immunol*, **10**, 170–81.
- Saraiva RA, Araruna MK, Oliveira RC, Menezes KD, Leite GO, Kerntopf MR, Costa JG, Rocha JB, Tomé AR, Campos AR, Menezes IR, (2011). Topical anti-inflammatory effect of *Caryocar coriaceum* Wittm. (Caryocaraceae) fruit pulp fixed oil on mice ear edema induced by different irritant agents. *J Ethnopharmacol*, **136**, 504–510.
- Saran M, Beck-Speier I, Fellerhoff B, Bauer G, (1999). Phagocytic killing of microorganisms by radical processes: consequences of the reaction of hydroxyl radicals with chloride yielding chlorine atoms. *Free Radic Biol Med*, **26**, 482–490.
- Sass G, Heinlein S, Agli A, Bang R, Schümann J, Tiegs G, (2002). Cytokine expression in three mouse models of experimental hepatitis. *Cytokine*, **19**, 115–120.
- Satyanarayana T, Mathews AA, Vijetha P, (2008). phytochemical and pharmacological Review of Some Indian Capparis Species. *Pharmacogn Rev*, **2**, 36–45.
- Schmidt S, Moser M, Sperandio M, (2013). The molecular basis of leukocyte recruitment and its deficiencies. *Mol Immunol*, **55** (1), 49–58.
- Schneider CP, Schwacha MG, Chaudry IH, (2004). The role of interleukin-10 in the regulation of the systemic inflammatory response following trauma-hemorrhage. *Biochim Biophys Acta*, **1689**, 22–32.
- Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, Hume DA, (2004). Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J Leukoc Biol*, **75**, 163–89.
- Seidel V, (2005). Initial and Bulk Extraction. In: natural products isolation. Sarker S D, Latif Z, Gray A I. *Humana Press (Totowa)*, 27–37.
- Shinohara Y, Tsukimoto M, (2018). Adenine nucleotides attenuate murine t cell activation induced by concanavalin a or t cell receptor stimulation. *Front Pharmacol*, **8**, 986.

- Selloum L, Reichl S, Müller M, Sebihi L, Arnhold J, (2001). Effects of flavonols on the generation of superoxide anion radicals by xanthine oxidase and stimulated neutrophils. *Arch Biochem Biophys*, **395**, 49–56.
- Selloum L, Bouriche H, Tigrine C, Boudoukha C, (2003). Anti-inflammatory effect of rutin on rat paw oedema, and on neutrophils chemotaxis and degranulation. *Ex Toxicol Pathol*, **54**, 313–318.
- Seo CS, Jeong SJ, Yoo SR, Lee NR, HK, (2016). Quantitative analysis and *in vitro* anti-inflammatory effects of gallic acid, ellagic acid, and quercetin from *Radix sangisorbae*. *Pharmacogn Mag*, **12**, 104–108.
- Serrero M, Grimaud JC, Peyrin-Biroulet L, (2017). Actualités thérapeutiques dans les MICI. *Colon & Rectum*, **11**, 152–158.
- Serteyn D, Grulke S, Franck T, Mouithys-Mickalad A, Deby-dupont G (2003). La myeloperoxydase des neutrophiles, une enzyme de defense aux capacités oxydantes. *Ann Med Vet*, **147**, 79–93.
- Setty AR, Sigal LH, (2005). Herbal medications commonly used in the practice of rheumatology: mechanisms of action, efficacy, and side effects. *Semin Arthritis Rheum*, **34**, 773–784.
- Shahidi F, Ambigaipalan P, (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects—a review. *J Funct Foods*, **18**, 820–897.
- Shaikh PZ, (2011). Cytokines & their physiologic and pharmacologic functions in inflammation: A review. *Int J Pharm & Life Sci*, **2**, 1247–1263.
- Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaili SA, Mardani F, Seifi B, Mohammadi A, Afshari JT, Sahebkar A, (2018). Macrophage plasticity, polarization and function in health and disease. *J Cell Physiol*, **233**, 6425–6440.
- Sharma S, Ali A, Ali J, Sahni JK, Baboota S, (2013). Rutin : therapeutic potential and recent advances in drug delivery. *Expert Opin Investig Drugs*, **22**, 1063–1079.
- Sher H, Alyemeni MN, (2010). Ethnobotanical and pharmaceutical evaluation of *Capparis spinosa* L, validity of local folk and Unani system of medicine. *J Med Plants Res*, **4**, 1751–1756.
- Shi Y, Liang XC, Zhang H, Wu QL, Qu L, Sun Q, (2013). Quercetin protects rat dorsal root ganglion neurons against high glucose-induced injury in vitro through Nrf-2/ HO-1 activation and NF- κ B inhibition. *Acta Pharmacol Sinica*, **34**, 1140–1148.
- Shiba Y, Kinoshita T, Chuman H, Taketani Y, Takeda E, Kato Y, Naito M, Kawabata K, Ishisaka A, Terao J, Kawai Y, (2008). Flavonoids as substrates and inhibitors of myeloperoxidase: molecular actions of aglycone and metabolites. *Chem Res Toxicol*, **21**, 1600–1609.

