

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

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



جامعة سطيف 1 فرحات عباس
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

N°..... /SNV/2025

Thèse

Présentée par

CHENITI Wafa

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière : BIOLOGIE

Spécialité : BIOCHIMIE

THEME

**ACTIVITE ANTIOXYDANTE, ANTI-INFLAMMATOIRE
ET ANTIARTHRITIQUE DE *CAPPARIS SPINOSA* DE LA
REGION DE SETIF**

Soutenue publiquement le / /2026

Devant le jury

Président	Noureddine CHAREF	Professeur	Univ. Setif 1
Directeur	Lekhmici ARRAR	Professeur	Univ. Setif 1
Examineurs	Amar ZELLAGUI	Professeur	Univ. Oum El Bouaghi
	Noureddine GHERRAF	Professeur	Univ. Oum El Bouaghi
	Katia ABDELOUHAB	MCA	Univ. Bejaia
	Nacer AMRAOUI	MCA	Univ. Setif 1

Laboratoire de Biochimie Appliquée

Dédicace

À l'âme de mon cher père Allah yarahmou.

Que Dieu le récompense chaque lettre que j'ai enseignée à mes étudiants ou que j'enseignerai à l'avenir, et qu'il l'ajoute à la balance de ses bonnes actions.

À ma petite famille, mon mari Karim TAMOURT, mes enfants Yacine et Yasmine pour m'avoir encouragé, pour avoir vécu avec moi chaque instant de cette thèse et pour leur patience et leur endurance face aux pressions durant ces années pour réaliser ce travail.

Remerciements

Tout d'abord, je loue **Allah** d'avoir permis à cette œuvre de voir le jour.

Je voudrais exprimer mes plus sincères et reconnaissants remerciements à mon encadreur **Pr. ARRAR Lekhmici** pour avoir facilité toutes les étapes de ce travail, pour avoir consacré un temps précieux et des efforts à la lecture et à la correction de mon manuscrit, pour ses conseils et ses orientations, et surtout pour sa patience illimitée envers mes interruptions pendant mon parcours doctoral. Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère gratitude et de mon immense respect.

Je tiens à remercier profondément le président de mon jury, le **Pr. CHAREF Nouredine** pour ses conseils enrichissants, ses encouragements, son soutien et pour m'avoir apporté énergie et espoir à chaque fois, depuis ma première participation au laboratoire. Merci beaucoup, Monsieur.

Je tiens également à exprimer ma gratitude aux membres de mon jury pour leur patience et leur disponibilité à lire ma thèse : **Pr. ZELLAGUI Amar, Pr. GHERRAF Nouredine, Dr. AMRAOUI Nacer et Dr. ABDELOUHAB Katia**.

Je n'oublie jamais mes collègues de laboratoire **Dr. Haifaa LAROUI, Dr Imene ROUMILI, Dr Thoraya GUEMMAZ**, et l'ingénieur de laboratoire **Intissar SERRAI**, je les remercie pour leur aide et pour leur environnement de travail convivial et dynamique.

Mes remerciements vont également aux mes chers amies et collègues, **Dr. Soumia BENBRINIS, Dr. Abir REZZAGUI et Dr. Saliha BOUCHEFFA** pour leur aide, leur générosité, leur qualité humaine et professionnelle et pour leur accueil dans leur laboratoire à l'université de Setif pendant une période de la réalisation de ce travail.

Je remercie **Mr. Laymine BENGHEDFA et Mr. Abderrezzak BOUDERAA**, pour leur aide dans la récolte de la plante.

Je tiens à remercier vivement **Mme Hakima HAKOU YAHIRABEHI** qui m'a accueilli dans le laboratoire d'Anapath, Faculté de médecine à l'université de Béjaia pour faire les études histologiques de la partie pratique.

Je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail à l'université de Setif,

Enfin et peu importe combien je les remercie, je ne leur rendrai jamais assez, **mes parents**, mes sœurs **Souad, Fatiha, Lynda et Sabrina** et mes frères **Faïcel et Mounir** pour m'avoir encouragé le long de ces années.

ملخص

نبته الكبار *Capparis spinosa* هي شجيرة متوسطة من عائلة Capparaceae تستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي. تتمتع هذه النبتة بعدة خصائص بيولوجية مثل التأثيرات المضادة للأكسدة وحماية الكبد وتعديل المناعة. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثيرات المضادة للأكسدة والالتهابات للمستخلصات الميثانولية من أوراق (EMF) وسيقان (EMT) وثمار (EMFr) نبات *C. spinosa*. يُظهر تحديد مجموع عديدات الفينول الفلافونويدات والديباغ أن EMF يحتوي على أعلى تركيزات من عديدات الفينول ($0,9 \pm 57,37$ ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/غ من المستخلص) والفلافونويدات ($9,15 \pm 31,34$ ميكروغرام مكافئ الكيرستين/غ من المستخلص) والثانينات ($2,51 \pm 275,11$ ميكروغرام مكافئ حمض التانيك/غ من المستخلص). كما أظهر هذا المستخلص أعلى قدرة ارجاعية ($0,57 \pm 32,83$ ميكروغرام/مل) وأعلى نشاط احتجاز تجاه جذور DPPH و ABTS ($1,86 \pm 30,51$ ميكروغرام/مل و $0,08 \pm 11,93$ ميكروغرام/مل ، على التوالي). في حين أن منع تبيض كاروتين يبطأ كان متشابهًا تقريبًا بالنسبة للمستخلصات الثلاثة التي تمت دراستها. أظهر تقييم التأثير المضاد للوذمة أن EMF قد ثبط الوذمة التي سببها الجزييلين عند الفئران بنسبة 84.86٪ بجرعة 600 مغ/كغ. بينما كان EMFr فعالاً في علاج الوذمة التي سببها زيت الكروتون عند الفئران (35.89٪) والكاراجينين عند الجرذان (17.27 ± 52.50 ٪ في الساعة الثالثة) بجرعة 300 مغ/كغ. وأخيراً، تم الحصول أيضاً على تأثير مضاد للالتهابات بشكل وقائي مع EMF و EMFr (41.71٪ و 39.74٪ على التوالي) في نموذج التهاب المفاصل الناجم عن مادة مساعد فروند الكامل (AIA) عند الجرذان. وينعكس هذا التأثير في تحسن المؤشرات السريرية والمصلية والنسجية. أكدت هذه النتائج أن أجزاء نبات *C. spinosa* لها تأثيرات مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات مختلفة مرتبطة بمحتواها من عديدات الفينول و/أو الفلافونويدات، وتبرر الاستخدام التقليدي الواسع النطاق لهذا النبات. يمكن أن تشكل مستخلصات *C. spinosa* مصدرًا جيدًا للمكونات النباتية المستخدمة كأدوية لعلاج الأمراض الالتهابية.

الكلمات المفتاحية: *Capparis spinosa*، عديدات الفينول، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهابات،

التهاب المفاصل المحرض.

Résumé

Capparis spinosa est un arbuste méditerranéen de la famille des Capparaceae largement utilisé dans la médecine traditionnelle. Cette plante possède plusieurs activités biologiques telles que des effets antioxydants, hépatoprotecteurs et immunomodulateurs. L'objectif de la présente étude est d'évaluer les effets antioxydants et anti-inflammatoires des extraits méthanoliques de *C. spinosa* provenant des feuilles (EMF), des tiges (EMT) et des fruits (EMFr). La détermination des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins montre que l'EMF contient les concentrations les plus élevées de polyphénols ($57,37 \pm 0,9 \mu\text{g Eq AG/mg d'extract}$), de flavonoïdes ($31,34 \pm 9,15 \mu\text{g Eq Q/mg d'extract}$) et de tanins ($275,11 \pm 2,51 \mu\text{g Eq AT/mg d'extract}$). Cet extrait a également montré le pouvoir réducteur le plus élevé ($\text{EC}_{50} = 32,83 \pm 0,57 \mu\text{g/ml}$) et l'activité de piégeage la plus élevée envers le radical DPPH et ABTS ($\text{IC}_{50} = 30,51 \pm 1,86 \mu\text{g/ml}$ et $11,93 \pm 0,08 \mu\text{g/ml}$, respectivement). Alors que la prévention du blanchiment du β -carotène était presque similaire pour les trois extraits étudiés. L'évaluation de l'effet anti-œdémateux montre que l'EMF a inhibé l'œdème induit par le xylène chez la souris avec 84,86% à la dose de 600 mg/kg. Tandis que l'EMFr était efficace sur l'œdème induit par l'huile de croton chez la souris (35,89 %) et par la carragénine chez le rat ($52.50 \pm 17.27\%$ à 3h) à une dose de 300 mg/kg. Enfin, un effet anti-inflammatoire a été également obtenu en préventif avec l'EMFr et l'EMF (41,71% et 39,74% respectivement) dans le modèle de l'arthrite induite par l'adjuvant complet de Freund (AIA) chez le rat. Cet effet se traduit par une amélioration des paramètres cliniques, sériques et histologiques. Ces résultats ont confirmé que les parties de *C. spinosa* possèdent différents effets antioxydants et anti-inflammatoires liés à leur teneur en polyphénols et/ou flavonoïdes, et justifient l'utilisation traditionnelle répandue de cette plante. Les extraits de *C. spinosa* peuvent constituer donc une bonne source de phytoconstituants utilisés comme médicaments pour traiter les maladies inflammatoires.

Mots clés : *Capparis spinosa*, polyphénols, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, arthrite rhumatoïde.

Abstract

Capparis spinosa is a Mediterranean shrub belonging to the Capparaceae family, widely used in traditional herbal medicine. This plant has several biological activities, such as antioxidant, hepatoprotective, and immunomodulatory effects. The objective of this study is to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory effects of methanolic extracts of *C. spinosa* from leaves (EMF), stems (EMT), and fruits (EMFr). The determination of total polyphenols, flavonoids, and tannins shows that EMF contains the highest concentrations of polyphenols ($57.37 \pm 0.9 \mu\text{g AG Eq/mg}$ of extract), flavonoids ($31.34 \pm 9.15 \mu\text{g Q Eq/mg}$ of extract), and tannins ($275.11 \pm 2.51 \mu\text{g AT Eq/mg}$ of extract). This extract also showed the highest reducing power ($\text{EC}_{50} = 32.83 \pm 0.57 \mu\text{g/ml}$) and the highest scavenging activity against DPPH and ABTS radicals ($\text{IC}_{50} = 30.51 \pm 1.86 \mu\text{g/ml}$ and $11.93 \pm 0.08 \mu\text{g/ml}$, respectively). The prevention of β -carotene bleaching was almost similar for the three extracts studied. The evaluation of the anti-edema effect shows that EMF inhibited xylene-induced edema in mice by 84.86% at a dose of 600 mg/kg. EMFr was effective against croton oil-induced edema in mice (35.89%) and carrageenan-induced edema in rats ($52.50 \pm 17.27\%$ at 3 hours) at a dose of 300 mg/kg. Finally, an anti-inflammatory effect was also obtained preventively with EMFr and EMF (41.71% and 39.74% respectively) in the Freund's complete adjuvant-induced arthritis (AIA) model in rats. This effect resulted in an improvement in clinical, serum, and histological parameters. These results confirmed that parts of *C. spinosa* have various antioxidant and anti-inflammatory effects linked to their polyphenol and/or flavonoid content and justify the widespread traditional use of this plant. *C. spinosa* extracts may therefore be a good source of phytoconstituents used as drugs to treat inflammatory diseases.

Keywords: *Capparis spinosa*, polyphenols, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, induced rheumatoid arthritis.

Liste des abréviations

AIA : arthrite induite par l'adjuvant complet de Freund.

ACF : adjuvant complet de Freund.

Anti-CCP : anticorps anti-peptides cycliques citrullinés.

ACPAs : anticorps anti protein/peptides citrullinés.

AR : arthrite rhumatoïde.

AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens.

ABTS⁺⁺ : radical 3 éthylbenzothiazoline-6-sulphonique.

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl.

DL50 : demi-dose létale.

CAT : catalase.

CPA : cellules présentatrices de l'antigène.

DMARD : médicaments antirhumatismaux modificateurs de la maladie.

EMF : extrait méthanolique des feuilles.

EMFr : extrait méthanolique des fruits.

EMT : extrait méthanolique des tiges.

ERN : espèces réactives de nitrogène.

ESR : vitesse de sédimentation des érythrocytes.

FR : facteur rhumatoïde.

FSC-GM : facteur de stimulation des colonies de granulocytes et macrophages.

HCQ : hydroxychloroquine

LEF : leflunomide.

MEC : matrice extracellulaire.

MMPase : métalloprotéases matricielles.

MTX : methotrexate.

MDA : malonyl dialdéhyde.

NF κ B : facteur nucléaire κ B.

NO : monoxyde d'azote.

NOS : oxyde nitrique synthases.

iNOS : oxyde nitrique synthases inducible.

PRR : récepteurs de reconnaissance des pathogènes.

PAMP : motifs moléculaires associés aux pathogènes.

PNN : polynucléaires neutrophiles.

PSNs : polymorphismes à un seul nucléotide.

PTPN22 : Protéine tyrosine phosphatase non récepteur type 22.

ERO : espèces réactives de l'oxygène.

RANKL : ligand activateur du récepteur du NF κ B.

RANK : récepteur activateur du NF κ B.

SE : motif conservé.

TNF- α : facteur de nécrose tumorale α .

TPA : 12-O-tétracanoilphorbol-13-acétate.

Liste des figures

Figure 1: Diapédèse leucocytaire des PNN.....	7
Figure 2: Illustration schématique de la réponse inflammatoire aigue.	8
Figure 3: Mécanismes et types cellulaires impliqués dans l'inflammation chronique..	9
Figure 4: La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.....	10
Figure 5: Formation de radicaux libres à partir de l'oxygène	13
Figure 6: Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les systèmes de défenses antioxydantes.....	15
Figure 7: Différentes classes de polyphénols végétaux avec leurs squelettes structurels de base	18
Figure 8: Diagramme schématique de la région des gènes qui code pour le complexe majeur d'histocompatibilité II (CMHII) sur le chromosome 6.....	23
Figure 9: Conversion enzymatique de peptidyl arginine en peptidyl citrulline par PAD	24
Figure 10: Etiologie de l'arthrite rhumatoïde.....	25
Figure 11: Caractéristiques histologiques des articulations enflammées atteintes d'AR.	28
Figure 12: Mécanisme inflammatoire impliqué dans la pathogénèse de l'AR.	30
Figure 13: Classification des médicaments antirhumatismaux modificateurs de la maladie (DMARD).....	36
Figure 14: Photographie de <i>Capparis spinosa</i> L.....	39
Figure 15: Droite standard de l'acide gallique utilisée pour le dosage des polyphénols	45
Figure 16: Droite standard de la quercétine utilisée pour le dosage des flavonoïdes	46
Figure 17: Droite standard de l'acide tannique utilisée pour le dosage des tannins	47
Figure 18: Droite standard des ions nitrites NO ₂ ⁻ utilisée pour le dosage du NO plasmatique	57
Figure 19: Valeur d'IC ₅₀ des extraits de <i>Capparis spinosa</i> de l'activité de piégeage du radical DPPH	64
Figure 20: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH [•] en fonction de la concentration des extraits méthanoliques de <i>Capparis spinosa</i>	65
Figure 21: Cinétique de l'inhibition de l'oxydation de β -carotène-acide linoléique par les extraits	

de <i>Capparis spinos</i>	68
Figure 22: Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β -carotène-acide linoléique à 24 h par les extraits de <i>Capparis spinosa</i>	69
Figure 23: Pouvoir réducteur des extraits de <i>Capparis spinosa</i> et du BHT.....	71
Figure 24: Pouvoir réducteur des extraits (EC_{50})de <i>Capparis spinosa</i> et du BHT	72
Figure 25: Activité de piégeage de radical cationique ABTS ⁺ exprimée en pourcentage en fonction de la concentration des extraits méthanoliques de <i>Capparis spinosa</i> et du BHT.	73
Figure 26 : Valeur d'IC ₅₀ des extraits des feuilles de <i>Capparis spinosa</i> et des tiges de l'activité de piégeage du radical cationique ABTS.+.	74
Figure 27: Effet de l'extrait méthanolique de feuilles, de tiges et de fruits de <i>Capparis spinosa</i> sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris.	77
Figure 28: Effet de l'extrait méthanolique de feuilles, de tiges et de fruits de <i>Capparis spinosa</i> sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris.	78
Figure 29: Effet des extraits de <i>Capparis spinosa</i> sur l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris.	80
Figure 30: Effet des extraits méthanoliques de <i>Capparis spinosa</i> sur la cinétique de l'évolution de l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat.	82
Figure 31: Epaisseur de l'œdème de la patte induit par la carragénine chez les rats, mesuré après 3 heures et 6 heures de l'induction de l'inflammation et après traitement par les extraits méthanoliques de <i>Capparis spinosa</i>	83
Figure 32: Taux d'inhibition de l'œdème de la patte (%) induit par la carragénine chez les rats, au cours de la troisième et la sixième heures par les extraits méthanoliques de <i>Capparis spinosa</i>	83
Figure 33 : Effet de l'extrait méthanolique de la feuille (EMF) et du fruit (EMFr) de <i>Capparis spinosa</i> sur la cinétique de l'évolution de l'œdème de la patte induit par l'adjuvant complet de Freund chez le rat.....	86
Figure 34: Effet préventif et thérapeutique des extraits méthanoliques de <i>Capparis spinosa</i> (300 mg/kg) sur l'œdème de la patte induit par l'adjuvant complet de Freund chez le rat.....	87
Figure 35: Effet des extraits de <i>Capparis spinosa</i> sur le score arthritique chez les rats model AIA..	91

Figure 36: Effet de <i>Capparis spinosa</i> sur le poids corporel chez les rats AIA au cours de l'expérience du J0 jusqu'au jour 21.....	92
Figure 37: Effet de <i>Capparis spinosa</i> sur l'ESR chez les rats AIA	96
Figure 38: Les modifications histopathologiques des articulations de la cheville chez les rats AIA en comparant avec le groupe control normal.....	104
Figure 39: Effet préventif de <i>Capparis spinosa</i> sur les modifications histopathologiques des articulations de la cheville chez les rats AIA.....	105
Figure 40: Effet thérapeutique de <i>Capparis spinosa</i> sur les modifications histopathologiques des articulations de la cheville chez les rats AIA.....	106

Liste des tableaux

Tableau 1: Exemple d'espèce réactive radicalaire et non radicalaire de l'oxygène et de l'azote	12
Tableau 2: Antioxydants endogènes enzymatiques et non enzymatiques.	16
Tableau 3: Rendement, teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins des extraits de <i>Capparis spinosa</i>	61
Tableau 4: L'activité antioxydante des extraits de <i>Capparis spinosa</i>	64
Tableau 5: Gain de poids corporel chez les différents groupes de rats à jour 7, 10, 14, 17 et 21.....	93
Tableau 6: Index de poids de la rate par rapport au poids corporel (mg/g) chez les rats de différents groupes à la fin de l'expérience le J21.	94
Tableau 7: Les marqueurs du stress oxydatif chez les rats arthritiques AIA et traités.	97

SOMMAIRE

ملخص.....	4
Resume	5
Abstract.....	6
Liste des abreviations.....	7
Liste des figures.....	8
Liste des tableaux	11
Introduction.....	1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I. INFLAMMATION ET STRESS OXYDANT

1. INFLAMMATION	3
1.1. Inflammation aigue	5
1.1.1 Phase vasculaire	5
1.1.2. Phase cellulaire.....	6
1.1.3. Phase de résolution.....	7
1.2. Inflammation chronique	8
2. STRESS OXYDANT.....	10
2.1. Radicaux libres.....	10
2.1.2. Les cibles moléculaires des espèces réactives.....	13
2.2. Antioxydants	15
2.2.1. Antioxydants endogènes	15
2.2.2. Antioxydants exogènes.....	16
2.2.2.1. Vitamines	16
2.2.2.2. Polyphénols	17
3. RELATION ENTRE LE STRESS OXYDATIF ET L'INFLAMMATION	19