- Siracusa L, Kulisic-Bilusic T, Politeo O, Krause I, Dejanovic B, Ruberto G, (2011). Phenolic composition and antioxidant activity of aqueous infusions from *Capparis spinosa* L. and *Crithmum maritimum* L. before and after submission to a two-step *in vitro* digestion model. *J Agric Food Chem*, **59**, 12453–12459.
- Sol VVD, Punzon C, Fresno M, (2008). IFN- γ induced tnf- α expression is regulated by interferon regulatory factors 1 and 8 in mouse macrophages. *J Immunol*, **181**, 4461–4470.
- Song HY, Lee JA, Ju SM, Yoo KY, Won MH, Kwon HJ, Eum WS, Jang SH, Choi SY, Park J, (2008). Topical transduction of superoxide dismutase mediated by HIV-1 Tat protein transduction domain ameliorates 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced inflammation in mice. *Biochem Pharmacol*, **75**, 1348–1357.
- Sprangers S, Vries TJD, Everts V, (2016). Monocyte Heterogeneity: Consequences for Monocyte-Derived Immune Cells. *J Immunol Res*, **2016**, Article ID 1475435.
- Starec M, Waitzova D, Elis J, (1988). Evaluation of the analgesic effect of RG-tannin using the hotplate and tail flick method in mice. *Cesk Farm*, **37**, 319–321.
- Stasia MJ, (2007). La granulomatosse septique chronique X⁺ : un fabuleux modèle d'étude de l'activation du complexe NADPH oxydase. *Med Sci*, **23**, 526–32.
- Steenkamp V, Mathivha E, Gouws MC, van Rensburg CEJ, (2004). Studies on antibacterial, antioxidant and fibroblast growth stimulation of wound healing remedies from South Africa. *J Ethnopharmacol*, **95**, 353–357.
- Steinhubl SR (2007). Platelets as mediators of inflammation. *Hematol Oncol Clin North Am*, **21**, 115–121.
- Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD, (2010). IgE, Mast Cells, Basophils, and Eosinophils. *J Allergy Clin Immunol*, **125**, S73–S80.
- Stramer BM, Mori R, Martin P, (2007). The inflammation-fibrosis link? A Jekyll and Hyde role for blood cells during wound repair. *J Invest Dermatol*, **127**, 1009–1017.
- Strehl A, Spies C.M, Buttgerit F, (2011). Pharmacodynamics of glucocorticoids, *Clin Exp Rheumatol*, **5**, 13–18.
- Takahashi T, Maeda KI, Nakamura Y, Okano Y, Ge N, Sone S, (2000). Interleukin-10 inhibits the production of inflammatory cytokines by antigen-stimulated mononuclear cells from asthmatic patients. *Allergol Int*, **49**, 55–62.
- Tangney CC, Rasmussen HE, (2013). Polyphenols, Inflammation, and Cardiovascular Disease. *Curr Atheroscler Rep*, **15**, 324.
- Tecchio C, Micheletti A, Cassatella MA, (2014). Neutrophil-Derived Cytokines: Facts Beyond Expression. *Front Immunol*, **5**, 508. Article ID 890151.
- Tepe B, Sokmen M, Akpulat HA and Sokmen A, (2006). Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* Species from turkey. *Food Chem*, **95**, 200–204.