CHAPITRE III. ARTHRITE RHUMATOÏDE

1. DEFINITION ET EPIDEMIOLOGIE.....	21
2. ETIOLOGIE	22
2.1. Facteurs génétiques	22
2.2. Interaction entre les facteurs génétiques et l'environnement.....	25
3. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ARTHRITE RHUMATOÏDE	27
3.1. Inflammation de la membrane synoviale ou synovite	27
3.2. Auto-immunité et l'arthrite rhumatoïdes	28
3.3. Arthrite rhumatoïde et cytokines.....	30
4. TRAITEMENT DE L'ARTHRITE RHUMATOÏDE.....	31
4.1. Antiinflammatoires	32
4.2. Glucocorticoïdes	32
4.3. Médicaments Antirhumatismaux modificateurs de la maladie.....	32
4.3.1. DMARD synthétiques	33
4.3.2. DMARD biologiques	34

CHAPITRE III : CAPPARIS SPINOSA

1. PHYTOTHERAPIE.....	37
2. GENERALITE SUR LA FAMILLE CAPPARIDACEAE	37
3. DESCRIPTION BOTANIQUE ET CLASSIFICATION.....	38

4. COMPOSITION CHIMIQUE	40
5. USAGE TRADITIONNEL ET ACTIVITES BIOLOGIQUES	40

ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

1. MATERIEL	43
1.1. Matériel végétal	43
1.2. Animaux.....	43
2. MÉTHODES	44
2.1. Préparation des extraits méthanoliques.....	44
2.2. Dosage des polyphénols.....	44
2.3. Dosage des flavonoïdes.....	45
2.4. Dosage des tannins.....	46
2.5. Etude de l'activité antioxydante in vitro	47
2.5.1. Effet scavenger du radical libre DPPH [•]	47
2.5.2. Effet inhibiteur de l'oxydation de β -carotène/acide linoléique	
2.5.3. Le pouvoir réducteur	48
2.5.4. Effet scavenger du radical cathionique (ABTS ^{•+})	49
2.6. Essai de toxicité aigu	
2.7. Etude de l'activité anti-inflammatoire in vivo	50
2.7.1. Model de l'œdème de l'oreille induit par le xylène.....	50
2.7.2. Model de l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton.....	51
2.7.3. Modèle de l'induction de l'œdème de la patte induit par la carragénine	52
2.7.4. Modèle de l'arthrite rhumatoïde induite par l'adjuvant complet de Freund	52
2.8. Etude statistique.....	59

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

1. ANALYSE PHYTOCHIMIQUE DE CAPPARIS SPINOSA	60
2. ACTIVITE ANTIOXYDANTE DE CAPPARIS SPINOSA	63
2.1. Effet scavenger du radical libre DPPH [•]	63
2.2. Effet inhibiteur du blanchissement de β -carotène/acide linoléique	67
2.3. Pouvoir réducteur	70
2.4. Essai de piégeage du radical ABTS ^{•+}	73
3. ESSAI DE TOXICITE AIGUË.....	75
4. ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DE CAPPARIS SPINOSA IN VIVO	75
4.1. Effet sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène.....	75
4.2. Model de l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton	79
4.3. Modèle de l'induction de l'œdème de la patte induit par la carragénine.....	80
5. ACTIVITE ANTIARTHRITIQUE CHEZ LE RAT	84
5.1. Effet des extraits de <i>Capparis spinosa</i> sur les paramètres cliniques	85
5.2. Effet des extraits de <i>Capparis spinosa</i> sur les paramètres plasmatiques.....	96
5.3. Effet sur la structure Histologique	103
Conclusion et perspectives	109
References bibliographiques	111

Introduction

Introduction

La phytothérapie est devenue une pratique largement utilisée pour le traitement d'un grand nombre de maladies en utilisant des préparations obtenues à partir des plantes médicinales entières ou d'une partie de plantes. Dans ce contexte, les effets bénéfiques pour la santé des plantes médicinales comestibles ont fait l'objet d'une attention particulière, en raison de leurs multiples effets positifs et de leurs effets indésirables négligeables. Ces plantes fournissent les principaux composants des médicaments et sont riches en métabolites secondaires dont les polyphénols. Ces composés représentent une classe de produits naturels qui possèdent diverses propriétés pharmacologiques, due principalement à leurs activités antioxydantes et anti-inflammatoires dans différents modèles de maladies. Parmi ces maladie l'arthrite rhumatoïde (AR), qui est une maladie auto-immune multifactorielle se caractérise par une inflammation chronique des articulations, provoquant des douleurs, des gonflements, une érosion du cartilage et des os, et à terme une incapacité fonctionnelle. Plusieurs recherches ont démontré que le stress oxydant joue un rôle majeur dans la persistance de l'inflammation aigue et son évolution vers une inflammation chronique durant l'AR, par le biais de la production excessive des radicaux libres et l'incapacité des mécanismes de défense endogène pour se protéger contre les dommages cellulaires induits par les radicaux libres. Un grand nombre de médicaments innovants ont fait leur apparition ces dernières années pour le traitement de l'AR mais leur efficacité reste limitée sur le soulagement de la douleur et l'amélioration de la fonction articulaire mais ils ne changent pas l'évolution de la maladie et leur utilisation s'accompagne souvent d'effets secondaires rénaux, hépatiques, gastro-intestinaux et cardiovasculaires. C'est ce qui incite les chercheurs à travailler intensivement pour la découverte de nouveaux médicaments efficaces et avec moins d'effets secondaires et le plus souvent ces médicaments sont des produits naturels extraits des plantes médicinales.

Le but de la présente étude est d'évaluer certains effets biologiques notamment antioxydants, antiinflammatoires et antiarthritiques des extraits méthanoliques de différentes parties (feuille, tige et fruit) de la plante *Capparis spinosa* L. une plante médicinale de la famille des Capparidaceae utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie. Notre étude se divise en trois volets principaux :

- Détermination de la teneur totale en polyphénols, flavonoïdes et tanins dans les extraits de *Capparis spinosa*.
- Etude de l'activité antioxydante *in vitro* en évaluant le pouvoir réducteur, l'activité de piégeage des radicaux libres et l'activité anti-péroxydation lipidique.
- L'étude de l'activité anti-inflammatoire en évaluant l'effet anti-œdémateux des extraits chez des modèles animaux. Deux modèles d'œdème de l'oreille (inflammation aigue), un induit par le xylène et l'autre par l'huile de croton chez la souris, et un troisième modèle d'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat. Enfin, un modèle d'arthrite chronique induite par l'adjuvant complet de Freund (ACF) chez le rat a été réalisé.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :

INFLAMMATION ET STRESS OXYDANT

CHAPITRE I. INFLAMMATION ET STRESS OXYDANT

Le stress oxydatif est considéré comme un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et leur élimination par les mécanismes de protection, ce qui peut conduire à une inflammation chronique. L'inflammation prolongé exagéré ou non régulé peut induire des lésions tissulaires favorisant de nombreuses maladies chroniques, telles que les maladies neurodégénératives, le cancer, le diabète, les maladies cardiovasculaires et la polyarthrite rhumatoïde (Hussain *et al.*, 2016 ; Ramos-González *et al.*, 2024).

1. Inflammation

L'inflammation est un mécanisme physiologique qui a pour but de signaler au système immunitaire l'existence d'agents infectieux (les bactéries et les virus ainsi que les toxines et les substances toxiques), de lésions tissulaires ou d'autres agressions. C'est un processus dynamique et structuré orchestré par des composants cellulaires, vasculaires et humoraux, indispensables pour contrôler les agents infectieux et à la guérison et la reconstitution des tissus endommagés (Kataria et Kaur, 2013 ; Chen *et al.*, 2017 ; Xu et Larbi, 2017).

L'inflammation constitue une réponse généralement bénéfique pour l'organisme vivant car elle lui offre la possibilité de se défendre contre une agression et par la suite de restaurer le tissu endommagé. Dans ce contexte on parle d'une réponse inflammatoire aigue. En ce qui concerne le mauvais côté, la réponse inflammatoire peut persister et entraîner des maladies chroniques (les tumeurs, une variété de maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la sclérose en plaques, les maladies auto-immunes, le diabète, les maladies cardiovasculaires, la fibrose) on parle alors d'inflammation chronique (Kataria et Kaur, 2013 ; Kiss, 2022).

Le premier signal qui induit l'inflammation est la ligature des récepteurs de reconnaissance (PRR) présents à la surface des cellules immunitaires telles que les macrophages, les

neutrophiles et les cellules dendritiques avec les motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP) présents à la surface des bactéries ou de l'ADN/ARN des virus. Cette reconnaissance induit la libération des cytokines pro-inflammatoires et une série d'événements qui constitue la réponse inflammatoire (Xu *et al.*, 2017 ; Koushki *et al.*, 2021).

Au niveau des tissus, l'inflammation se manifeste par quatre signes principaux incluent la rougeur due à la dilatation flagrante et persistante des artérioles, des capillaires et des veinules dans la zone lésée ; le gonflement dû à l'augmentation de la perméabilité des petits vaisseaux sanguins qui conduit à l'exsudation plasmatique ; la chaleur due à l'augmentation considérable du flux sanguin et la douleur due à la libération de certaines substances chimiques endogènes telles que la bradykinine, la sérotonine et de certaines prostaglandines (Kataria et kaur, 2013). A l'échelle microscopique, la réaction inflammatoire est le résultat de l'activation synchronisée des voies de signalisation (récepteur-ligand) qui contrôlent les niveaux de médiateurs inflammatoires dans les cellules tissulaires résidentes et les cellules inflammatoires recrutées à partir du sang (Chen *et al.*, 2017 ; Kiss, 2022). Les récepteurs membranaires (PRR) doivent être internalisés (pour enregistrer et transmettre les signaux à travers la membrane plasmique vers l'intérieur de la cellule), les membres de la cascade de signalisation (diverses kinases, facteurs de transcription) doivent se rencontrer dans une plate-forme appelée « organelles/endosomes de signalisation », où ils deviennent activés. En réponse à l'activation des récepteurs et à la voie de signalisation régulée par les ERO, plusieurs molécules de signalisation y compris NF- κ B et la protéine kinase activée par les agents pathogènes (MAPK), sont phosphorylées, ce qui déclenche l'activation d'une variété de facteurs de transcription nécessaires à l'entretien de l'inflammation. Les facteurs de transcription activés doivent être transloqués dans le noyau, pour réguler les gènes inflammatoires, entraînant la synthèse de cytokines inflammatoires (IL-1, IL-6 et TNF α) et leur libération dans l'environnement (Chen *et al.*, 2017 ; Kiss, 2022).

1.1. Inflammation aigue

La réaction primaire de l'organisme face à une infection est appelée réponse inflammatoire aigue. Cette réponse est non spécifique et de courte durée, dure généralement de quelques minutes à quelques jours et représente la première barrière de défense de l'organisme face à la menace (Kataria et Kaur, 2013). L'inflammation aigue se caractérise par les quatre aspects cliniques (rougeur, gonflement, chaleur et douleur) au niveau des tissus (Kiss, 2022) et se déroule en trois phases quel que soit le stimulus inflammatoire et le tissu enflammé, médiées par plusieurs cellules et molécules distincts qui identifient des agents infectieux ou des tissus lésés, mobilisent d'autres cellules et molécules, puis neutralisent les éléments nuisibles pour finalement rétablir l'harmonie corporelle (Santos *et al.*, 2015).

1.1.1 Phase vasculaire

Cette première étape (initiale) de déclenchement est marquée par un œdème tissulaire résultant par des événements vasculaires, notamment une vasodilatation, ainsi qu'une augmentation de la perméabilité de la paroi vasculaire. Ces événements entraînent une augmentation de l'afflux sanguin responsable de la chaleur et de la rougeur, et une pénétration de liquide proche du plasma appelé exsudat, contenant des médiateurs solubles, à travers l'endothélium du sang vers les tissus (Sansbury et Spite, 2016 ; Noack et Kolopp-Sarda, 2018). Tous ces processus sont médiés par des médiateurs lipidiques pro-inflammatoires produits par les cellules résidentes activées (macrophage tissulaires et mastocytes) dans le tissu lésé tels que les prostaglandines et les leucotriènes, ainsi que par des facteurs vasoactifs, comme les histamines et la bradykinine. Ces médiateurs pro-inflammatoires (cytokines et chimiokines) sont responsables du recrutement de cellules et d'un afflux (diapédèse) rapide de granulocytes (par exemple, des neutrophiles) du sang vers le site inflammatoire (Sansbury et Spite, 2016 ; Barnig *et al.*, 2018 ; Noack et Kolopp-Sarda, 2018).

1.1.2. Phase cellulaire

La réponse cellulaire aiguë se produit au cours des heures qui suivent, lorsque les tissus ont subi des dommages suffisants. Elle implique un réseau hautement coordonné de nombreux types de cellules. Les premières cellules circulantes recrutées vers un site de lésion sont les polynucléaires neutrophiles (PNN) (Chenet *et al.*, 2017). Le recrutement des PNN est ainsi suivi par la migration des monocytes et puis des lymphocytes (cellules tueuses naturelles [cellules NK], cellules T et cellules B) et des mastocytes (Chen *et al.*, 2017 ; Noack et Kolopp-Sarda, 2018). Les cytokines libérées par les macrophages et les PNN vont agir sur les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins locaux, provoquant une vasodilatation et leur activation. L'activation des cellules endothéliales se manifeste par la sécrétion de cytokines et la modification de leurs propriétés adhésives favorisant le recrutement des leucocytes circulants par un processus appelé chimiotaxie (Jain *et al.*, 2015 ; Noack et Kolopp-Sarda, 2018). Dans ce processus cellulaire, les leucocytes quittent le système circulatoire en adhérant à l'endothélium grâce à leur interaction avec différentes molécules d'adhésion exprimées (**figure 1**) comme les sélectines, intégrines, la molécule d'adhésion intercellulaire-1 (ICAM-1), la molécule d'adhésion cellulaire vasculaire-1 (VCAM-2) et autres, en réponse à des chimio attractants tel que les peptides, lipides, leucotriènes et cytokines (Jain *et al.*, 2015). Ces cellules immunitaires se déplacent vers la zone endommagée, favorisant l'intensification et le maintien de la phase inflammatoire aiguë, grâce à la sécrétion de facteurs pro-inflammatoires comme les eicosanoïdes, IL-1, et le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α).

Les érythrocytes gagnent aussi les tissus provoquant des saignements. Les plaquettes s'agrègent au niveau du site de la lésion où les globules rouges s'accumulent pour aider à arrêter le saignement et à former un caillot (Jain *et al.*, 2015).

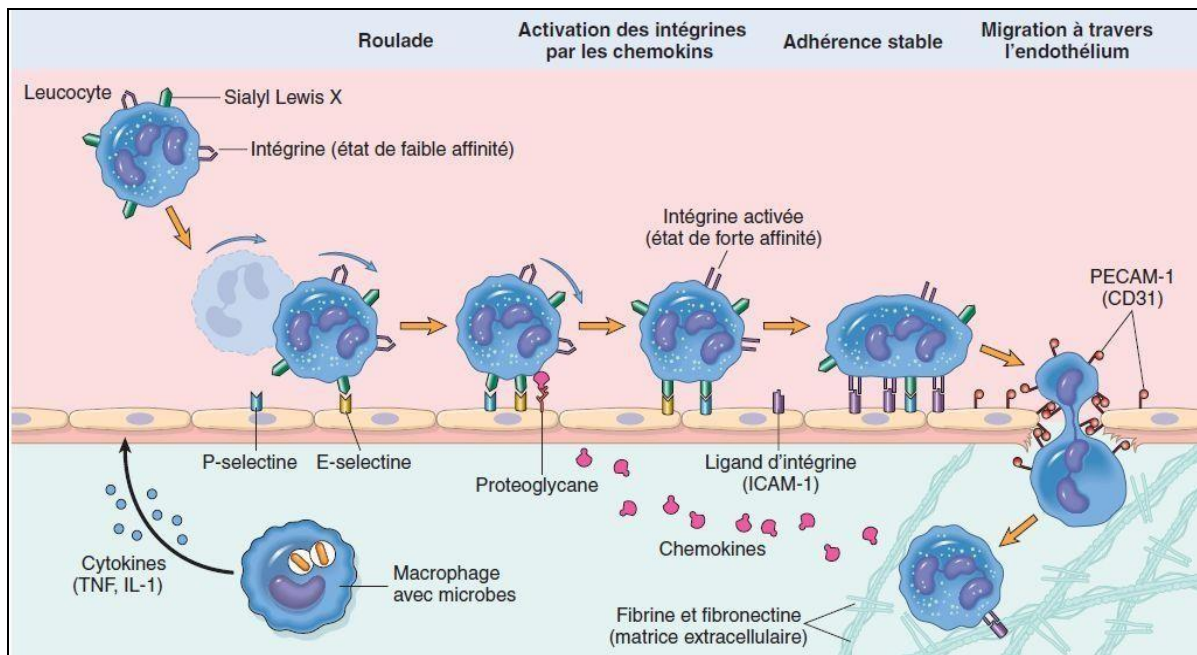


Figure 1: Diapédèse leucocytaire des PNN (Pauline, 2018).

1.1.3. Phase de résolution

Au cours des semaines suivantes, une résolution peut se produire, l'inflammation est arrêtée et l'architecture normale des tissus est restaurée (Jain *et al.*, 2015). L'inflammation aiguë se résorbait passivement, entraînant une diminution de l'expression des cytokines, la dilution des gradients de chimiokines au fil du temps, le catabolisme naturel des médiateurs pro-inflammatoires et la production et la libération de facteurs anti-inflammatoires (le facteur de croissance transformant (TGF)- β et l'IL-10) par les macrophages activés, ce qui expliquait pourquoi les leucocytes cessaient de migrer du sang vers les tissus (Santos *et al.*, 2015, Barnig *et al.*, 2018). De plus, les neutrophiles et les fibroblastes réparateurs infiltraient la zone, libérant des métalloprotéases matricielles pour le remodelage tissulaire et produisant une matrice extracellulaire (MEC) et du collagène. Les macrophages vont nettoyer les débris cellulaires, les tissus nécrotiques et les bactéries envahissantes mais sécréter aussi des cytokines permettant la réparation du tissu par les fibroblastes (collagène) et par les cellules endothéliales (néoangiogenèse), (Santos *et al.*, 2015, Noack et Kolopp-Sarda, 2018). Les caillots sanguins sont éliminés par fibrinolyse afin de redonner aux tissus leur forme d'origine. Cependant, s'il n'est pas

possible d'éliminer complètement les agents infectieux qui sont accumulés sur le site, ceux-ci sont isolés des tissus environnants dans un tissu granulomateux (un granulome se forme lorsque des macrophages et des lymphocytes s'accumulent autour de la matière qui n'a pas été éliminée, ainsi que des cellules épithélioïdes et des cellules géantes qui apparaissent plus tard, pour former une boule de cellules), (Jain *et al.*, 2015). Une fois que les cellules immunitaires ne sont plus requises sur le site inflammatoire, elles vont quitter le tissu vers le système vasculaire ou lymphatique ou bien mourir, par perte de signaux de survie ou par apoptose (Noack et Kolopp-Sarda, 2018). Lorsque ces étapes sont rigoureusement suivies, l'inflammation aiguë se résout sans lésion tissulaire corporelle (Santos *et al.*, 2015). La **figure 2** illustre les phases de l'inflammation aiguë.

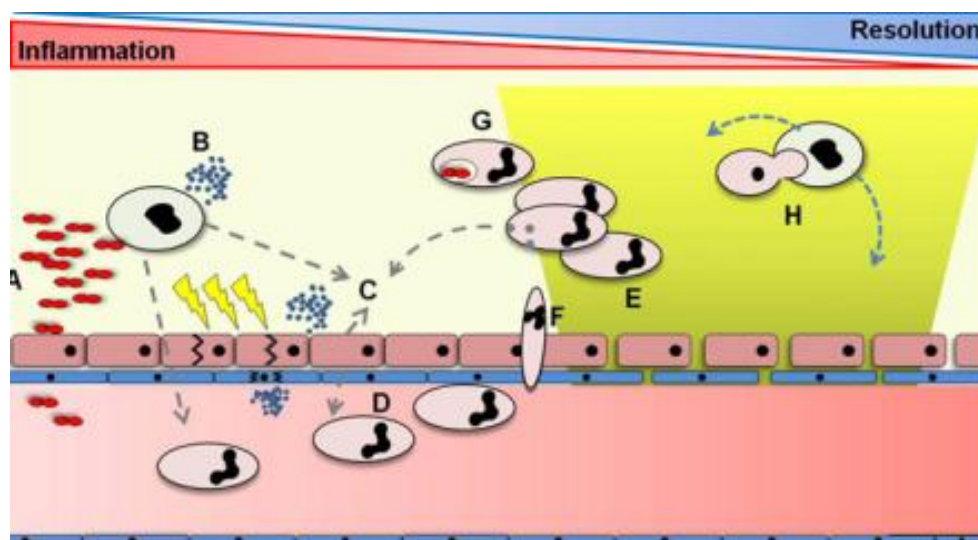


Figure 2: Illustration schématique de la réponse inflammatoire aiguë (Dorward *et al.*, 2012).

1.2. Inflammation chronique

L'homéostasie tissulaire est contrôlée par une balance sensible entre recrutement, prolifération, migration et mort des cellules impliquées, et toute dysrégulation de cette balance conduit à une réaction inflammatoire soutenue entraînant une inflammation chronique qui persiste pendant des semaines, des mois, voire des années (Noack et Kolopp-Sarda, 2018 ; Wang *et al.*, 2021). L'inflammation chronique est un état pathologique qui correspond donc à un échec du processus de résorption de l'inflammation aiguë (phase de résolution dérégulée) entraînant une réponse

inflammatoire chronique avec lésion tissulaire, remodelage et fibrose subséquente, ainsi qu'une perte de fonction tissulaire (Barnig *et al.*, 2018). La persistance de l'inflammation aiguë et son évolution vers une inflammation chronique peut résulter d'une incapacité à éliminer le stimulus inflammatoire et d'un recrutement incessant de leucocytes responsable de la production de cytokines pro-inflammatoires et d'ERO qui causent des dommages persistants et remodelent les tissus de façon durable (Santos *et al.*, 2015). L'inflammation chronique n'est pas caractérisée par les signes classiques de l'inflammation aiguë. Au lieu d'être enflammé, le tissu est caractérisé par l'infiltration de cellules immunitaires mononucléaires (monocytes, macrophages, lymphocytes et plasmocytes), la destruction des tissus (nécrose) et les tentatives de guérison, qui comprennent l'angiogenèse et la fibrose (**figure 3**), (Serhan *et al.*, 2010 ; Kataria et Kaur, 2013).

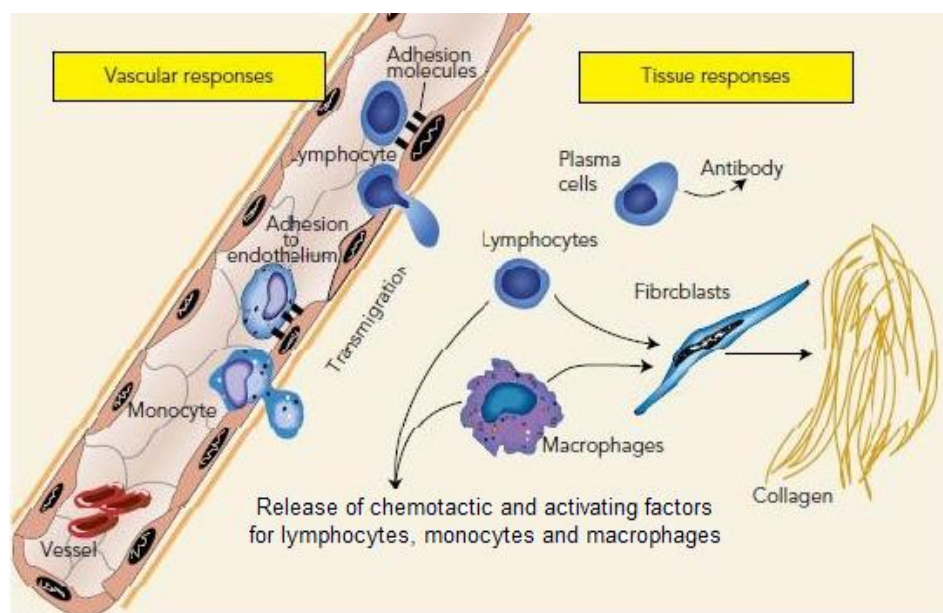


Figure3: Mécanismes et types cellulaires impliqués dans l'inflammation. Présence de macrophages, lymphocytes et monocytes dans le tissu. Les macrophages produisent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui activent le fibroblaste pour fixer le collagène et activent les autres macrophages et lymphocytes pour la libération d'autres médiateurs responsables des réponses inflammatoires chroniques (Serhan *et al.*, 2010).

2. Stress oxydant

Le stress oxydant se définit par un phénomène résultant d'un déséquilibre entre la génération d'oxydants ou espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et la capacité cellulaire antioxydante enzymatique et non enzymatique en faveur des oxydants (**Figure 4**), ce qui peut entraîner divers changements biochimiques et physiologiques conduisant souvent au vieillissement et aux maladies (Srivastava et Kumar, 2015 ; Hussain *et al.*, 2016 ; Zhang *et al.*, 2023). Cependant, la description de la production d'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) par les cellules phagocytaires dans la lutte contre les pathogènes, celle du rôle biologique du monoxyde d'azote (NO) mettent en évidence le rôle physiologique du stress oxydant dans la régulation et la signalisation cellulaire (Migdal et Serres, 2011, Ozougwu, 2016).

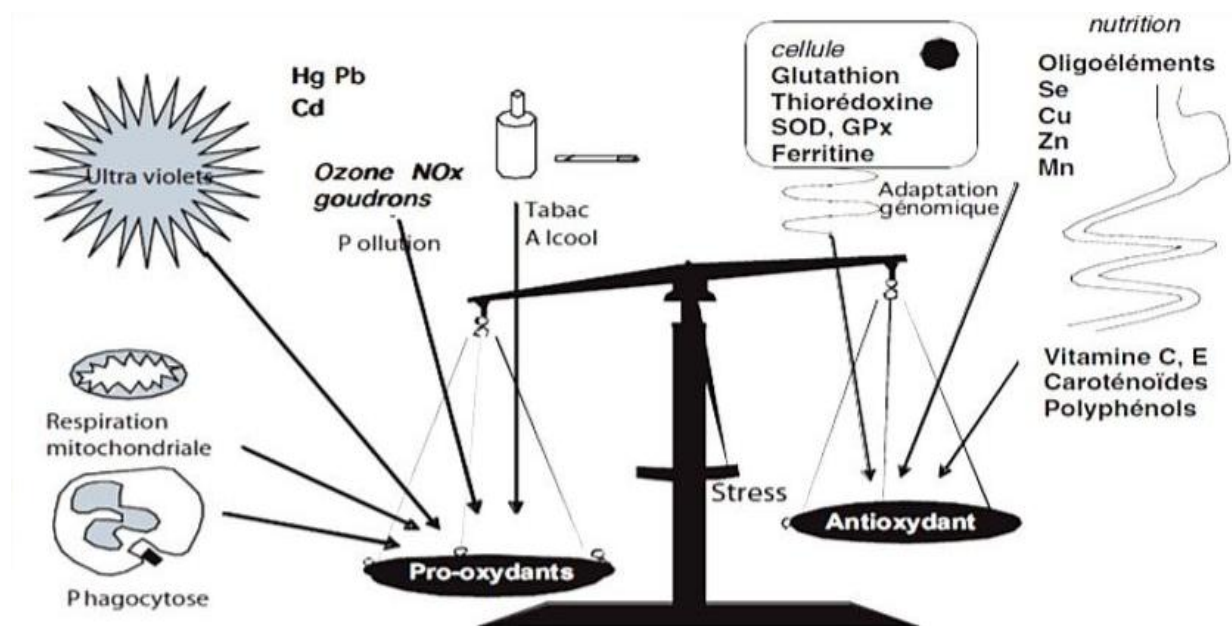


Figure 4. La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006).

2.1.Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, qui contient un ou plusieurs électrons célibataires (non appariés) sur son orbitale. Ce qui lui confère généralement un haut

degré de réactivité pour extraire des électrons des espèces chimiques et les oxyder afin d'atteindre leur propre stabilisation (Migdal et Serres, 2011, Tafuri *et al.*, 2016). En raison de leur caractère instable, les ERO sont toxiques et interagissent avec divers substrats biologiques essentiels. Ils sont responsables des dénaturations de protéines, des inactivations d'enzymes, des cassures au niveau de l'ADN, des processus de peroxydation lipidique et oxydation des glucides (Pincemail *et al.*, 2002 ; Migdal et Serres, 2011 ; Phaniendra *et al.*, 2015). La classification des espèces réactives se fait en fonction de la nature de l'atome qui détient une orbite contenant un électron non apparié, il existe donc des radicaux libres qui se concentrent sur l'oxygène (ERO) et l'azote (ERN) et autres (Ozougwu, 2016). Les radicaux libres, à la fois ERO et ERN proviennent de sources endogènes (mitochondries, peroxysomes, réticulum endoplasmique, cellules phagocytaires, etc) et de sources exogènes (pollution, alcool, fumée de tabac, métaux lourds, métaux de transition, solvants industriels, pesticides, certains médicaments comme l'halothane, le paracétamol et les rayonnements), (Phaniendra *et al.*, 2015 ; Milatovic *et al.*, 2019). Les espèces réactives qui dérivent de l'oxygène moléculaire ou du monoxyde d'azote comprennent soit des espèces chimiques radicalaires, soit des espèces chimiques non radicalaires ayant un potentiel oxydant (**Tableau 1**), (Ozougwu, 2016).

Tableau 1. Exemple d'espèce réactive radicalaire et non radicalaire de l'oxygène et de l'azote (Phaniendra *et al.*, 2015 ; Ozougwu, 2016).

Radicaux libre	Non radicaux
ROS	ROS
Anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ Radical hydroxyle $HO^{\cdot}$ Radical alcoxy $RO^{\cdot}$ Radical peroxy $ROO^{\cdot}$	Peroxyde d'hydrogène H_2O_2 Oxygène singulet 1O_2 Acide hypochloreux $HOCl$ Ozone O_3
RNS	RNS
Oxydenitrique $NO^{\cdot}$ Dioxyde d'azote $NO_2^{\cdot}$	Peroxynitrite $ONOO^-$ Acide peroxynitreux $ONOOH$ Acide nitreux HON_2

2.1.1. Genèse des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote

La phosphorylation oxydative mitochondriale génère la majorité des radicaux libres dans la cellule (Milatovic *et al.*, 2019). En effet, le processus de réduction de l'oxygène en eau durant la respiration mitochondriale n'est toutefois parfait car 2 à 3% de l'oxygène sont transformés en espèce réactive de l'oxygène (ERO), (Pincemail *et al.*, 2002). Dans une première étape, le radical libre anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) est formé, lorsque des électrons fuient vers l'oxygène moléculaire à partir de groupes prosthétiques ou de coenzymes impliqués dans les réactions redox, ce qui conduit par la suite à la production d'autres ERO, médiateurs du stress oxydant (Ozougwu, 2017). Le superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) sert également de précurseur pour la formation du radical hydroxyle ($HO^{\cdot}$), le radical le plus réactif, à partir du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et d'espèces métalliques (fer, cuivre) par les réactions de Fenton et Haber Weiss (**figure 5**), (Pincemail *et al.*, 2002 ; Milatovic *et al.*, 2019). Le superoxyde réagit facilement avec l'oxyde nitrique ($NO^{\cdot}$) et forme du peroxynitrite ($ONOO$), une espèce très réactive de l'azote (ERN). Le superoxyde est également impliqué dans la production de dioxyde d'azote radicalaire ($NO_2^{\cdot}$) et de peroxyde d'hydrogène, qui peuvent ensuite être transformés en espèces initiateurs de la peroxydation lipidique, à savoir

les radicaux peroxy et alcoxy ($\text{ROO}\cdot$ et $\text{RO}\cdot$) dont la forme la plus simple est le radical hydroperoxyl ($\text{HOO}\cdot$), (Ozougwu, 2016 ; Milatovic *et al.*, 2019).

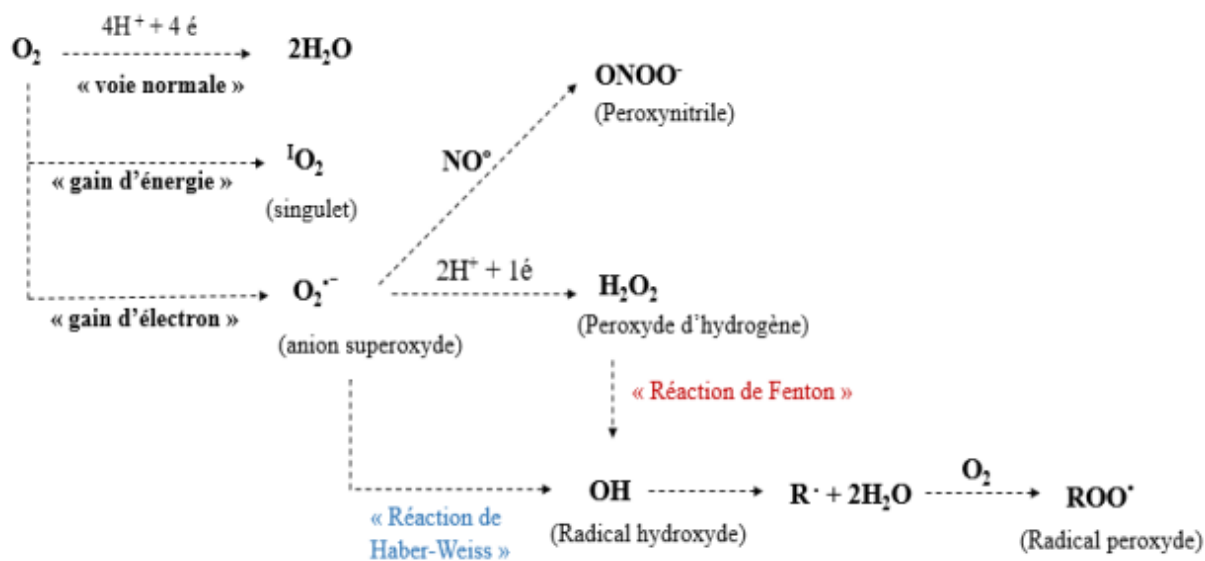


Figure 5: Formation de radicaux libres à partir de l'oxygène (Gardès-Albert. 2003).

2.1.2. Les cibles moléculaires des espèces réactives

Les ROS et les RNS peuvent réagir avec les lipides, les protéines, les acides nucléiques et les sucres, et inhiber les fonctions cellulaires normales. Ces dommages peuvent compromettre la viabilité cellulaire ou induire une réponse cellulaire conduisant la mort cellulaire par nécrose ou apoptose (Milatovic *et al.*, 2019).

2.1.2.1. Dommages oxydatifs à l'ADN

L'ADN nucléaire et mitochondrial est particulièrement sensible aux attaques des ERO à plusieurs niveaux. Le stress causé par les radicaux libres et surtout par le radical hydroxyle ($\text{HO}\cdot$) provoque des dommages directs à l'ADN, principalement par cassures simple ou double brin de l'ADN, et cause des dommages oxydatifs aux bases pyrimidine et purine par abstraction d'un hydrogène à partir de n'importe quelle position du désoxyribose. Il provoque également des mutations, des délétions ou des translocations et pontages ADN-protéine dans les nucléoprotéines (Bensakhria *et al.*, 2018 ; Juan *et al.*, 2021). La plupart de ces modifications de

l'ADN sont étroitement liées à la carcinogenèse, au vieillissement, aux maladies neurodégénératives, cardiovasculaires et autoimmunes (Ozougwu, 2016).

2.1.2.2. Dommages oxydatifs aux lipides

Les lipides membranaires, en particulier les résidus d'acides gras polyinsaturés des phospholipides, sont plus susceptibles d'être oxydés par les radicaux libres. La peroxydation lipidique entraîne la perte de fonctionnalité de la membrane, par exemple une diminution de la fluidité, l'inactivation des enzymes et des récepteurs liés à la membrane. La peroxydation lipidique est très importante *in vivo* en raison de son implication dans diverses conditions pathologiques. Cette altération est déclenchée lorsqu'un radical libre attaque et extrait l'hydrogène d'un groupe méthylène (CH₂) dans un acide gras, ce qui entraîne la formation d'un radical lipidique centré sur le carbone (L•). Le radical lipidique peut réagir avec l'oxygène moléculaire pour former un radical peroxyde lipidique (LOO•) qui subit des réarrangements pour former le malondialdéhyde (MDA), produit final toxique de la peroxydation lipidique qui cause des dommages à l'ADN et aux protéines (Phaniendra *et al.*, 2015 ; Milatovic *et al.*, 2019). Un aspect extrêmement important de la peroxydation lipidique est qu'elle se poursuit jusqu'à ce que le substrat oxydable soit consommé ou qu'elle s'arrête, ce qui la rend fondamentalement différente de nombreuses autres formes de lésions causées par les radicaux libres (Juan *et al.*, 2021).

2.1.2.3. Dommages oxydatifs causés aux protéines et aux enzymes

Les effets des ERO sur les protéines sont multiples. Les ERO oxydent les résidus d'acides aminés en particulier les acides aminés soufrés et aromatiques, clivent les liaisons peptidiques et entraînent l'agrégation entre protéines (Bensakhria *et al.*, 2018 ; Juan *et al.*, 2021). La conséquence de ces dommages est l'inhibition enzymatique, la perte de spécificité ligand-récepteur, dénaturation des épitopes antigéniques, état pro-inflammatoire (Bensakhria *et al.*, 2018). Un large éventail de maladies a été associé à la présence de protéines oxydées, telles que

la maladie d'Alzheimer, la polyarthrite rhumatoïde et d'autres encore (Juan *et al.*, 2021).

2.2. Antioxydants

Il est important de noter que les systèmes vivants ont développé plusieurs mécanismes pour contrôler ces effets nocifs des ROS et des RNS. Ces mécanismes reposent principalement sur la présence d'antioxydants qui fonctionnent de manière interactive et synergique pour neutraliser les radicaux libres (**Figure 6**). Les antioxydants sont des molécules naturelles ou synthétiques présentes avec de faible concentration par rapport au substrat oxydable (ERO) et qui empêchent la formation excessive de ce dernier ou inhibent sa réaction avec les structures et/ou molécules biologiques (Bensakhria *et al.*, 2018 ; Milatovic *et al.*, 2019).