- Terblanche U, Semakalu CC, Mtunzi F, Pillay M. (2017). Screening of variables influencing extraction yield of *Cotyledon orbiculata*: 23 full factorial design. *J Pharmacogn Phytochem Res*, **9**, 303–312.
- Tesoriere L, Butera D, Gentile C, Livrea MA, (2007). Bioactive components of caper (*Capparis spinosa* L.) from Sicily and Antioxidant Effects in a Red Meat Simulated Gastric Digestion. *J Agric Food Chem*, **55**, 8465–8471.
- Tian R, Ding Y, Peng YY, Lu N (2017). Inhibition of myeloperoxidase- and neutrophil mediated hypochlorous acid formation *in vitro* and endothelial cell injury by (-)-epigallocatechin gallate. *J Agric Food Chem*, **65**, 3198–3203.
- Tlili N, Munne-Bosch S, Nasri N, Saadaoui E, Khaldi A, Triki S, (2009). Fatty acids, tocopherols and carotenoids from seeds of Tunisian caper *Capparis spinosa*. *J Food Lipids*, **16**, 452–464.
- Tlili, N, Nasri N, Saadaoui E, Khaldi A, Triki S, (2010a). Sterol composition of caper (*Capparis spinosa*) seeds. *Afr J Biotechnol*, **9**, 3328–3333.
- Tlili N, Khaldi A, Triki S, Munné-Bosch S, (2010b). Phenolic compounds and vitamin antioxidants of caper (*Capparis spinosa*). *Plant Foods Hum Nutr*, **65**, 260–265.
- Tlili N, El-Fallah W, Saadadoui E, Khaldi AH, Triki S, Nasri N, (2011). The caper (*Capparis* L.): ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. *Fitoterapia*, **82**, 93–101.
- Tlili N, Feriani A, Saadoui E, Nasri N, Khaldi A, (2017). *Capparis spinosa* leaves extract: source of bioantioxidants with nephroprotective and hepatoprotective effects. *Biomed Pharmacother*, **87**, 171–179.
- Tozeren A, Ley K, (1992). How do selectins mediate leukocyte rolling in venules?. *Biophys J*, **63**, 700–709.
- Tréchet P, Jouzeau JY, (2014). Bases chimiques et pharmacologiques des AINS, *Rev fr Allergol*, **54**, 212–217.
- TrivellatoGrassi L, Malheiros A, Meyre-Silva C, Buss Zda S, Monguilhott ED, Fröde TS, da Silva KA, de Souza MM, (2013). From popular use to pharmacological validation: A study of the anti-inflammatory, anti-nociceptive and healing effects of *Chenopodium ambrosioides* extract. *J Ethnopharmacol*, **145**, 127–138.
- Tsai YC, Tsai TF, (2017). Anti-interleukin and interleukin therapies for psoriasis: current evidence and clinical usefulness. *Ther Adv Musculoskelet Dis*, **9**, 277–294.
- Turgut NH, Kara H, Arslanbş E, Mert DG, Tepe B, Güngör H, (2015). Effect of *Capparis spinosa* L. on cognitive impairment induced by D-galactose in mice via inhibition of oxidative stress. *Turk J Med Sci*, **45**, 1127–1136.
- Vadivu R, Lakshmi KS, (2008). *In vitro* and *in vivo* anti-inflammatory activity of leaves of *Symplocos cochinchinensis* (Lour) Moore ssp *laurina*. *Bangladesh J Pharmacol*, **3**, 121–124.