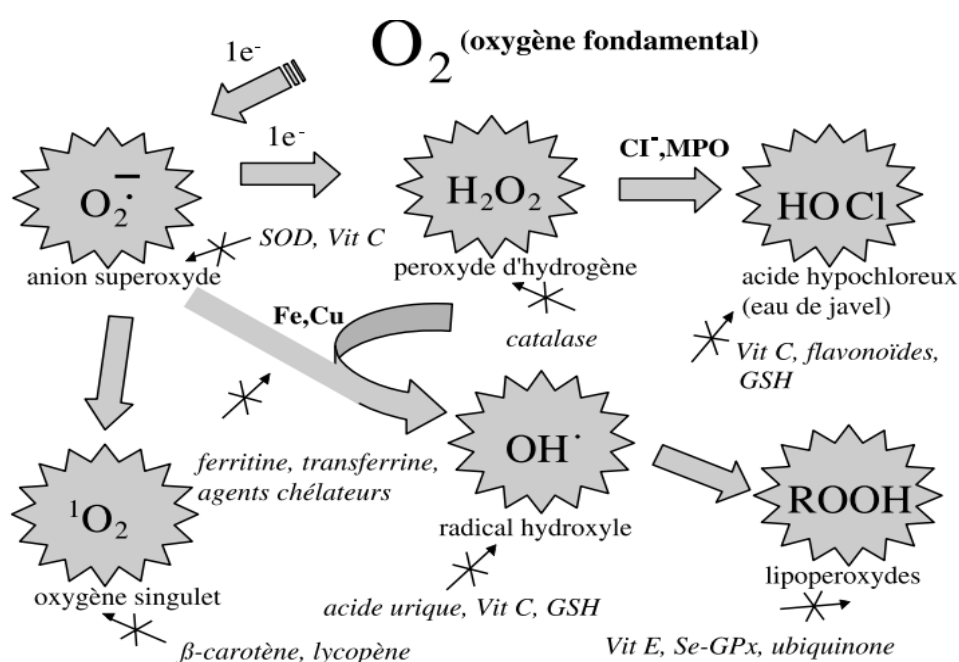


Figure 6. Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les systèmes de défenses antioxydantes (Pincemail *et al.*, 2002).

2.2.1. Antioxydants endogènes

L'organisme utilise plusieurs mécanismes de défense endogène pour se protéger contre les dommages cellulaires induits par les radicaux libres. Cette défense antioxydante peut être

enzymatique ou non enzymatique (**Tableau2**), (Tafuri *et al.*, 2016 ; Ozougwu, 2016). La défense enzymatique est un système d'enzymes constitué de la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase, ces enzymes nécessitent des cofacteurs micro-nutritionnels tels que le sélénium, le fer, le cuivre, le zinc et le manganèse pour atteindre leur activité catalytique optimal. Les antioxydants non enzymatiques incluent des substances de petite masse moléculaire telles que l'acide urique, le glutathion, les ubiquinol et les protéines transporteuses par séquestration des métaux (transferrine et le fer), (Tafuri *et al.*, 2016 ; Bensakhria *et al.*, 2018 ; Milatovic *et al.*, 2019).

Tableau 2. Antioxydants endogènes enzymatiques et non enzymatiques (Ozougwu, 2016 ; Bensakhria *et al.*, 2018).

Antioxydants enzymatiques	Antioxydants non enzymatiques
Superoxyde dismutase (SOD) $2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ Catalase (CAT) $2H_2O_2 \rightarrow O_2 + H_2O$ Glutathion peroxydase (GPx) $ROOH + 2\ GSH \rightarrow ROH + GSSG + H_2O$	Glutathion (GSH) $GSSG + NADPH + H^+ \rightarrow 2GSH + NADP$ Protéines transporteuse des métaux (Ferritine, lactoferrine, céruloplasmine et albumine) Acide urique (C₅H₄O₃N₄)

2.2.2. Antioxydants exogènes

Les antioxydants exogènes sont des antioxydants que l'organisme ne peut pas synthétiser lui-même et qui doivent donc être ingérés via l'alimentation en particulier les fruits et les légumes. Les plus essentiels sont les vitamines, les caroténoïdes et les polyphénols (Ozougwu, 2016).

2.2.2.1. Vitamines

La vitamine C, la vitamine E et le bêta-carotène comptent parmi les vitamines alimentaires les plus étudiés (Ozougwu, 2016). La vitamine C c'est un agent réducteur et chélateur sous forme

d'acide déhydro-L-ascorbique. Elle est considérée comme l'antioxydant hydrosoluble le plus important dans les fluides extracellulaires, il réagit directement sur les radicaux libres et élimine H_2O_2 (Ozougwu, 2016 ; Bensakhria *et al.*, 2018). Le bêta-carotène (précurseur de la vitamine A) et d'autres caroténoïdes sont également considérés comme offrant une protection antioxydante aux tissus riches en lipides (interrompt le processus de la peroxydation lipidique). Des recherches suggèrent que le bêta-carotène pourrait agir en synergie avec la vitamine E (Ozougwu, 2016 ; Bensakhria *et al.*, 2018). La Vitamine E sous forme d' α -tocophérol (la plus active et la plus absorbée), antioxydants majeurs des structures lipidiques et neutralise 1O_2 (Bensakhria *et al.*, 2018).

2.2.2.2. Polyphénols

Les polyphénols sont des composés naturels, mais il existe également des composés synthétiques et semi-synthétiques. Les fruits, les légumes, les céréales et les boissons sont des exemples de composés alimentaires contenant des polyphénols. Le thé ou le café, le chocolat et les légumineuses sèches contiennent également des polyphénols. Enfin, les polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisée par les plantes, présentes dans les feuilles, les tiges et les fleurs, contribuent à leur couleur, leur saveur et sont impliqués dans le système de défense, notamment en protégeant contre les rayons ultraviolets et les agents pathogènes (Hussain *et al.*, 2016, Yahfoufi *et al.*, 2018). Les polyphénols comprennent principalement les acides phénoliques et les flavonoïdes (Rudrapal *et al.*, 2020). Les flavonoïdes sont les produits polyphénoliques les plus diversifiés, regroupent les flavonols, les flavones, les isoflavones, les anthocyanidines, le resvératrol et la curcumine (Hussain *et al.*, 2016). Ces composés organiques sont caractérisés par la présence d'un cycle aromatique avec au moins un groupe hydroxyle (composés phénoliques) ou de plusieurs cycles aromatiques comportant plus d'un groupe hydroxyle (polyphénol). La **figure 7** représente les différentes classes de polyphénols avec leurs structures de bases. L'effet bénéfique des composés phénoliques réside dans leurs propriétés antioxydantes grâce à leur groupe hydroxyle libre sur leur cycle aromatique. De plus, leur activité antioxydante dépend du nombre de groupes hydroxyles. En outre, les polyphénols agissent comme des agents réducteurs, chélateurs des ions métalliques ou agrégateurs d'oxygène singulet. Ce sont des antioxydants qui peuvent donc inhiber et

contrôler le processus d'oxydation en éliminant les radicaux libres (Safarzaei et al., 2020 ; Wang *et al.*, 2021). Les flavonoïdes protègent également les membranes cellulaires endommagées par la peroxydation lipidique et contribuent, en tant qu'antioxydants, à la prévention de nombreuses maladies causées par le stress oxydatif car ils donnent de l'hydrogène et un électron aux radicaux hydroxyle, peroxy et peroxyxynitrite, les stabilisant et donnant naissance à un radical flavonoïde relativement stable (Karak, 2019). Les polyphénols sont des puissants régulateurs de l'oxydation des LDL et donc ils ont la capacité de protéger les cellules contre les dommages des ROS et jouent de ce fait un rôle dans la prévention contre les maladies liées au stress oxydatif (Rudrapal *et al.*, 2020). Les polyphénols ont certaines propriétés anti-inflammatoires et antibiotiques et peuvent en outre activer le facteur de transcription Nrf2. Nrf2 joue un rôle clé dans la protection cellulaire contre le stress oxydatif et l'inflammation (Hussain *et al.*, 2016).

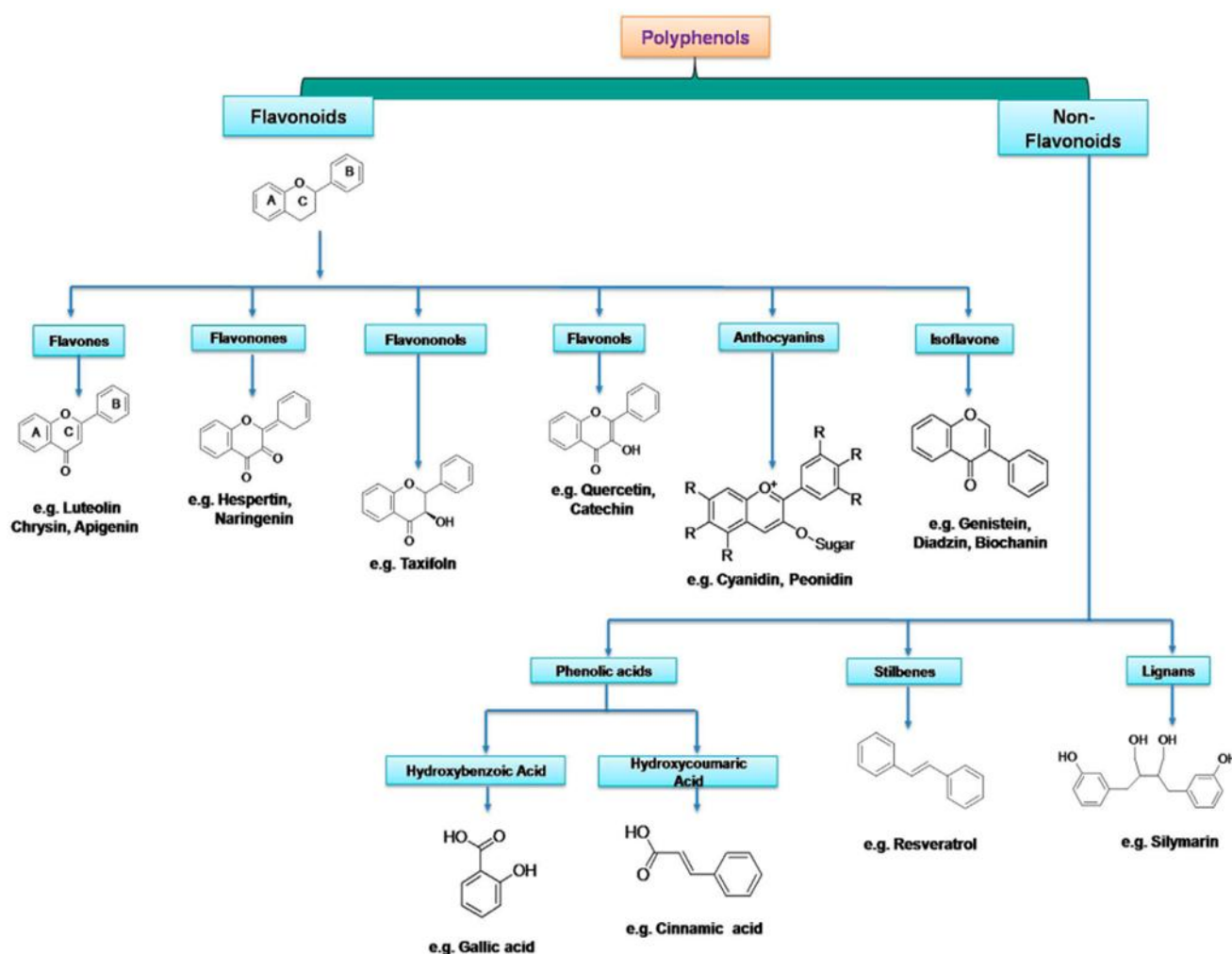


Figure 7: Différentes classes de polyphénols végétaux avec leurs squelettes structuraux de base (Rudrapal *et al.*, 2020).

3. Relation entre le stress oxydatif et l'inflammation

L'inflammation et le stress oxydatif sont des événements physiopathologiques étroitement liés les uns aux autres et apparaissent simultanément dans diverses conditions pathologiques (Li *et al.*, 2016). Au cours des syndromes inflammatoires chroniques tel que les maladies intestinales, des maladies respiratoires (asthme, mucoviscidose) ou la polyarthrite rhumatoïde, la réaction inflammatoire et immunitaire se perpétue et il existe un infiltrat de cellules immunitaires permanent, qui libèrent des ROS dans le but d'éliminer les pathogènes, ce qui entraîne un stress oxydatif. D'un autre côté le stress oxydant, par excès de production de médiateurs oxydants et/ou du fait d'une carence en certains éléments nutritifs indispensables au maintien d'une défense antioxydante adaptée, contribue sinon à la genèse, du moins à l'entretien de la réponse inflammatoire et immunitaire en déclenchant une cascade de signaux intracellulaires qui renforce l'expression des gènes pro-inflammatoires. Il existe deux voies principales par lesquelles les dommages oxydatifs produits par les radicaux libres favorisent les réponses inflammatoires : les TLR (Toll like receptor) et l'inflammasome (Reimund, 2002 ; Ramos-González *et al.*, 2024). Les TLR sont des PRR qui peuvent reconnaître les motifs moléculaires associés aux dommages tels que les protéines oxydées, les produits glyqués et la peroxydation lipidique et activer la production de cytokines pro-inflammatoires dépendante du facteur de transcription NF-KB et la voie de signalisation MAPK (Srivastava et Kumar, 2015 ; Ramos-González *et al.*, 2024). Une fois activé par le stress cellulaire, le NF-KB provoque l'expression de près de 500 produits géniques différents, dont des enzymes, des cytokines, des molécules d'adhésion et d'autres intermédiaires de signalisation étroitement liés à l'inflammation (Srivastava et Kumar, 2015, Hussain *et al.*, 2016). Les inflammasomes sont de grands complexes multiprotéiques cytosoliques qui s'assemblent en réponse à la détection d'une infection ou de stimuli associés au stress et conduisent à l'activation de réponses inflammatoires médiées par les caspases et au déclenchement d'une forme inflammatoire de mort cellulaire appelée pyroptose. Les TLR et l'inflammasome favorisent tous deux les réponses inflammatoires, entraînant la libération de

cytokines pro-inflammatoires. Cependant, une libération inappropriée de cytokines pro-inflammatoires peut entraîner une inflammation stérile et augmenter le stress oxydatif, créant ainsi un cercle vicieux (Hussain *et al.*, 2016 ; Pomacu *et al.*, 2021 ; Ramos-González *et al.*, 2024).

Le tripeptide glutathion (GSH) est un antioxydant thiol intracellulaire participe à la régulation redox de l'immunité par le biais de disulfures mixtes entre les cystéines protéiques et les glutathions ; ce processus, appelé glutathionylation, agit sur les protéines de signalisation et les facteurs de transcription (Hussain *et al.*, 2016).

CHAPITRE II :
ARTHRITE RHUMATOÏDE

CHAPITRE II : ARTHRITE RHUMATOÏDE

1. Définition et épidémiologie

L'arthrite rhumatoïde (AR) est une maladie auto-immune touchant généralement 0,2 % à 1,2 % de la population mondiale (Pauline et Kumar Subbaraj, 2025) et 0,7 à 1% de la population algérienne ce qui représente environ 300 000 Algériens atteints de polyarthrite rhumatoïde (Hamahmi et Toumi, 2014). Cependant, les variations d'un pays à l'autre dans la fréquence de l'AR résultent de variations dans les conditions météorologiques, le statut socio-économique et l'origine ethnique. On estime que 1,5 million de personnes sont touchées par l'AR dans le monde (Pauline et Kumar Subbaraj, 2025). C'est une maladie inflammatoire chronique des articulations caractérisées par une hyperplasie de la membrane synoviale avec augmentation des autoanticorps tels que le facteur rhumatoïde (FR) et les anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP) (Dean *et al.*, 2017 ; Jahid *et al.*, 2023), une dégradation du cartilage et une érosion de l'os, conduisant à une invalidité et une détérioration de la qualité de vie (Neergheen-Bhujun *et al.*, 2014 ; Huang *et al.*, 2023 ; Ali *et al.*, 2024). Elle affecte non seulement les articulations, mais s'accompagne également de symptômes extra-articulaires, tels que des troubles cardiovasculaires, pulmonaires, squelettiques et psychologiques (Huang *et al.*, 2023). La maladie peut apparaître à n'importe quel âge mais se développe souvent au cours de la quatrième et cinquième décennie de la vie de l'adulte sachant que l'incidence augmente avec l'âge (Engdahl *et al.*, 2010 ; Jahid *et al.*, 2023 ; Huang *et al.*, 2023). Les femmes sont deux à trois fois plus touchées que les hommes (Huang *et al.*, 2023 ; Jahid *et al.*, 2023), cette prédominance féminine de la maladie suggère clairement l'influence des facteurs hormonaux sexuels et reproductifs dans l'étiologie de l'AR (Alpizar-Rodriguez *et al.*, 2016). La gravité et la propagation de l'AR sont déterminés par de multiples facteurs, notamment immunitaires, génétiques et environnementaux (Liu *et al.*, 2009). L'AR peut présenter deux états différents : actif ou inactif. À l'état actif, les tissus sont enflammés, tandis qu'à l'état inactif, l'inflammation diminue. À l'état inactif, les

patients ne ressentent généralement aucun symptôme, mais lorsque la maladie récidive, les symptômes réapparaissent. Les manifestations cliniques de l'AR sont une raideur matinale, des douleurs dans les épaules, le cou et la ceinture pelvienne, une perte de mobilité accompagnée de fièvre, de fatigue, de malaise, d'une perte de poids et du développement de nodules rhumatoïdes (Jahid *et al.*, 2023).

2. Etiologie

L'étiologie d'AR a été associée à des facteurs à la fois génétiques et environnementaux cependant, les causes exactes restent incertaines (Pauline et Kumar Subbaraj, 2025).

2.1. Facteurs génétiques

La maladie est deux à trois fois plus fréquente chez les personnes ayant des antécédents familiaux d'AR que chez celles qui n'en ont pas, et sa prévalence chez les jumeaux est très constante, ce qui suggère qu'ils existent des gènes qui constituent le terrain prédisposant à l'atteinte par cette maladie (Huang *et al.*, 2023). Des recherches ont prouvé que la zone des gènes qui codent pour le complexe *HLA* de classe II (complexe majeur d'histocompatibilité ; CMH) localisé sur le petit bras du chromosome 6 est fortement liée à l'AR (**figure 8**), en particulier le locus (gène) *HLA-DRB1* (Jahid *et al.*, 2023).

Les multiples allèles *HLA-DRB1* codent pour une séquence conservée d'acides aminés (trois variants homologues d'acide aminé : QKRAA, QRRRAA, RRRRAA) nommée le motif conservé (The shared epitope ; SE), en position 70-74 dans la troisième région hypervariable de la chaîne β du *HLA-DR*. En s'appuyant sur le rôle connu des molécules *HLA* de classe II dans la présentation de l'antigène, les chercheurs ont émis l'hypothèse que le SE chargé positivement prédispose à l'AR en formant la structure de l'une des poches de la chaîne β qui sert à ancrer le peptide "arthritogénique" et à le présenter aux lymphocytes T, qui sont les cellules exécutrices dans le déclenchement de la réponse auto-immune et de la pathogénèse de l'AR (de Almeida *et al.*, 2011 ; Dean *et al.*, 2017).

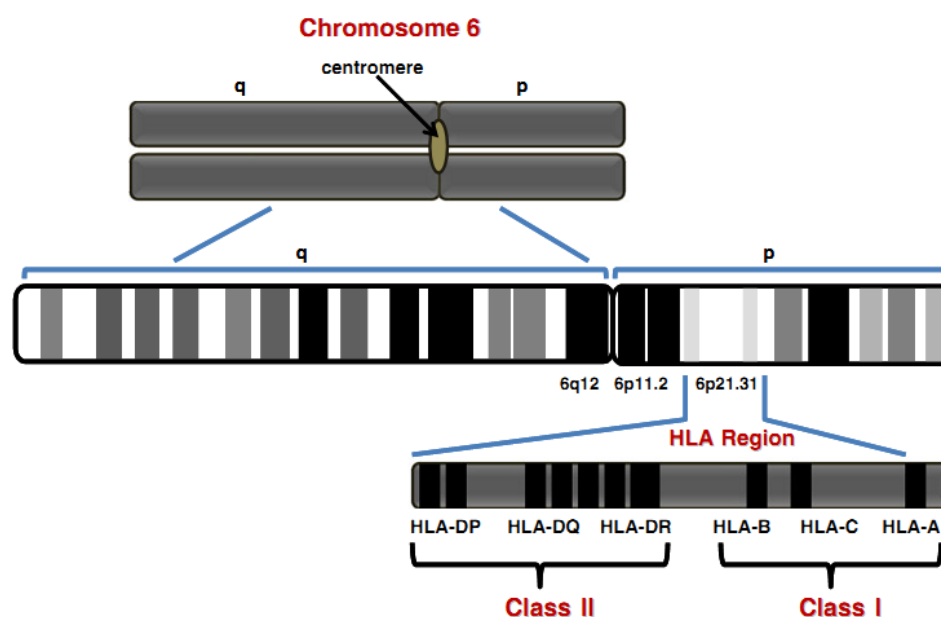


Figure 8. Diagramme schématisique de la région des gènes qui code pour le complexe majeur d'histocompatibilité II (CMHII) sur le chromosome 6 (McCarty *et al.*, 2010).

Cette hypothèse est confirmée par l'étude de Zhuo *et al.* (2022) dont ils ont trouvé que le SE est présent en proportions élevées chez les malades d'AR anti-PCC/APCA séropositifs. De plus des recherches ont démontré que les protéines ou peptides citrullinés, par rapport à leurs homologues contenant de l'arginine se lient de manière préférentielle au SE pour être présenté plus efficacement aux lymphocytes T. Il est donc supposé que le SE a un rôle essentiel dans la pathogénèse de l'AR, notamment de la APCA séropositive (Dean *et al.*, 2017 ; Darrah *et al.*, 2018). Étant donné que seulement 30 % à 40 % du risque génétique d'AR s'explique par la région CMH, des efforts considérables ont été consacrés à l'étude des gènes non *HLA* du faite que le risque génétique global de l'AR représente 60 % de la charge morbide (Jahid *et al.*, 2023).

Dans ce cadre, les polymorphismes à un seul nucléotide (PSNs) dans la zone codante de divers gènes ont fait l'objet de recherches approfondies. Le PSN le plus marqués et qui constitue l'un des associations génétiques non-*HLA* et non-cytokine décrite pour l'AR concerne le polymorphisme du gène PTPN22 (Protéine tyrosine phosphatase non récepteur type 22). Ce gène code pour une protéine tyrosine phosphatase qui agit comme un régulateur négatif de l'activation

immunitaire des lymphocytes T et de certaines autres cellules. Ce polymorphisme conduit à une hyper-citrullination en raison d'une modification des interactions du PTPN22 avec la peptidyl arginine déiminase (PAD), l'enzyme chargée de la citrullination, conduisant à l'auto-immunité dans l'AR (Dean *et al.*, 2017 ; Romão et Fonseca, 2021). Les protéines citrullinées, ciblées par les ACPAs résultent par une modification post-traductionnelle de plusieurs protéines (Filaggrine, vimentine, fibrine, fibrinogène et le collagène type II), (Lin *et al.*, 2020) qui correspond à une transformation d'une arginine en citrulline grâce à la désimination calcique (**figure 9**) effectuée par l'enzyme de la peptidyl arginine désiminase (PAD). Cette enzyme existe sous plusieurs formes (PAD 1,2,3,4 et 6). Les enzymes PAD2 et PAD4 sont impliquées dans la pathogenèse de l'AR et sont observées dans les tissus et les fluides des articulations inflammatoires atteintes d'AR, et ces deux enzymes peuvent générer des auto-antigènes citrullinés ciblés par des réponse immunitaires (Darrah *et al.*, 2018).

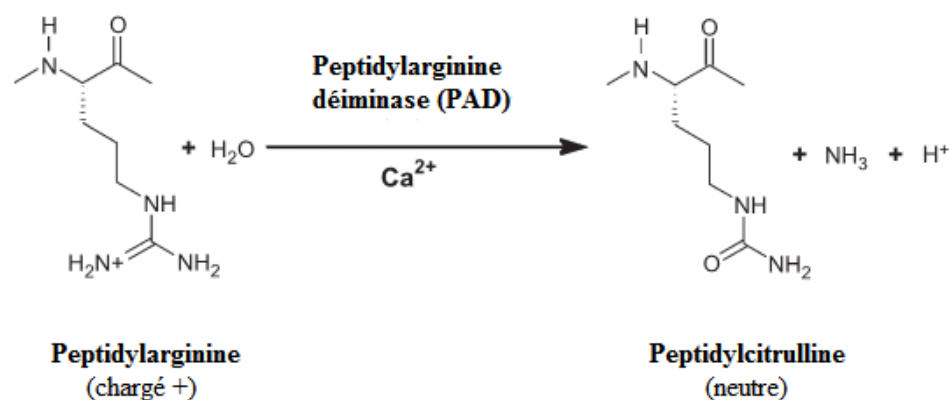


Figure 9. Conversion enzymatique de peptidyl arginine en peptidyl citrulline par PAD (Nijenhuis *et al.*, 2004).

Les PSN des gènes des cytokines, principalement le PSN du gène TNF- α , affecte également le développement et la progression de l'AR (Hashim et Abdulameer, 2024). Le gène TNF- α se trouve sur le chromosome 6. Il a été démontré que le promoteur TNF- α présente plusieurs PSNs. L'un des polymorphismes les plus intéressants est la substitution de la guanine par l'adénine en

position -308. Ce PSN pourrait avoir un impact significatif sur les niveaux de transcription du TNF qui joue un rôle essentiel dans la prolifération des Lymphocytes T (Pauline et Kumar Subbaraj, 2025). Ces données sont confirmées par Hashim et Abdulameer (2024), dont ils ont constaté que 60 % de la production de TNF est d'origine génétique.

2.2. Interaction entre les facteurs génétiques et l'environnement

Divers facteurs génétiques et environnementaux peuvent interagir pour augmenter le risque de l'AR (Alpizar-Rodriguez *et al.*, 2016), (figure 10).

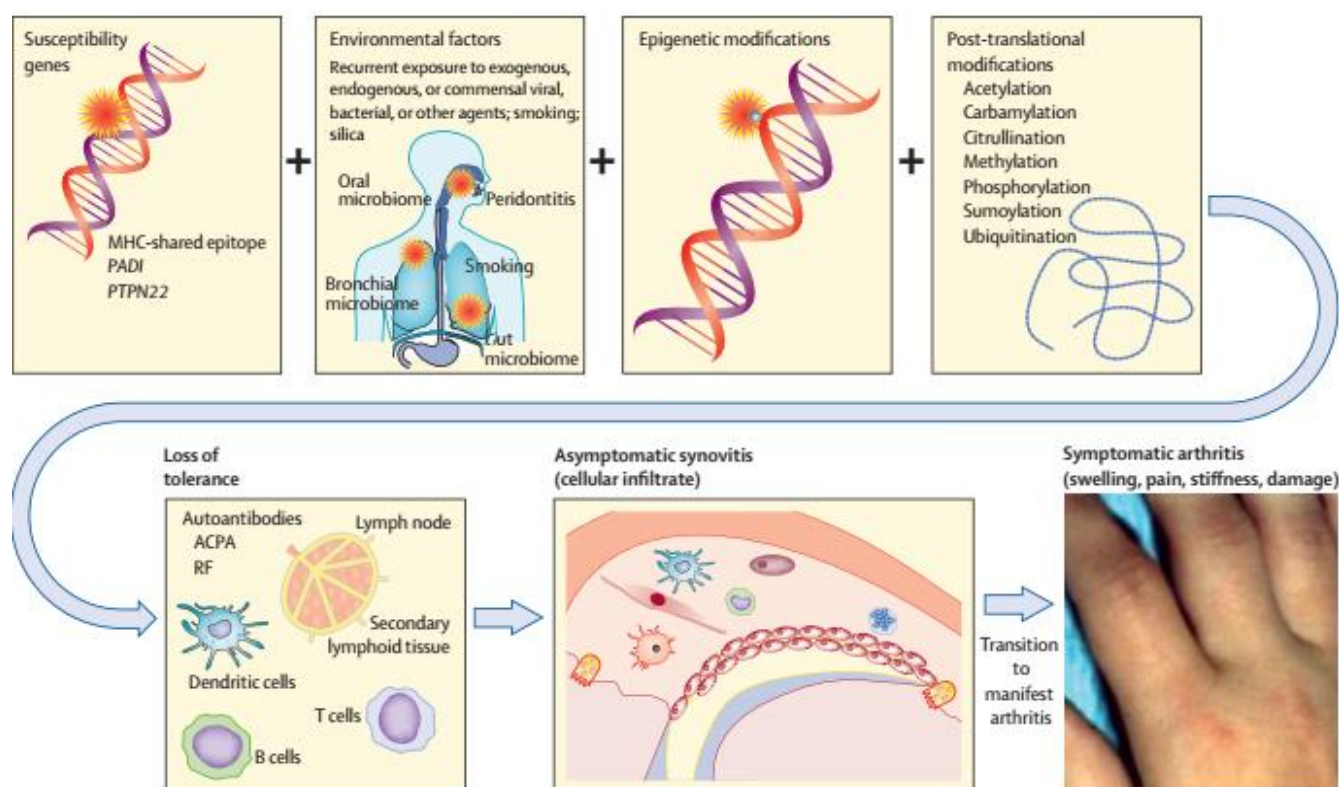


Figure 10. Etiologie de l'arthrite rhumatoïde (Smolen *et al.*, 2016).

Un grand nombre de facteurs environnementaux contribuent au développement de l'AR, ces facteurs sont divisés en en facteurs régionaux qui comprennent la géographie, le climat et les microbes locaux, et facteurs socioculturels tels que le mode de vie, la consommation de tabac et les habitudes alimentaires (Perricone *et al.*, 2011). Le plus important parmi ces facteurs est l'exposition au tabac qui représente environ 20 à 30 % du risque environnemental de l'AR. Le

tabagisme est fortement associé à l'AR ACPA séropositive, en particulier dans le contexte du SE (Dean *et al.*, 2018). Le tabagisme est associé aussi au FR même en absence d'AR ce qui suggère qu'il existe des interactions biologiques entre ces facteurs qui favorisent le développement de l'AR, ou tout au moins l'auto-immunité liée à l'AR. À titre d'exemple pertinent, il a été suggéré que le tabagisme pourrait entraîner une augmentation de la citrullination qui, dans un contexte génétique approprié, conduirait à la présentation de protéines citrullinées et à la production d'ACPA (Dean *et al.*, 2018). Le risque de cette maladie augmente aussi avec, l'utilisation de pesticides agricoles, de solvants et d'engrais chimiques (Jahid *et al.*, 2023). Les microbes jouent un rôle dans le développement de l'AR, en effet ils influencent l'immunité humaine tant au niveau des muqueuses que de l'organisme dans son ensemble. À un certain stade de l'AR préclinique, au niveau d'une surface muqueuse (par exemple, la cavité buccale, les poumons, l'intestin), les interactions entre les microbes et d'autres facteurs environnementaux potentiels (par exemple, la fumée de tabac) et les facteurs de l'hôte entraînent une inflammation des muqueuses et une rupture initiale de la tolérance immunitaire liée à l'AR. Cette inflammation des muqueuses peut alors faciliter la propagation locale, puis systémique, de l'auto-immunité vis-à-vis des auto-antigènes (Dean *et al.*, 2018). Deux bactéries ont été identifiées *Porphyromonas gingivales* et *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* qui favorisent la citrullination de la muqueuse buccale (Nefeli *et al.*, 2023).

Ainsi, l'infection par le virus d'Epstein-Barr (EBV) constitue un facteur déclenchant potentiel du développement de l'arthrite inflammatoire. L'hypothèse du mécanisme repose sur le déséquilibre entre l'infection à l'EBV et la capacité de l'hôte à la contrôler, ainsi que sur le mimétisme moléculaire entre les antigènes viraux et les auto-antigènes. La réactivation croisée entre les anticorps circulants dirigés contre les antigènes viraux et les auto-antigènes et une diminution de la réponse des lymphocytes T à la protéine régulatrice de l'EBV chez les patients atteints de PR entraînent une altération de la limitation de la réplication virale, une expression chronique des antigènes de l'EBV et une réponse inflammatoire soutenue (Banko *et al.*, 2023).

3. Physiopathologie de l'arthrite rhumatoïde

Il existe trois phases distinctes dans l'évolution de la maladie. La première phase dite initiale ou asymptomatique, durant laquelle une rétention de liquide et hypertrophie synoviale surviennent au cours de ce processus, qui se caractérise par l'activation des cellules inflammatoires et des cytokines. L'activation des lymphocytes T au cours de la deuxième phase dite phase d'amplification entraîne l'infiltration et la destruction de l'os sous-chondral et du cartilage articulaire ; ce processus est graduel, permanent et symptomatique. Enfin, la dernière phase conduit à l'ankylose des articulations et à des anomalies à long terme (Ali *et al.*, 2024).

3.1. Inflammation de la membrane synoviale ou synovite

La synovite, conséquence de l'activation immunitaire est la clé de la physiopathologie de l'AR dont l'histologie de la membrane synoviale (**figure 11**) change avec l'évolution de la maladie. Ce processus inflammatoire implique de nombreux acteurs cellulaires de l'immunité innée (des monocytes, des cellules dendritiques, des mastocytes et des cellules lymphoïdes innées) et adaptative (des lymphocytes T auxiliaires 1 et des lymphocytes T auxiliaires 17, des lymphocytes B, des plasmablastes et des plasmocytes) et des acteurs extracellulaires (Smolen *et al.*, 2016 ; Lin *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2023). Au stade précoce de la maladie, un œdème tissulaire appelé “pannus” envahit l'os périarticulaire à la jonction cartilage-os, entraînant une érosion osseuse et une dégradation du cartilage et un dépôt de fibrine sont évidents et donne naissance à la douleur (Lin *et al.*, 2020). Cette étape se caractérise par une infiltration des leucocytes (infiltration marquée de cellules à noyau unique, telles que les plasmocytes, les macrophages, les cellules B et les cellules T) et PNN du sang vers le tissu de la membrane synoviale (Huang *et al.*, 2023). De plus, il existe des changements dans l'expression des molécules d'adhésion à la surface cellulaire, des protéases, des inhibiteurs de protéases et de nombreuses cytokines dans la synovite (Huang *et al.*, 2023). L'hyperplasie synoviale s'accompagne souvent d'une néovascularisation (croissance de nouveaux vaisseaux sanguins), (Lin *et al.*, 2020).

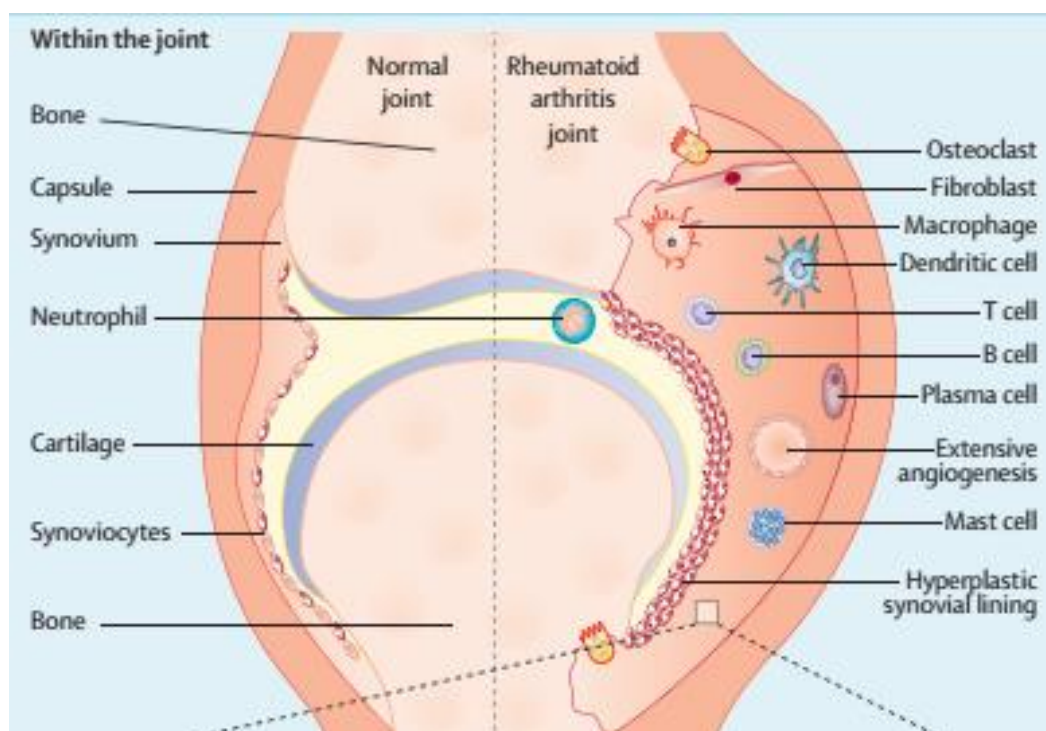


Figure 11. Caractéristiques histologiques des articulations enflammées atteintes d'AR (Huang *et al.*, 2023).

3.2. Auto-immunité et l'arthrite rhumatoïde

Initialement, les CD qui jouent un rôle important dans la réponse immunitaire innée et adaptative dans le processus de l'AR, sont stimulées par les pathogènes et se différencient pour migrer vers les tissus lymphoïdes et les articulations enflammées (pour maintenir l'inflammation), (Gierut *et al.*, 2010). Ces CD activées expriment à leur surface des molécules de CMH II et exposent l'Antigène arthritogène (auto-antigène/ étranger) aux lymphocytes T naïfs (dans les ganglions lymphatiques et les tissus locaux) qui s'active et donnent naissance aux cellules auxiliaires distinctes (Th) et cela dépend du type de cytokines clés sécrétés par les CD matures, l'IL-12 et l'IL-18 pour les cellules Th1 et l'IL-23 pour les cellules Th17 (Gierut *et al.*, 2010 ; Lin *et al.*, 2020 ; Huang *et al.*, 2023). Les cellules T activées seront recrutées du sang périphérique et infiltrées à travers la membrane synoviale où elles potentialisent la réponse auto-immune et maintiennent l'inflammation (Huang *et al.*, 2023). Th1 sécrète IL-2, IFN- γ et TNF- β et activent d'autres cellules immunitaires comme les macrophages et les lymphocytes B (Lin *et al.*, 2020).

Les lymphocyte Th17 activés dans l'articulation synoviale sont capable de recruter les PNN, activer les cellules immunitaires et améliorer l'ostéoclastogenèse (Lin *et al.*, 2020 ; Huang *et al.*, 2023). Les macrophages activés génèrent ensuite des cytokines pro-inflammatoires, notamment l'IL-1 β , l'IL-6 et le TNF- α , qui peuvent s'accumuler et activer d'autres cellules immunitaires dans la synoviale. Les fibroblastes activés, associés à d'autres cellules immunitaires, favorisent l'ostéoclastogenèse par le biais d'interaction du ligand activateur du récepteur du facteur nucléaire κ B (RANKL) exprimé sur les cellules T, les cellules B et les fibroblastes, avec son récepteur RANK sur les macrophages, les cellules dendritiques et les préostéoclastes (Smolen *et al.*, 2016). Les malades d'arthrite rhumatoïde se caractérise par un déséquilibre entre la résorption osseuse par les ostéoclastes et la formation osseuse par les ostéoblastes dont la résorption osseuse devient excessive (Huang *et al.*, 2023). La forte concentration d'anticorps spécifiques de l'AR, tels que le FR et les ACPAs qui résultent d'une stimulation aberrante des lymphocytes B autoréactifs, jouent également un rôle majeur dans la pathologie de l'AR par la formation de complexes immuns. Les ACPAs reconnaissent les épitopes des antigènes contenant de la citrulline et se lient aux FR ce qui peut entraîner l'activation abondante du complément et par conséquent maintenant l'inflammation dans la capsule synoviale (Lin *et al.*, 2020 ; Huang *et al.*, 2023). Les ACPA peuvent augmenter la résorption osseuse soit par l'activation des macrophages médiée par les complexes immuns qui à leur tour sécrètent des cytokines pro-inflammatoires (par exemple, TNF- α , RANK-L) favorisant la différenciation des ostéoclastes ou par la reconnaissance directe des protéines citrullinées à la surface des cellules précurseurs des ostéoclastes qui sont riches en vimentines, ce qui entraîne une génération efficace d'ostéoclastes (Smolen *et al.*, 2016 ; Lin *et al.*, 2020). Les FR favorisent l'inflammation en activant directement les macrophages (Huang *et al.*, 2023). La **figure 12** illustre les différentes cellules immunitaires et cytokines impliqués dans le développement de l'AR.