- Valenzuela-Barra G, Castro C, Figueroa C, Barriga A, Silva X, de las Heras B, Hortelano S, Delporte C (2015). Anti-inflammatory activity and phenolic profile of propolis from two locations in Región Metropolitana de Santiago, Chile. *J Ethnopharmacol*, **168**, 37–44.
- Verdan AM, Wang HC, García CR, Henry WP and Brumaghim JL, (2011). Iron binding of 3- hydroxychromone, 5-hydroxychromone, and sulfonated morin: Implications for the antioxidant activity of flavonols with competing metal binding sites. *J Inorg Biochem*, **105**, 1314–1322.
- Viallard JF, Taupin JL, Ranchin V, Leng B, Pellegrin JL, Moreau JF, (2000). Rôle des cytokines dans la physiopathologie du lupus. *Immuno-Anal Biol Spe*, **15**, 233–242.
- Vincent T, (2014). Autoanticorps anti-cytokines. *Rev Fr Lab*, **464**, 36–39.
- Wahid A, (2007). Physiological implications of metabolites biosynthesis for net assimilation and heat- stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. *J Plant Res*, **120**, 219–228.
- Wang SW, Wang YJ, Su YJ, Zhou WW, Yang SG, Zhang R, Zhao M, Li YN, Zhang ZP, Zhan DW, Liu RT, (2012). Rutin inhibits β -amyloid aggregation and cytotoxicity, attenuates oxidative stress, and decreases the production of nitric oxide and proinflammatory cytokines. *Neurotoxicology*, **33**, 482–490.
- Wang B, Sun J, Li X, Zhou Q, Bai J, Shi Y, Le G, (2013). Resveratrol prevents suppression of regulatory T-cell production, oxidative stress, and inflammation of mice prone or resistant to high-fat diet-induced obesity. *Nutr Res*, **33**, 971–981.
- Wang N, Liang H, Zen K, (2014). Molecular mechanisms that influence the macrophage M1-M2 polarization balance, *Front Immunol*, **5**, 614.
- Wanikiat P, Panthong A, Sujayanon P, Yoosook C, Rossi AG, Reutrakul V, (2008). The anti-inflammatory effects and the inhibition of neutrophil responsiveness by *Barleria lupulina* and *Clinacanthus nutans* extracts. *J Ethnopharmacol*, **116**, 234–244.
- Ward PA, (2010). Acute and chronic inflammation. In: Fundamentals of Inflammation. Serhan CN, Ward PA, Gilroy DW. Eds. *Cambridge University Press* (New York), 1–16.
- Weill B, Batteux F, Dhainaut J, (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, *De Boeck Université* (Paris), 12-23.
- Winrow WR, Winyard PG, Morris CJ, Blake DR, (1993). Free radicals in inflammation: second messengers and mediators of tissue destruction. *Br Med Bull*, **49**, 506–522.
- Winter CA, Risley EA, Nuss GW, (1962). Carrageenin-induced oedema in hind paws of rats as an assay for antiinflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med*, **111**, 544–547.
- Wu C, Chen F, Wang X, Kim H, He G, Haley-Zitlin V, Huang G, (2006). Antioxidant constituents in feverfew (*Tanacetum parthenium*) extract and their chromatographic quantification. *Food Chem*, **96**, 220–227.

- Yang T, Wang CH, Chou G, Wu T, Cheng XM, Wang ZT, (2010). New alkaloids from *Capparis spinosa* : Structure and X-ray crystallographic analysis. *Food Chem*, **123**, 705–710.
- Yaswen L, Kulkarni AB, Fredrickson T, Mittleman B, Schiffman R, Payne S, Longenecker G, Mozes E, Karlsson S, (1996). Autoimmune manifestations in the transforming growth factor- β 1 knockout mouse. *Blood* , **87**, 1439–1445.
- Yeh CH, Yang JJ, Yang ML, Li YC, Kuan YH, (2014). Rutin decreases lipopolysaccharide-induced acute lung injury via inhibition of oxidative stress and the MAPK–NF- κ B pathway. *Free Radic Biol Med*, **69**, 249–257.
- Yilmaz HR, Uz E, Yucel N, Altuntas I, Ozcelik N, (2005). Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver. *J Biochem Mol Toxicol*, **18**, 234–238.
- Yoon JH, Youn K, Ho CT, Karwe MV, Jeong WS, Jun M, (2014). p-Coumaric acid and ursolic acid from Corni fructus attenuated β -amyloid_{25–35}-induced toxicity through regulation of the NF- κ B signaling pathway in PC12 cells. *J Agric Food Chem*, **62**, 4911–4916.
- Yoshino M, Murakami K, (1998). Interaction of iron with polyphenolic compounds: application to antioxidant characterization. *Anal Biochem*, **257**, 40–44.
- Yu L, Yang J, Wang X, Jiang B, Sun Y, Ji, Y, (2017). Antioxidant and antitumor activities of *Capparis spinosa* L. and the related mechanisms. *Oncol Rep*, **37**, 357–367.
- Zeghal KM, Sahnoun Z, (2013). La réaction inflammatoire et le stress oxydant. In: Abrégé de physiologie à l’usage des acupuncteurs et des réflexothérapeutes. *Rouxeville Y. Springer (Paris)*, 47–53.
- Zhang M, Zhou J, Wang L, Li B, Guo J, Guan X, Han Q, Zhang H, (2014). Caffeic acid reduces cutaneous tumor necrosis factor alpha (TNF- α), IL-6 and IL-1 β levels and ameliorates skin edema in acute and chronic model of cutaneous inflammation in mice. *Biol Pharm Bull*, **37**, 347–354.
- Zhang H, Ma ZF, (2018). Phytochemical and pharmacological properties of *Capparis spinosa* as a medicinal plant. *Nutrients*, **10**, 1–14.
- Zhou H, Jian R, Kang J, Huang X, Li Y, Zhuang C, Yang F, Zhang L, Fan X, Wu T, Wu X, (2010). Anti-inflammatory effects of caper (*Capparis spinosa* L.) fruit aqueous extract and the isolation of main phytochemicals. *J Agric Food Chem*, **58** (24), 12717–12721.
- Zhou HF, Xie C, Jian R, Kang J, Li Y, Zhuang CL, Yang F, Zhang LL, Lai L, Wu T, Wu X, (2011). Biflavonoids from caper (*Capparis spinosa* L.) fruits and their effects in inhibiting NF- κ B activation. *J Agric Food Chem*, **59**, 3060–3065.
- Zhu H , Liang QH, Xiong X-G , Wang Y, Zhang Z-H, Sun M-J, Lu X, Wu D, (2018). Anti-Inflammatory Effects of p-Coumaric Acid, a Natural Compound of *Oldenlandia*

diffusa, on Arthritis Model Rats. *Evid Based Complement Alternat Med*, **2018**, Article ID 5198594.