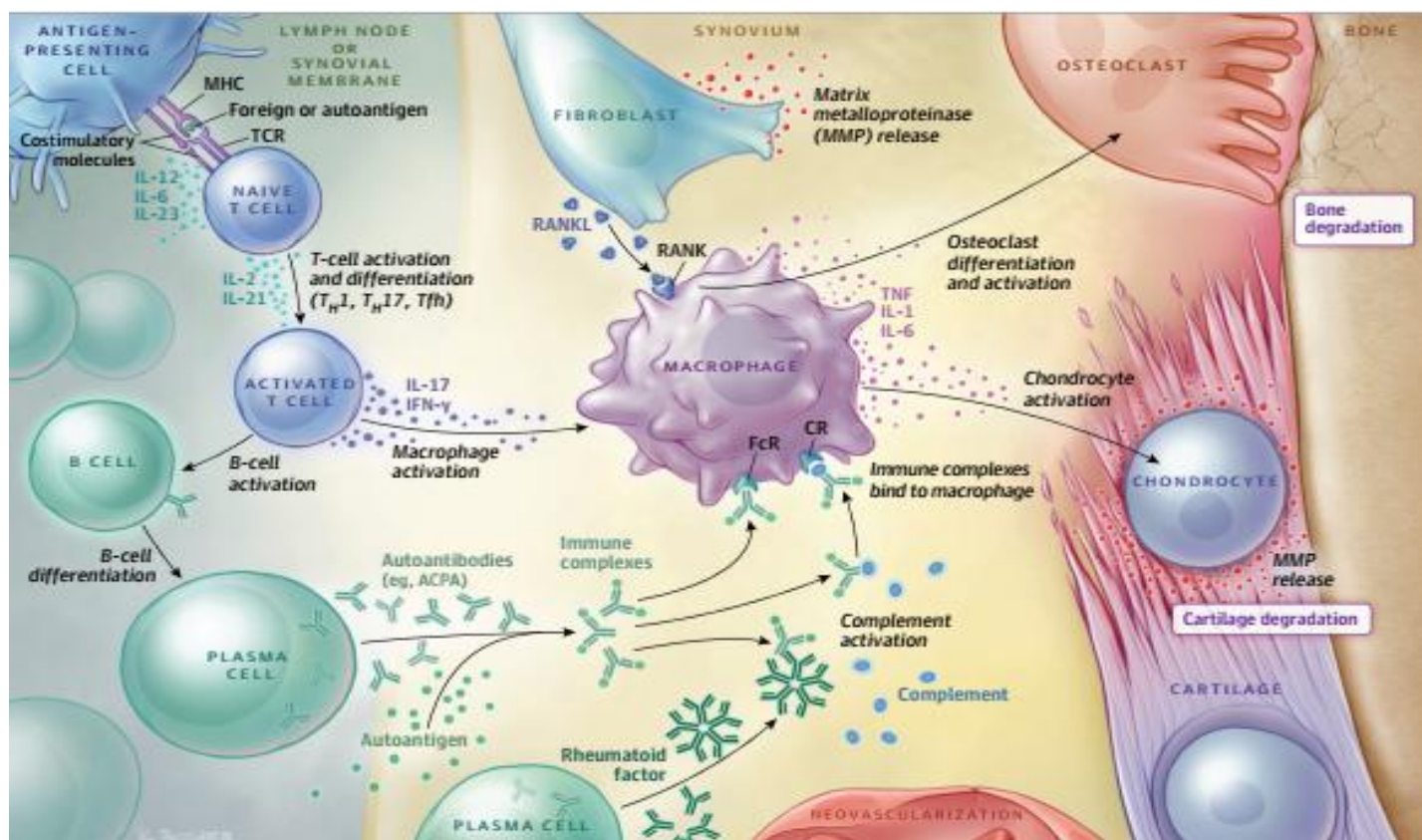


Figure 12. Mécanisme inflammatoire impliqué dans la pathogénèse de l'AR (Aletaha et smolen, 2018).

3.3. Arthrite rhumatoïde et cytokines

L'environnement inflammatoire dans le compartiment synovial est déclenché et maintenu par un réseau de cytokines et de chimiokines, notamment le facteur de nécrose tumorale $\text{TNF-}\alpha$, l'IL-6, IL-1, l'IL-17, l'interféron $\text{IFN-}\gamma$ et le ligand activateur du récepteur du facteur nucléaire κB (RANK-L), (Gomes *et al.*, 2014 ; Huang *et al.*, 2023). Des études ont mis en évidence la concentration la plus élevée des cytokines dans les tissus affectés de l'AR par rapport aux sujet sains (Liu *et al.*, 2009 ; Gomes *et al.*, 2014). Ces cytokines se lient aux récepteurs cellulaires et activent les cellules endothéliales et entraînent l'accumulation des cellules immunitaires dans le compartiment synovial (Huang *et al.*, 2023). Les synoviocytes de type macrophages et fibroblastes sont les principales sources de cytokines pro-inflammatoires qui favorisent l'inflammation persistante et la destruction articulaire dont les macrophages sécrètent IL-1, IL-6 and $\text{TNF-}\alpha$ et les fibroblastes expriment IL-6, les métalloprotéases matricielles (MMPse), les

prostaglandines et les leucotriène (Huang *et al.*, 2023). L'IL-1 et le TNF- α contribuent à l'auto-prolifération des synoviocytes (fibroblastes, ostéoclastes, macrophages) et chondrocytes et augmentent la production d'enzymes tissulaires telles que les MMPs en particulier MMP-1 et MMP-3 *via* ces cellules, entraînant une dégradation du cartilage (Liu *et al.*, 2009, Jahid *et al.*, 2023). Le TNF- α joue aussi un rôle dans l'érosion osseuse en déclenchant la production d'autres cytokines (IL-1, facteur de stimulation des colonies de granulocytes-macrophages FSC-GM) et molécules d'adhésion endothéliales, stimule la collagénase et induit la différenciation des ostéoclastes (Liu *et al.*, 2009 ; Jahid *et al.*, 2023). L'IL-1 est l'une des cytokines pro-inflammatoires les plus puissantes dont elle joue un rôle central dans le processus inflammatoire et la dégradation osseuse et cartilagineuse. Elle favorise la biosynthèse de l'IL-6, de l'IL-8 et du GM-CSF, puis déclenche l'expression de molécules d'adhésion comme la VCAM-1 et l'ICAM-1 (Jahid *et al.*, 2023). Une concentration élevée d'IFN- γ est également observée dans la synoviale, le liquide synovial et le plasma chez les patients d'AR. L'IFN- γ peut favoriser la présentation des antigènes et activer les macrophages par plusieurs voies de signalisation impliquées dans le déclenchement de l'inflammation (Huang *et al.*, 2023).

4. Traitement de l'arthrite rhumatoïde

Un grand nombre de médicaments thérapeutiques innovants et efficaces ont fait leur apparition ces dernières années, permettant un soulagement significatif de l'inflammation articulaire et de la destruction osseuse chez les patients atteints de l'AR. Ces méthodes thérapeutiques consistent à cibler les événements inflammatoires en imitant l'action des inhibiteurs naturels tel que les récepteurs de cytokines solubles et les antagonistes des récepteurs et les cytokines anti-inflammatoires (Smolen et Steiner, 2003 ; Gao *et al.*, 2024). Bien que les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les stéroïdes soient efficaces pour soulager la douleur et l'inflammation, ils sont peu performants pour ralentir la progression radiographique et peuvent entraîner une série d'effets indésirables lors d'une utilisation à long terme (Aletaha et smolen, 2018 ; Gao *et al.*,

2024). D'autre part, les médicaments antirhumatismaux modificateurs de la maladie (DMARD, disease-modifying antirheumatic drugs), qui peuvent prévenir efficacement la destruction articulaire et l'invalidité demeurent le fondement du traitement de la PR (Aletaha et smolen, 2018 ; Gao *et al.*, 2024).

4.1. Antiinflammatoires

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) comme l'aspirine, le Diclofenac ou l'ibuprofène atténuent efficacement la douleur et réduisent l'œdème. Ces traitements améliorent la fonction articulaire, cependant, ils ne changent pas l'évolution de la maladie car ils ne stoppent pas les dommages articulaires. Les propriétés anti-inflammatoires des AINS peuvent être principalement attribuées à l'inhibition de la biosynthèse des prostanoïdes (prostaglandine et thromboxane). L'utilisation des AINS s'accompagne souvent d'effets secondaires rénaux, hépatiques, gastro-intestinaux et cardiovasculaires (Lin *et al.*, 2020).

4.2. Glucocorticoïdes

Les glucocorticoïdes tels que la prednisolone sont des anti-inflammatoires très puissants qui retardent la progression radiologique aux stades précoces de la maladie en supprimant de manière générale l'expression génétique. L'application à long terme des glucocorticoïdes est accompagnée par des effets secondaires métaboliques graves tels que des saignements gastro-intestinaux, l'ostéoporose et la formation d'ulcères (Smolen *et al.*, 2016 ; Lin *et al.*, 2020).

4.3. Médicaments Antirhumatismaux modificateurs de la maladie

Les DMARD sont des médicaments qui entravent à la fois les processus inflammatoires et les destructeurs de la PR. Ils réduisent à la fois la douleur et l'œdème, ainsi que l'évolution de la destruction articulaire. S'ils sont efficaces, les patients n'ont souvent pas besoin d'autres médicaments antiinflammatoires, tels que les antiinflammatoires non stéroïdiens (AINS) ou les

glucocorticoïdes (Smolen et Steiner, 2003 ; Lin *et al.*, 2020 ; Gao *et al.*, 2024). Les médicaments DMARD existants comprennent principalement deux catégories, les DMARD synthétiques (petites molécules chimiques administrées par voie orale) et les DMARD biologiques (protéines administrées par voie parentérale). Les premiers incluent les DMARD synthétiques conventionnels et les DMARD synthétiques ciblés (Aletaha et Smolen, 2018 ; Lin *et al.*, 2020). Le traitement médicamenteux est généralement accompagné par un traitement non pharmacologique qui comprend une kinésithérapie (rééducation) pour maintenir la mobilité des articulations et un soutien psychologique du patient pour freiner l'évolution de la maladie (Lin *et al.*, 2020).

4.3.1. DMARD synthétiques

4.3.1.1. DMARD synthétiques conventionnels

Les plus utilisés sont methotrexate (MTX), sulfasalazine (SSZ), Hydroxychloroquine (HCQ) et leflunomide (LEF), (Gao *et al.*, 2024). Le MTX est un analogue de l'acide folique contribue à la résolution de l'inflammation en interférant avec l'activité de la dihydrofolate réductase (enzyme impliquée dans la synthèse des purines), inhibant ainsi à la fois la synthèse des nucléotides et le métabolisme des purines, régulant de ce fait à la hausse l'adénosine qui s'est avéré avoir des propriétés anti-inflammatoires directes. Le MTX inhibe aussi les réactions de méthylation qui jouent un rôle important dans le fonctionnement des lymphocytes T et B (Lin *et al.*, 2020 ; Gao *et al.*, 2024). La SSZ est un composé conjugué qui combine à la fois les effets anti-inflammatoires (l'acide 5-aminosalicylique) et les effets antibactériens (la sulfapyrimidine), c'est un promédicament qui, dans l'organisme, est transformé par les bactéries intestinales en ces deux éléments actifs. Cependant, la sulfapyridine a été suggérée comme étant le principal composant thérapeutique de la sulfasalazine (Lin *et al.*, 2020 ; Gao *et al.*, 2024). L'HCQ a des effets immunomodulateurs et anti-inflammatoires largement reconnus. HCQ est faiblement alcaline, peut modifier le pH des lysosomes et du RE, entraînant une diminution de la digestion des protéines (antigène lysosomaux) et une réduction de la capacité de présentation en surface des

antigènes par les CPA (Lin *et al.*, 2020 ; Gao *et al.*, 2024). Le LEF est peut-être le substitut du MTX le plus largement utilisé. Il peut inhiber l'activation et la prolifération des lymphocytes T et la phosphorylation de la tyrosine kinase, bloquer l'activation du NF- κ B et renforcer l'expression du TGF- β à forte concentration (Gao *et al.*, 2024).

4.3.1.2. DMARD synthétiques ciblés

Les DMARD synthétiques ciblés ont été développés pour moduler une cible particulière impliquée dans l'induction de l'inflammation (molécule ou étape), (Smolen *et al.*, 2018). Ils interfèrent avec des molécules de transduction de signaux intracellulaires qui traduisent les effets de certaines cytokines en réponses cellulaires (Aletaha et Smolen, 2018). On retrouve les inhibiteurs de la voie de signalisation Janus kinase (JAK ; qui aboutit à l'expression génétique des cytokines pro-inflammatoires) comme le tofacitinib, le baricitinib et adalimumab (Smolen *et al.*, 2016 ; Gao *et al.*, 2024). Les DMARD synthétiques ciblés inhibent la phosphodiesterase-4 (PDE-4), une enzyme qui dégrade cAMP (adénosine monophosphate cyclique) augmentant le niveau de cAMP, l'un des seconds messagers les plus importants dans la transduction du signal cellulaire pendant l'auto-immunité et l'inflammation (Aletaha et smolen, 2018 ; Gao *et al.*, 2024).

4.3.2. DMARD biologiques

L'utilisation des DMARD biologiques repose sur quatre mécanismes d'action distinctes, l'inhibition du TNF- α ou du récepteur du TNF, l'inhibition directe de l'IL-6 ou la suppression du récepteur de l'IL-6 et de la signalisation inflammatoire liée, la restriction de la co-stimulation des lymphocytes T par les CPA, et la réduction des lymphocytes B (Lin *et al.*, 2020).

4.3.2.1. Inhibiteurs des cytokines TNF- α et IL-6

Le TNF- α et l'IL-6 jouent un rôle crucial dans l'inflammation et leur inhibition constitue l'une des méthodes thérapeutiques qui ciblent les événements inflammatoires. Les inhibiteurs du TNF- α sont plus efficaces dans le traitement de l'AR que la monothérapie par MTX dont le

mécanisme pharmacologique consiste à réduire d'autres médiateurs inflammatoires tel que l'IL-1, IL-6, IL-8 et les MMPs (Lin *et al.*, 2020 ; Gao *et al.*, 2024). Sur le plan clinique, l'anticorps neutralisant le TNF- α infliximab (un IgG1 chimérique souris-anti-humain) s'est avéré capable de réguler à la baisse la production d'autres cytokines pro-inflammatoires (IL-6), réduire à la fois le trafic leucocytaire et la destruction tissulaire, et d'entraîner à la fois une normalisation hématologique et une normalisation des réponses des lymphocytes T. L'adalimumab est un anticorps monoclonal IgG1 humain qui se lie à la fois au TNF- α soluble et transmembranaire, prescrit dans le traitement de l'AR dont il permet une réduction de la douleur et du gonflement des articulations (Aletaha et Smolen, 2018 ; Lin *et al.*, 2020 ; Gao *et al.*, 2024). Les anticorps monoclonaux utilisés chez les patients atteints de l'AR pour inhiber la signalisation de l'IL-6 sont subdivisés en anticorps neutralisant directement l'IL-6 (elsilimomab, siltuximab, sirukumab) et anticorps se liant au récepteur de l'IL-6 bloquant la signalisation pro-inflammatoire induite par la liaison de l'IL-6 à son récepteur et qui intervient dans l'activation de la voie JAK (tocilizumab, satralizumab, sarilumab), (Aletaha et smolen, 2018 ; Lin *et al.*, 2020 ; Gao *et al.*, 2024).

4.3.2.2. Thérapie anti-lymphocytes B et bloquant la co-stimulation des lymphocytes T

Le rituximab est actuellement le seul anticorps monoclonal qui cible le domaine extracellulaire du CD20 déclenchant la lyse des lymphocytes B médiée par le complément et favorisant l'apoptose des cellules B, affectant ainsi la réponse des cellules B aux antigènes ou à d'autres stimuli. L'abatacept est un agent biologique qui supprime l'induction de l'inflammation en amont de la cascade de signaux pro-inflammatoires (Lin *et al.*, 2020). L'abatacept est une molécule chimérique composée du domaine extracellulaire de la molécule co-inhibitrice CTLA-4 fusionnée à la partie Fc d'un anticorps IgG1 humain. C'est une protéine qui joue le rôle antagoniste du CD28 (second signal d'activation des lymphocytes T), en se liant au CD80 ou CD86 à la surface des CPA empêche la transmission des signaux co-stimulateurs aux lymphocytes T et l'activation subséquente des cellules T cet médicament immunosuppresseur est

efficace chez les patients d'AR séropositifs dont l'incidence des infections graves est significativement plus faible par rapport aux d'autres produits biologiques (Smolen *et al.*, 2018 ; Lin *et al.*, 2020 ; Gao *et al.*, 2024). La **figure 13** illustre la classification des DMARD.

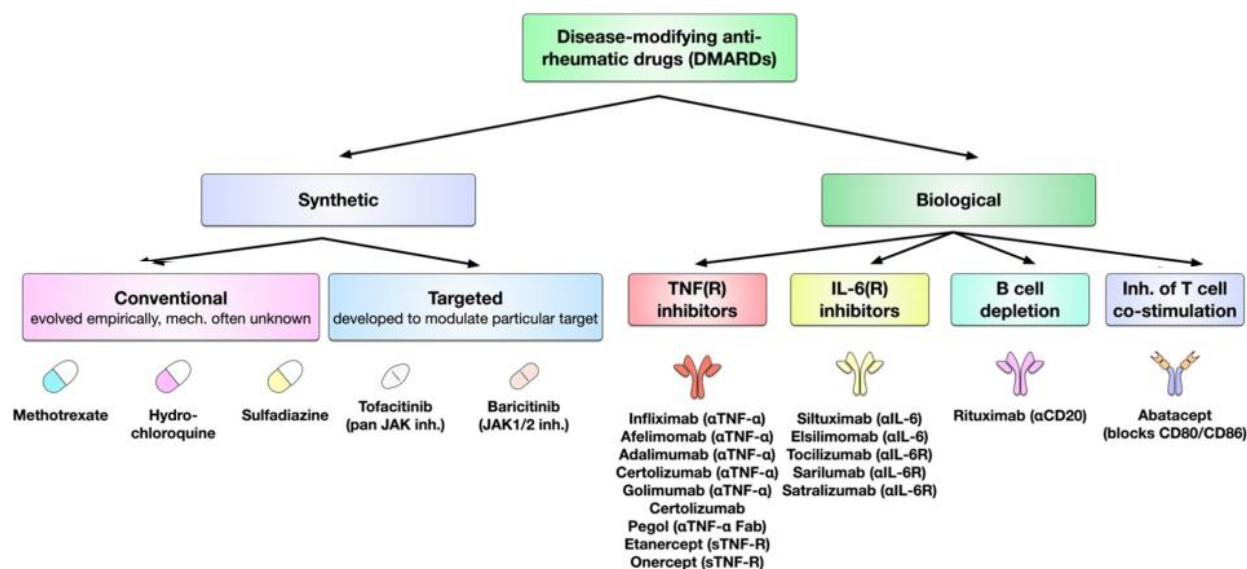


Figure 13. Classification des médicaments antirhumatismaux modificateurs de la maladie (DMARD), (Lin *et al.*, 2020).