Résumé

L'activité anti-inflammatoire des extraits méthanoliques (E.Met) et aqueux (E.Aq) des feuilles et des bourgeons floraux de *Capparis spinosa* a été évaluée *in vivo* et *in vitro*. Les analyses phytochimiques des extraits ont révélé que les E.Met sont plus riches en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins que les E.Aq. Le traitement local des souris par 2 mg/oreille des extraits a inhibé l'inflammation induite par l'huile de croton avec un pourcentage de 66-86%. De même, le prétraitement des rats par 200 ou 400 mg/Kg des extraits prévient significativement l'œdème de la patte induit par λ -carragénine à partir de la 2^{ème} h avec 13-69%. D'autre part, le traitement des souris par ces deux doses, a réduit le nombre des contractions abdominales induites chez la souris par l'acide acétique avec 49-76%. En outre, le traitement des souris par 1 mg/poche des E.Met des feuilles et des bourgeons a inhibé significativement la migration des neutrophiles avec des pourcentages de 44% et 49%, respectivement. *In vitro*, l'incubation des cellules-concanavaline A stimulées avec les différentes concentrations (1, 10, 50, 100 μ g/ml) des extraits méthanoliques a diminué la production des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-8, IFN- γ) sans inhiber la production des cytokines anti-inflammatoires (IL-10 et TGF- β). Les inhibitions obtenues sont dose-indépendantes et varient entre 11% et 100%. L'E.Met des bourgeons est le seul extrait ayant exercé une inhibition significative (21-25%) sur la production de LTB4. L'incubation des neutrophiles-fMLP/cytochalasine B stimulés avec les extraits prévient significativement la production de l'O₂⁻. A 100 μ g/ml l'E.Met des feuilles exerce la meilleure inhibition (71%). Tous les extraits ont inhibé la MPO avec 13-67%. D'autre part, les résultats montrent que tous les extraits sont doués d'activité antioxydante importante. Cependant, l'E.Met des feuilles s'avère être le plus actif. En effet, cet extrait scavenge les radicaux de DPPH, réduit et chélate le fer ferreux avec des IC₅₀ de 51 μ g/ml, 81 μ g/ml et 169 μ g/ml, respectivement. En plus, il prévient le blanchissement de la β -carotène avec 66% et inhibe l'hémolyse des érythrocytes avec 93%. En conclusion, les extraits de *Capparis spinosa* possèdent une activité anti-inflammatoire importante, qui est probablement due à leur contenu en polyphénols qui ont la capacité d'inhiber la production des différents médiateurs de l'inflammation et de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène.

Mots clés: anti-inflammatoires, antioxydants, *Capparis spinosa*, cytokines, inflammation, médiateurs inflammatoires, neutrophiles.

ملخص

تم تقدير الفعل المضاد للالتهاب لكل من المستخلص الميثانولي والمائي لأوراق وبراعم أزهار نبتة الكبار *Capparis spinosa* داخل و خارج الكائن الحي. أظهر التقدير الكمي للمركبات الفينولية أن المستخلصات الميثانولية تحتوي أعلى كمية من عديدات الفينول الكلية، الفلافونويدات و الديباغ مقارنة بالمستخلصات المائية. بينت النتائج أن المعالجة الموضعية للفئران بـ 2 مغ/الأذن من المستخلصات تثبط التهاب الأذن المحفز بزيت croton بـ 66-86%. كما أظهرت المعالجة المسبقة للجرذان بـ 200 أو 400 مغ/كغ من المستخلصات قدرة معتبرة في الحماية من وذمة الرجل المحفزة بـ λ -carragénine ابتداء من الساعة الثانية بعد إحداث الالتهاب بنسبة 13-69%. من جهة أخرى، أظهرت معالجة الفئران بهاتين الجرعتين تخفيضا في عدد نقلصات البطن المحفزة بحمض الاستيك بـ 49-76%. بالإضافة إلى ذلك، أدت معالجة الفئران بـ 1 مغ من المستخلصات الميثانولية لكل من الأوراق و البراعم في الجيب الهوائي إلى انخفاض في هجرة الخلايا المتعادلة بنسب 44% و 49%، على الترتيب. أدى حضان الخلايا المحفزة بـ concanavaline A مع تراكيز مختلفة (1، 10، 50، 100 مغ/مغ) للمستخلصات الميثانولية إلى انخفاض إفراز السيتوكينات الالتهاب (IL-10 و TGF- β). نسبة التثبيط الناتجة غير متعلقة بالتركيز و تتراوح بين 11% و 100%. المستخلص الميثانولي للبراعم هو الوحيد الذي أظهر تثبيطا معنويا لإفراز LTB4 بنسبة 21-25%. أدت معالجة الخلايا المتعادلة المحفزة بـ fMLP/ cytochalasine B بمختلف التراكيز من المستخلصات إلى تثبيط معنوي في إفراز O₂⁻. المستخلص الميثانولي للأوراق هو الذي أظهر أعلى نسبة تثبيط و التي تقدر بـ 71% عند التركيز 100 مكغ/مل. أظهرت المستخلصات أيضا تثبيطا لإنزيم MPO بنسب تتراوح بين 13% و 67%. من جهة أخرى، بينت النتائج أن كل المستخلصات تملك نشاطية معتبرة مضادة للأكسدة، و يعتبر المستخلص الميثانولي للأوراق هو الأكثر نشاطية كونه أظهر قدرة على التقاط جذور DPPH، ارجاع و استخلاص أيونات الحديد بـ IC₅₀ مساوية لـ 51 مكغ/مل، 81 مكغ/مل و 169 مكغ/مل، على التوالي. إضافة إلى ذلك فهو يمنع أكسدة β -carotène بـ 66%، و يثبط تحلل كريات الدم الحمراء بـ 93%. خلاصة، إن مستخلصات *Capparis spinosa* تملك نشاطية مضادة للالتهاب معتبرة و التي يمكن أن ترجع لما تحتويه من عديدات الفينول التي تكبح إفراز وسائط الالتهاب و لها نشاطية مضادة للأكسدة.

الكلمات المفاتيح: مضادات الالتهاب، مضادات الأكسدة، *Capparis spinosa*، السيتوكينات، الالتهاب، وسائط الالتهاب، الخلايا المتعادلة.

Abstract

The anti-inflammatory activity of the methanolic (Met.E) and aqueous (Aq.E) extracts of leaves and flower buds of *Capparis spinosa* was evaluated *in vivo* and *in vitro*. The results showed that Met.E are riche in total polyphenols, flavonoids and tannins than Aq.E. The local treatment of mice with 2 mg/ear of Met.E or Aq.E inhibited ear edema induced by croton oil with 66-86%. Similarly, the oral pretreatment of rats with 200 or 400 mg/Kg of extracts, prevented significantly the paw edema induced by λ -carrageenan from the 2nd h with 13-69%. On the other hand, the treatment of mice with the same doses reduced the number of the abdominal writhing induced by acetic acid with 49-76%. In addition, the treatment of mice with 1mg/pouch of the Met.E of the leaves and buds prevented significantly the neutrophils migration with 44% and 49%, respectively. The *in vitro* results showed that the incubation of concanavalin A stimulated cells with different concentrations (1, 10, 50, 100 μ g/ml) of the methanolic extracts reduce the release of the pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-8, IFN- γ) and did not inhibit the production of the anti-inflammatory ones (IL-10 and TGF- β). The inhibitions values are dose-independent and are between 11% and 100%. The production of LTB4 from the neutrophils was inhibited (21-25%) only by the Met.E of the buds. The treatment of the fMLP/ cytochalasin B stimulated neutrophils prevented the production of the O₂⁻ significantly. At 100 μ g/ml, the best inhibition (71%) was obtained by the Met.E of leaves. All extracts showed an inhibition of 13-67% on MPO activity. On the other hand, the results showed that the extracts exhibited very important antioxidant activity. The Met.E of the leaves seem to be the best one since it scavenge DPPH radicals, reduce and chelate ferrous ions with IC₅₀ of 51 μ g/ml, 81 μ g/ml and 169 μ g/ml, respectively. Moreover, this extract prevented β -carotene bleaching with 66% and inhibited the hemolysis of the red cells with 93%. In conclusion, *Capparis spinosa* extracts exhibit an important anti-inflammatory activity. This activity can be attributed to the polyphenols contents that exhibit inhibitory effects on the production of the inflammatory mediators and antioxidant activity.

Key words: anti-inflammatory, antioxidants, *Capparis spinosa*, cytokines, inflammation, inflammatory mediators, neutrophils.