CHAPITRE III :
CAPPARIS SPINOSA

CHAPITRE III : *CAPPARIS SPINOSA*

1. Phytothérapie

La phytothérapie tire son nom de deux termes grecs, «phyton » et « therapeuo», qui se traduisent principalement par « traiter avec les plantes ». La phytothérapie est devenue donc une pratique largement utilisée pour le traitement curatif ou préventif de nombreuses maladies en utilisant des préparations obtenues à partir des plantes entières ou d'une partie de plantes, feuilles, fleurs, racines, fruits et gaines. On désigne généralement ces plantes utilisées de cette manière comme des plantes à propriétés médicinales (sher et Alyemeni, 2010). Elles sont riches en métabolites secondaires et fournissent les principaux ingrédients des médicaments dans la plupart des systèmes de guérison traditionnels et ont été la source d'inspiration de plusieurs médicaments pharmaceutiques majeurs (Sher et Alyemeni, 2010 ; Al-Snafi, 2015).

Actuellement, malgré l'avancement de la médecine moderne, et grâce aux connaissances approfondies de la biothérapie, une résistance croissante des Algériens envers les médicaments chimiques se manifeste, conduisant à un nouvel intérêt pour les remèdes herbalistes.

Dans notre étude, nous avons choisi une parmi ces plantes médicinales appartenant à la famille des Capparidaceae, *Capparis spinosa* L en raison de son utilisation dans la médecine traditionnelle et des recherches phytochimiques documentées dans les publications scientifiques.

2. Généralité sur la famille *Capparidaceae*

Capparidaceae est une famille des plantes dicotylédones et qui sont des arbustes vivaces peuvent atteindre 1 m de haut et possèdent un système racinaire étendu. Cette plante est l'une des plantes aromatiques xérophyte qui pousse dans un large éventail de conditions climatiques, allant des déserts arides aux altitudes plus fraîches des montagnes (Habib *et al.*, 2022). Elle pousse également le long des routes, sur les pentes, dans les zones rocheuses et caillouteuses. Cette plante a développé des mécanismes spéciaux afin de survivre dans les conditions des terres semi-

arides et, par conséquent, son introduction peut contribuer à prévenir la perturbation de l'équilibre de ces écosystèmes fragiles et la dégradation des sols (Eddouks *et al.*, 2015; Rahnavard et Razavi, 2017). Le genre *Capparis* appartient donc à la famille des *Capparidaceae* qui comprend 39 genres et 650 espèces (Gull *et al.*, 2015). Les espèces sauvages de *Capparis* poussent dans les pays bordant le bassin méditerranéen et s'étendent jusqu'au Grand Sahara en Afrique du Nord et aux régions arides d'Asie occidentale et centrale, mais récemment, le câprier est cultivé et exporté (Eddouks *et al.*, 2015 ; Vahid *et al.*, 2017 ; Hajimehdipoor *et al.*, 2024). Parmi les nombreuses espèces de cette plante existants, *Capparis spinosa* représente l'espèce la plus importante (Allaith, 2016 ; Rahnavard et Razavi, 2017).

3. Description botanique et classification

Capparis spinosa L., est bien connue sous son nom commun le câprier, « El-Kabbar » en Algérie, (Al-Snafi, 2015). C'est un arbuste épineux vivace de la famille des *Capparidaceae*, genre *Capparis* (Vahid *et al.*, 2017 ; Hajimehdipoor *et al.*, 2024).

Le câprier est un petit arbre très ramifié qui porte des feuilles alternées, charnues, verte et brillante, de forme ronde à ovale (Al-Snafi, 2015). Les stipules des feuilles peuvent se transformer en épines ; c'est la raison pour laquelle on l'appelle *spinosa* (Habib *et al.*, 2022). Il possède des belles fleurs hermaphrodites, complètes, parfumées, voyantes, avec quatre sépales et quatre pétales blancs à blanc rosé, de nombreuses longues étamines violettes et un seul stigmate s'élevant généralement bien au-dessus des étamines (Yu *et al.*, 2017). Les tiges sont lignifiées à la base, de couleur verte et souples et elles sont généralement simples, mais peuvent parfois être ramifiées. Les câpres sont les fruits murs du câprier, elles ont la même taille et la même couleur qu'une petite olive verte, ils s'ouvrent à la fin de la maturité. Les graines sont noires, lisses en forme de rein de 3 mm de longueur. Le nombre de graines par fruit est en moyen de 130 avec un minimum de 15 graines pour les petits fruits et 400 graines pour les gros fruits. Cette plante possède des racines qui sont peu ramifiées et très profondes pouvant s'étendre jusqu'à 6-10 m, permettant à *Capparis* de pousser avec succès dans des sols très infertiles et de supporter le stress

environnemental (Al-Snafi, 2015 ; Nabavi *et al.*, 2016 ; Fadili *et al.*, 2017 ; Shahrajabian *et al.*, 2021). La **figure 14** représente une photo de *Capparis spinosa* L. prise pendant la récolte sur place. La classification botanique de *Capparis spinosa* L. est comme suit :

Règne : Plantae.

Sous-règne : Tracheobionta.

Division : Magnoliophyta.

Classe : Dicotylédone.

Sous-classe : Dilleniidae.

Ordre : Capparales.

Famille : *Capparaceae*.

Genre : *Capparis*.

Espèce : *Capparis spinosa* L. (Habib *et al.*, 2022).

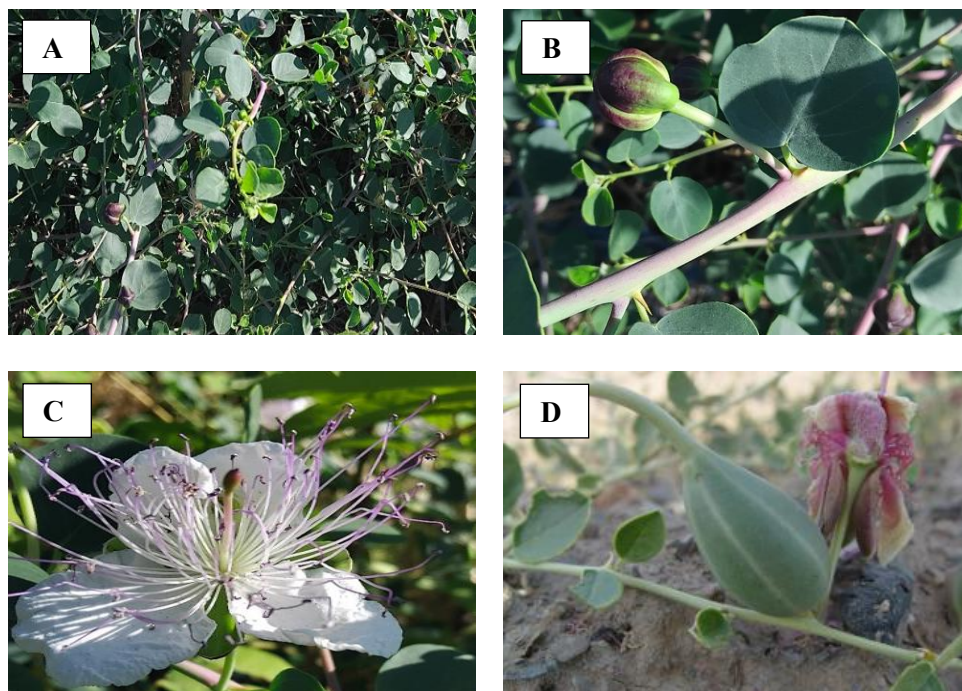


Figure 14. Photographie de *Capparis spinosa* L. famille des Capparidaceae (A : Plante entière, B : feuilles, C : fleurs et D : fruits), (Timedouine-Ain EL Kebira, Setif, Algérie).

4. Composition chimique

Capparis spinosa, qui était couramment utilisée comme plante médicinale, contient de nombreuses classes de substances bioactives, notamment des terpénoïdes, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des stéroïdes et des tocophérols et une large gamme de minéraux et d'oligo-éléments (Al-Snafi, 2015, Alqahtani *et al.*, 2023). *Capparis spinosa* est riche en flavonoïdes tels que le kaempférol, la rutine, la quercétine et les dérivés de la quercétine et de la choline. Le sélénium est aussi présent dans les câpres à des concentrations élevées par rapport à d'autres produits végétaux (Nabavi *et al.*, 2016 ; Yu *et al.*, 2017 ; Alqahtani *et al.*, 2023). Les composés identifiés dans les différentes parties de *Capparis spinosa* les plus importants sont les dérivés de la quercétine, du kaempférol et de l'isorhamnétine, en plus des dérivés de la myricétine, de l'ériodictyol, de la cirsimaritrine et de la gallocatéchine (Shahrajabian *et al.*, 2021). Parmi les différents alcaloïdes isolés à ce jour à partir de *Capparis spinosa*, on trouve le nouvel acide tétrahydroquinoléique provenant des tiges et des fruits de la plante (Zhang *et al.*, 2014) et la capparisine provenant des fruits (Yang *et al.*, 2010). Les *Capparidaceae* sont une famille étroitement apparentée aux *Brassicaceae* (Cruciferae) ou famille de la moutarde, qui contient de grandes quantités de glucosinolates (Mazarei *et al.*, 2017). Le principal glucosinolate est la glucocapérine (Shahrajabian *et al.*, 2021). L'huile de graines de *Capparis spinosa* est riche aussi en lipides insaturés bioactifs tels que l'acide cis-vaccénique. Toutes ces biomolécules jouent un rôle bénéfique dans la lutte contre les maladies et peuvent être utilisées dans les industries pharmaceutiques et des produits de soins personnels (Tlili *et al.*, 2015).

5. Usage traditionnel et activités biologiques

Capparis spinosa est utilisé depuis des siècles dans la médecine traditionnelle à base de plantes. Les racines, les fruits et l'écorce de la plante sont utilisés pour leurs vertus diurétiques, toniques, contre le paludisme et les maladies articulaires (Fadili *et al.*, 2017). La médecine traditionnelle

arabe recommande les feuilles, les racines et les bourgeons pour traiter différentes maladies humaines telles que les maladies de la rate, les problèmes gastriques, les maladies de la peau, les maux d'oreille et les maladies rénales ainsi que les maladies hépatiques (Nabavi *et al.*, 2016). En Chine, *Capparis spinosa* est utilisé pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde et de la goutte (Yu *et al.*, 2017 ; Zhang et Ma, 2018). La décoction de cette plante serait efficace pour nettoyer les yeux, traiter les infections oculaires et prévenir la cataracte (Rahnavard et Razavi, 2017). L'écorce de racine est utilisée comme antidiarrhéique et pour traiter les hémorroïdes (Al-Snafi, 2015 ; Shahrajabian *et al.*, 2021). Les boutons floraux et les fruits mûrs salés et marinés sont souvent utilisés comme assaisonnement ou garniture (Yu *et al.*, 2017).

Plusieurs études ont confirmé l'utilisation traditionnelle de *Capparis spinosa*. En effet, plusieurs recherches ont montré que l'extrait de *C. spinosa* présentait une activité antihyperglycémique et un effet anti-obésité significatifs (Selfayan et Namjooyan, 2016 ; Eddouks *et al.*, 2017). L'extrait de fruit de câpre serait associé à une amélioration des paramètres lipidiques plasmatiques, une diminution du taux de triglycérides ayant été observée chez des patients diabétiques de type 2 (Fallah Huseini *et al.*, 2013). Aghel *et al.* (2007) et Aichour *et al.* (2018) ont montré que les extraits de *C. spinosa* offrent une protection significative contre les lésions hépatiques induites. Une étude menée par Benzidane *et al.* (2013) a montré que les extraits aqueux des feuilles de *C. spinosa* peuvent avoir une action broncho-constrictrice. Il a été constaté que l'extrait méthanolique de certaines parties de *C. spinosa* réduisait la croissance des bactéries, ce qui permet d'utiliser cette plante comme agent antibactérien naturel (Gull *et al.*, 2015). *C. spinosa* a également un effet antioxydant en piégeant les radicaux libres (Baghiani *et al.*, 2012) et constitue, selon Tlili *et al.* (2017), une source de bio-antioxydants ayant des effets néphroprotecteurs et hépatoprotecteurs. Des études ont confirmé l'effet anti-inflammatoire de l'extrait de bourgeons et de feuilles de *C. spinosa* grâce au contrôle de l'expression des gènes des cytokines et à l'inhibition du processus inflammatoire par la modulation de la libération des médiateurs pro-inflammatoires (Moutia *et al.*, 2016 ; Kernouf *et al.*, 2018). Feng *et al.* (2011) ont

montré que le traitement de rats atteints d'arthrite adjuvante avec *C. spinosa* réduisait le gonflement des tissus et diminuait l'œdème au niveau des chevilles des rats, démontrant ainsi un effet antiarthritique. D'autre part, El Azhary *et al.* (2017) ont fourni des preuves supplémentaires que *C. spinosa* possède un effet anti-inflammatoire. Ils ont rapporté que cette plante régule l'inflammation induite *in vivo* chez la souris, induisant une diminution significative de l'infiltration des cellules immunitaires, de la vasodilatation et de l'épaisseur du derme au niveau du site inflammatoire.

Très récemment d'autres études ont confirmé l'effet anti-inflammatoire de *C. spinosa*, ils ont démontré que le traitement des rats arthritiques par l'extrait éthanolique des racines a réussi dans la diminution de l'œdème des pattes provoqué par l'ACF (Jalebawi et Chyad, 2022 ; Hajimehdipoor *et al.*, 2024).

Etude expérimentale

CHAPITRE I :
MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

La plante médicinale *Capparis spinosa* a été collectée à la fin du mois de juin 2014 dans la région d'Aïn El Kebira, Wilaya de Sétif (Nord-Est de l'Algérie). Elle a été identifiée par Dr. Wafa Nouioua, docteur à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Sétif 1. Les différentes parties (feuilles, tiges et fruits) ont été séparées, lavées et séchées à l'air libre à l'obscurité pendant au moins deux semaines (ou plus pour les fruits). Chaque partie a été réduite en poudre à l'aide d'un broyeur électrique et conservée dans des sachets en papier bien fermés jusqu'au moment de l'extraction.

1.2. Animaux

Les expériences de cette étude ont été réalisées sur des souris suisses albinos adultes mâles et femelles pesant 20-30 g et des rats Wistar femelles pesant 150-200 g. Les animaux ont été obtenus auprès de l'Institut Pasteur d'Algérie, Alger et hébergés pendant sept jours dans des cages en plastique dans des conditions de laboratoire normales (cycle lumière/obscurité de 12 h avec accès libre à la nourriture et à l'eau). Ils ont été répartis en groupes de six animaux par cage dont les souris ont été utilisées pour évaluer in vivo l'activité anti-inflammatoire aigue des extraits de *Capparis spinosa*. Tandis que les rats ont été utilisés pour évaluer la toxicité de la plante, évaluer l'activité anti-inflammatoire chronique (l'arthrite) provoqué par l'adjuvant complet de Freund et pour tester aussi l'activité anti-inflammatoire aigue des extraits de cette plante dans le modèle de l'œdème de la patte provoqué par la carragénine. Les expériences ont été menées dans le strict respect des directives internationales pour l'évaluation de la sécurité et de l'efficacité des plantes médicinales (OCDE, 2008).

2. Méthodes

2.1. Préparation des extraits méthanoliques

Les extraits méthanoliques ont été préparés selon Arrar *et al.* (2013) avec de légères modifications. La poudre de chaque partie (100 g) a été mise en macération avec 1000 ml de méthanol à température ambiante pendant sept jours avec agitation intermittente. La macération a été répétée deux fois avec le résidu de la poudre puis l'extrait a ensuite été filtré. Les filtrats des deux extractions ont été recueillis et le méthanol a été éliminé par évaporation rotative à 40°C. Le résidu de l'évaporation de chaque partie de la plante a été séché dans des boîtes de pétrie dans l'étuve à 40°C. Les extraits bruts obtenus sont conservés dans des flacons opaques bien fermés à 4°C jusqu'au moment d'utilisation.

2.2. Dosage des polyphénols

La teneur totale en polyphénols a été estimée par la méthode de folin-ciocalteu (Amraoui *et al.*, 2019). Les extraits méthanoliques (0,1 ml) de chaque partie étudiée de *Capparis spinosa* (feuilles, tiges et fruits) ont été mélangés avec 0,5 ml de réactif de folin-ciocalteu dilué au 1:10 dans l'eau distillée. Après 4 minutes, 0,4 ml de solution de carbonate de sodium (75 g/L) ont été ajoutés. Le mélange a été agité au vortex et incubé pendant 90 minutes à température ambiante dans l'obscurité et l'absorbance a été mesurée immédiatement à 765 nm.

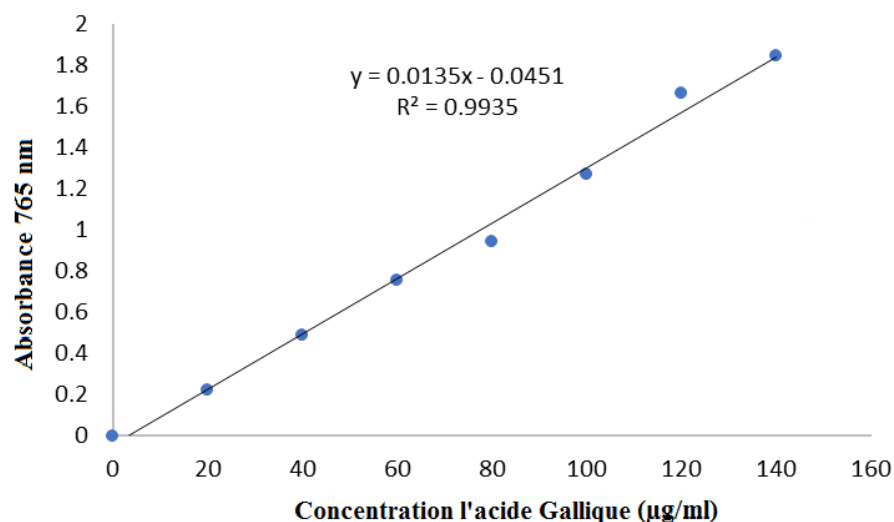


Figure 15. Droite standard de l'acide gallique, utilisée pour le dosage des polyphénols.

L'acide gallique a été utilisé à des concentrations croissantes (20-140 µg/ml) pour réaliser l'étalonnage de la courbe standard (**Figure 15**). La teneur en polyphénols a été exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique /mg d'extrait sec (µg EqAG/ mg extrait).

2.3. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes de chaque extrait ont été déterminées par la méthode colorimétrique adoptée par Mayouf *et al.* (2019) en utilisant le réactif de chlorure d'aluminium (AlCl_3). Brièvement, 0,5 ml de chaque échantillon ont été ajoutés à un volume égal de solution d' AlCl_3 (2 % dans le méthanol). L'étalon utilisé pour la courbe d'étalonnage (**figure 16**) est la quercétine à différentes concentrations (2,5-40 µg/ml). Après agitation des tubes au vortex et incubation pendant 10 minutes dans l'obscurité, l'absorbance de chaque échantillon a été lue à 430 nm et la teneur en flavonoïdes a été exprimée en µg d'équivalent quercétine /mg d'extrait sec (µgEqQ/ mg extrait).

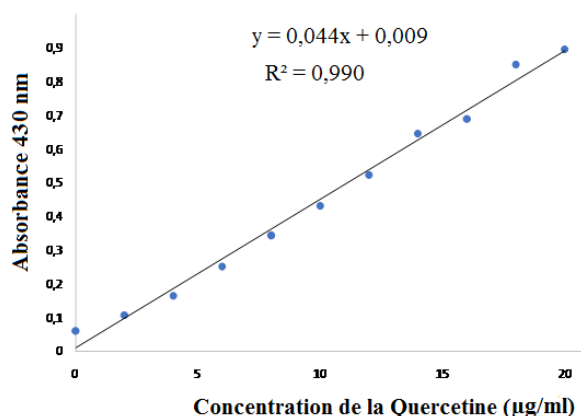


Figure 16. Droite standard de la quercétine utilisée pour le dosage des flavonoïdes.

2.4. Dosage des tannins

La méthode décrite par Karbab *et al.* (2020) a été suivie pour estimer la teneur en tanins. Cette méthode est basée sur la caractéristique de précipitation de l'hémoglobine par les tannins. Pour cela un certain volume du sang bovin a été récupéré de l'abattoir la veille de l'expérience, hémolysé par l'ajout de l'eau distillée pour obtenir une absorbance de 1.6 et conservé à 4°C. Le lendemain, 1ml de chaque extrait à différentes concentrations (5, 2,5, 1,25 mg/ml) a été mélangé avec un volume égal de sang hémolysé. Après 20 min d'incubation à température ambiante, le mélange a été centrifugé à 4000 rpm, 4°C pendant 10 min. Un volume de 1ml d'acide tannique (100-600 µg/ml) a également été mélangé avec 1ml de sang hémolysé pour calibrer la courbe standard (**figure 17**). L'absorbance du surnageant résultant a été mesurée à 576 nm et la teneur en tanins a été exprimée en µg d'équivalent d'acide tannique /mg d'extrait sec (µg EqAT/ mg extrait).

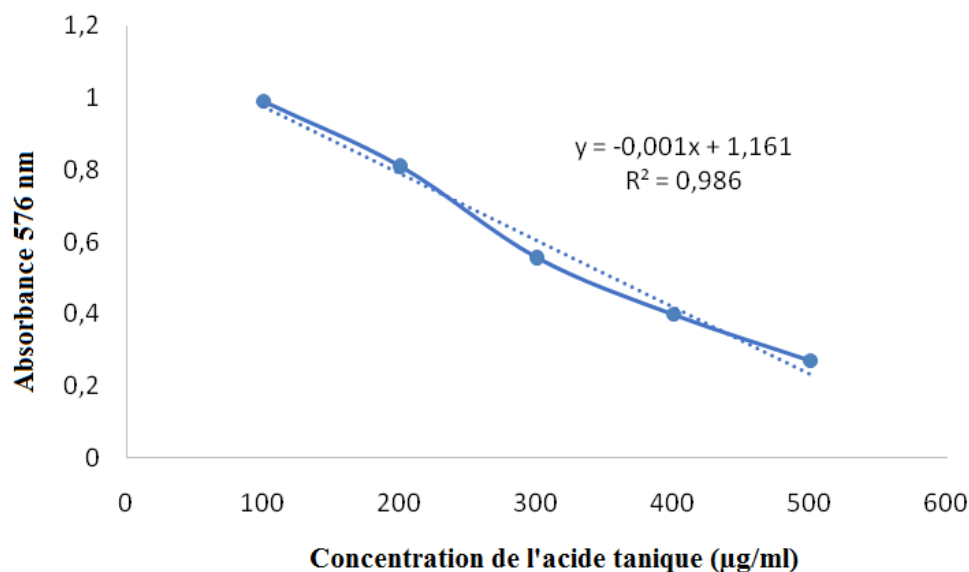


Figure17. Droite standard de l'acide tannique utilisée pour le dosage des tannins.

2.5. Etude de l'activité antioxydante *in vitro*

2.5.1. Effet scavenger du radical libre DPPH[•]

L'activité de piégeage des radicaux libres des extraits étudiés de *Capparis spinosa* a été mesurée par la diminution de l'absorbance de la solution de 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) selon Baghiani *et al.* (2012) avec une légère modification. Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait a été mélangé avec 1250 µl de solution de DPPH[•] (0,004 % dans le méthanol). Après une incubation de 30 minutes dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance a été lue à 517 nm. La quercétine a été utilisée comme control positif. Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH[•] par la plante a été calculé par l'équation suivante $I \% = 100 \times (A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}) / A \text{ blanc}$, où A blanc est l'absorbance du contrôle qui contient tous les réactifs sans les extraits testés, et A échantillon est l'absorbance des extraits testés. La concentration des extraits qui fournit 50 % d'inhibition (IC₅₀) du radical a été calculée à partir du graphique du % d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait.

2.5.2. Effet inhibiteur de l'oxydation de β -carotène/acide linoléique

La capacité antioxydante a été déterminée en mesurant l'inhibition des hydroperoxydes de diène résultant de l'oxydation de l'acide linoléique par les extraits de *Capparis spinosa* selon Arrar *et al.*, 2013). Une émulsion mère du mélange β -carotène/acide linoléique a été préparée comme suit: 0,5 mg de β -carotène a été dissous dans 1 ml de chloroforme, puis 25 μ l d'acide linoléique et 200 mg de tween 40 ont été ajoutés et une agitation manuelle a été effectuée. Le chloroforme a été complètement évaporé à l'aide d'une évaporation rotative à 40°C, puis 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène (30 min, 100 ml/min) ont été ajoutés et une agitation vigoureuse a été appliquée pour former l'émulsion. En parallèle une émulsion blanche contient tous les réactifs et dépourvue de β -carotène a été préparée pour être utilisée dans la préparation des blancs. Pour effectuer ce test et évaluer la capacité des extraits à inhiber le blanchissement de β -carotène, 500 μ l de chaque extrait à 2mg/ml ont été ajoutés à 2500 μ l du mélange réactionnel et le système d'émulsion a été incubé jusqu'à 48 h dans l'obscurité à température ambiante. Les échantillons de contrôle (2mg/ml) n'ont reçu que l'émulsion blanche et les extraits étudiés. Le même protocole a été répété avec l'antioxydant synthétique BHT considéré comme contrôle positif alors que le control négatif contient uniquement 350 μ l de méthanol ou d'eau distillée. La cinétique de l'oxydation est suivie en mesurant l'absorbance des tubes à 490 nm après 0h, 30 min, 1, 2, 3, 4, 5, 24 et 48h d'incubation. L'activité antioxydante (AA%) a été exprimée en pourcentage comme le taux de blanchiment du β -carotène, et calculée comme suit (Rezzagui *et al.*, 2020): $AA \% = 100 \times (At \text{ Extrait} / At \text{ BHT})$, où At Extrait : absorbance en présence de l'extrait à un moment donné, At BHT: absorbance en présence de BHT au même moment.

2.5.3. Le pouvoir réducteur

La capacité de réduction ferrique de l'extrait de *Capparis spinosa* a été évaluée par la méthode décrite par Bouaziz *et al.* (2015). Pour ce test, 1ml de chaque extrait à différentes concentrations (0-100 μ g/ml) a été ajouté à 2,5 ml de tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 ml de

ferricyanure de potassium à 1%. Le mélange a été incubé dans un bain marie à 50°C pendant 20 minutes pour réduire le ferricyanure en ferrocyanure, puis 2,5 ml d'acide trichloracétique (10 %) ont été ajoutés au mélange pour stopper la réaction et une centrifugation a été appliquée à 3000 rpm pendant 20 minutes. Enfin, 2,5 ml du surnageant ont été mélangés à 2,5 ml d'eau distillée et 500 µl de chlorure ferrique à 0,1%, et l'absorbance a été mesurée à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique une forte puissance de réduction. Les résultats ont été présentés comme EC 50 qui correspond à la concentration efficace pour obtenir une absorbance de 0,5. Le BHT a été utilisé comme control positif.

2.5.4. Effet scavenger du radical cathionique (ABTS^{•+})

L'activité de piégeage du radical 3 éthylbenzothiazoline-6-sulphonique (ABTS^{•+}) a été évaluée selon la méthode décrite par Mayouf *et al.* (2019) basée sur la décoloration de ce radical. Le radical cationique ABTS^{•+} a été produit en dissolvant l'ABTS dans l'eau distillée jusqu'à une concentration de 7 mM et en le laissant réagir avec 2,45 mM de persulfate de potassium (K₂SO₅), le mélange a été laissé sous agitation à température ambiante dans l'obscurité pendant une nuit (12 à 16 h) avant d'être utilisé. Ensuite, la solution ABTS^{•+} a été diluée au moment d'utilisation avec du méthanol et équilibrée pour obtenir une absorbance de $0,7 \pm 0,02$ à 734 nm. Un ml de cette solution a été mélangé avec 50 µl d'extraits de différentes concentrations (0-50 µg/ml) pour évaluer l'activité de piégeage. Le BHT a été utilisé comme control positif. Après 30 minutes d'incubation dans l'obscurité, l'absorbance a été lue à 734 nm et l'activité antioxydante a été calculée en pourcentage comme suit : Activité de piégeage ABTS (%) = $100 \times (A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{blanc}}$, où A blanc est l'absorbance en absence de l'échantillon extrait ou le BHT, A échantillon est l'absorbance en présence de l'extrait ou le BHT. La concentration des extraits qui donne 50% d'inhibition a été calculée.

2.6. Essai de toxicité aiguë

L'essai de toxicité aiguë a été réalisé sur des rats adultes femelles conformément aux lignes directrices de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE, 2008). Les animaux ont été divisés en sept groupes de poids homogène de cinq rats chacun et ont passé la nuit à jeun avant l'expérience. Les groupes I, II et III ont été désignés pour tester les extraits méthanoliques de feuilles, de tiges et de fruits de *Capparis spinosa* respectivement, tandis que le quatrième groupe a servi de contrôle. Le premier animal reçoit l'extrait en une seule dose de 2000 mg/kg de poids corporel par voie orale. Les symptômes de toxicité (comportement, changements de poids corporel, changements au niveau de la peau et du pelage, tremblements, convulsions, salivation, diarrhée, léthargie, sommeil et coma) et la mortalité ont été observés avec une attention particulière dans chaque groupe pendant les quatre premières heures, puis périodiquement jusqu'à 24 heures. Si l'animal survivait après 24 heures, les quatre autres animaux recevaient la même dose et étaient observés quotidiennement pendant 14 jours pour tout signe de toxicité et si une mort tardive était détectée, elle devait être comptée comme les autres morts. La demi-dose létale (DL50) est supérieure à 2000 mg/kg si trois animaux ou plus survivent. La même expérience a été répétée avec d'autres groupes d'animaux pour tester une autre dose de 5000 mg/kg des mêmes extraits, afin de confirmer la non-toxicité de la plante.

2.7. Etude de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*

2.7.1. Model de l'œdème de l'oreille induit par le xylène

L'activité anti-inflammatoire des extraits méthanoliques de *Capparis spinosa* a été évaluée *in vivo* par la réduction de l'œdème de l'oreille droite induit par le xylène chez les souris selon la méthode d'Igbe *et al.* (2010). Les souris ont été divisées en huit groupes égaux avec six (n=6) animaux, affamées pendant la nuit précédant l'expérience et n'ont reçu que de l'eau. Le groupe I considéré comme un contrôle négatif (N-traité), n'a reçu aucun traitement à l'exception d'un

gavage d'eau distillée (10 ml/kg). Les groupes II et III, IV et V, VI et VII ont été traités avec deux doses (300 mg/kg et 600 mg/kg) de l'extrait méthanolique de la feuille, de la tige et du fruit respectivement. Le groupe contrôle positif VIII a reçu 50 mg/kg d'indométacine. Une heure plus tard, 0,03 ml de xylène a été appliqué sur la surface interne de l'oreille droite de chaque groupe pour induire un œdème, l'oreille gauche étant considérée comme témoin. Après une heure d'application de xylène, les deux oreilles de l'animal de chaque groupe ont été mesurées à l'aide d'un pied à coulisse digital (Karim *et al.*, 2019). La différence entre l'oreille droite et l'oreille gauche a été déterminée pour chaque groupe et l'activité anti-inflammatoire a été mesurée comme le pourcentage d'inhibition de l'œdème chez les souris traitées par rapport au contrôle négatif selon la relation suivante : $I\% = 100 \times (V_c - V_t) / V_c$ où V_c : différence de taille de l'oreille dans le contrôle négatif et V_t : différence de taille de l'oreille dans le groupe traité.

2.7.2. Model de l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton

Le test de l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton a été réalisé selon la méthode de Guemmaz *et al* (2020). Les souris ont été réparties en huit groupes de six animaux chacun, et ont reçu par voie orale deux doses 300 et 600 mg/kg d'extraits (groupe I-VI), 50 mg/kg d'indométacine (contrôle positif, group VII) et de l'eau distillée (contrôle négatif, group VIII). Une heure plus tard, l'inflammation a été induite par l'application unique de 20 µl d'une solution acétone-eau (1:1) contenant 80 µg d'huile de croton comme agent inflammatoire sur la surface interne de l'oreille droite de chaque souris. L'oreille gauche a été considérée comme un contrôle où 20 µl d'acétone (pour éviter que le véhicule n'interfère avec les résultats) ont été appliqués. L'épaisseur des oreilles droite et gauche a été mesurée avant et après 6 heures d'induction de l'inflammation par l'application de l'huile de croton à l'aide d'un pied à coulisse digital. L'œdème a été déterminé par la différence de taille entre les deux oreilles et exprimé comme une augmentation du gonflement de l'oreille (Igbe *et al.*, 2010). Le pourcentage d'inhibition de l'œdème chez les souris traitées par rapport au contrôle a été calculé selon la formule utilisée pour le modèle précédent.

2.7.3. Modèle de l'induction de l'œdème de la patte induit par la carragénine

Pour cette étude, des rats adultes femelles ont été divisés en huit groupes de six rats chacun. Le groupe I a reçu le véhicule (l'eau) et a servi comme contrôle négatif (N-traité). Les groupes expérimentaux II-VII ont reçu les extraits méthanoliques de feuilles, de tiges et de fruits à deux doses différentes (300, 600 mg/kg), tandis que les animaux du groupe VIII qui a servi comme contrôle positif, ont reçu 25 mg /kg de Diclofenac. Après une heure d'administration orale des substances, une inflammation aiguë est induite dans chaque groupe par l'injection sous plantaire de 0,1 ml de carragénine 1% (w/v) fraîchement préparé dans du NaCl 0,9% dans la patte arrière droite. L'épaisseur de la patte a été mesurée initialement avant l'injection de la carragénine (0 h) et 1, 2, 3, 4, 5 et 6 h après l'injection, par un pied à coulisse digital. L'inflammation a été calculée comme l'augmentation du gonflement de la patte droite après traitement à la carragénine soustraite de la taille basale de la même patte avant l'injection. Le pourcentage d'inhibition de l'œdème a été déterminé en comparant avec le groupe contrôle négatif en utilisant l'équation suivante : $I\% = [(V_t - V_0) \text{ contrôle négatif} - (V_t - V_0) \text{ traité}] / (V_t - V_0) \text{ contrôle négatif} \times 100$, où V_0 : épaisseur de la patte à T_0 , V_t : épaisseur de la patte au temps T .

2.7.4. Modèle de l'arthrite rhumatoïde induite par l'adjuvant complet de Freund

Le modèle d'arthrite rhumatoïde a été induit en utilisant l'adjuvant complet de Freund (ACF) selon la méthode décrite par Amraoui *et al.* (2019) pour but d'évaluer l'effet de *Capparis spinosa* sur l'inflammation chronique. L'inflammation des articulations a été induite chez des rats femelles pesant 150-225 g, par une injection unique de 100 µl de l'ACF par voie sous cutanée dans la patte droite de chaque rat sauf les rats du groupe sain qui ont été utilisés comme témoins. Les rats ont été anesthésiés par inhalation légère d'éther diéthylique durant l'injection de l'adjuvant. Une seule dose de 300 mg/kg de chaque extrait a été utilisée pour évaluer l'effet préventif et thérapeutique de la plante dans ce modèle d'inflammation. Pour les deux études préventive et thérapeutique, les animaux ont été divisés en 8 groupes de six rats chacun.

2.7.4.1. Etude préventive

Dans cette étude, l'un des groupes (groupe I) a été utilisé comme témoin dont les rats sont sains et n'ont reçu que l'eau distillée par voie orale, tandis que les rats du groupe II ont reçu une injection de l'ACF et ne sont pas traités à l'exception du gavage de l'eau distillée pendant 21 jours ; c'est le groupe du control négatif (N-traité). Le groupe III a été utilisé comme control positif dont les animaux de ce groupe ont reçu une dose journalière de 3 mg/kg de Diclofenac (voie orale) pendant une période de 21 jours (une heure avant l'induction de l'arthrite rhumatoïde le jour 0 jusqu'à la fin de l'étude J21). Les deux groupes restants IV et V ont été utilisés pour tester l'effet préventif de l'extrait méthanolique de la feuille et du fruit de *Capparis spinosa* (ACF+300 mg/kg d'extrait à partir du J0 jusqu'à J21) par voie orale.

Les rats ont été suivis quotidiennement pour détecter l'apparition d'arthrite et sacrifiés le 21^{ème} jour par une dislocation cervicale sous une anesthésie par l'éther diéthylique (Kuncha *et al.*, 2014). Le sang, la rate et les pattes ont été prélevées en vue d'un examen plus approfondi. Durant cette étude, l'inflammation a été contrôlée par l'évaluation de plusieurs paramètres cliniques à des jours différents de l'expérience au niveau de l'animalerie (J3, J7, J10, J14, J17 et J21) tel que le poids corporel des rats, l'épaisseur de l'œdème de la patte (afin de calculer le taux de gonflement et le taux de l'inhibition de l'œdème) et le score arthritique. Des paramètres sériques (biochimiques) ont été testés également au niveau du laboratoire de Biochimie Université Setif 1, tel que le dosage du Malondialdehyde (MDA) et du Monoxyde d'azote (NO) plasmatique et l'estimation de l'activité de la catalase. Une étude histologique des pattes a été également effectuée au niveau de laboratoire d'Anapath, faculté de médecine, Université de Béjaia.

2.7.4.2. Etude thérapeutique

L'évaluation de l'effet thérapeutique de la feuille et du fruit de *Capparis spinosa* (groupe IV et V) sur ce modèle d'arthrite a été effectué en comparant les résultats de ces deux groupes avec

ceux des trois groupes suivants ; le témoin (groupe I), le control négatif (groupes II) et le control positif (groupe III). Les animaux ont reçu la même dose journalière des extraits (300 mg/kg d'EMF et d'EMFr) et de Diclofenac (3mg/kg) par voie orale mais à partir du jour 10 de l'injection de l'ACF (Banji *et al.*, 2011 ; Di Paola et Cuzzocrea, 2008 ; Cascao *et al.*, 2012).

Le suivi quotidien des animaux durant les 21 jours, l'évaluation des paramètres cliniques ainsi que les tests sériques ont été effectués de la même manière que celle de l'étude préventive.

2.7.4.3. Paramètres cliniques

a) Mesure de l'épaisseur de la patte

Pour suivre l'évolution de l'inflammation, le diamètre d'œdème de la patte arrière droite de tous les animaux a été mesuré juste avant l'injection de l'ACF le jour 0 et ensuite à différents intervalles (tous les 3 ou 4 jours J0, J3, J7, J10, J14, J17, J21) en utilisant un pied à coulisse digital. Le changement de l'épaisseur d'œdème a été déterminé en mesurant la différence entre l'épaisseur de la patte à un temps donné et l'épaisseur initial, le pourcentage de gonflement a été calculé selon la formule suivante : Gonflement de la patte (%) = $100 \times (E_t - E_{t0}) / E_{t0}$, où E_{t0} est l'épaisseur de la patte au temps T0 avant l'induction de l'arthrite et E_t l'épaisseur de la patte à un temps donné après l'induction de l'arthrite.

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème chez les groupes traités par les différentes substances (Diclofenac ou extraits) a été aussi calculé par rapport au groupe négatif non traité selon la formule suivante : Inhibition de l'œdème (%) = $100 \times (E_c - E_t) / E_c$, où E_c est la moyenne de l'épaisseur de l'œdème dans le groupe contrôle négatif et E_t est la moyenne de l'épaisseur de l'œdème dans le groupe traité.

b) Le score arthritique

Les pattes des rats ont été surveillées le J10, J14, J17 et J 21 (Banji *et al.*, 2011) pour détecter les

signes de l'inflammation articulaire en utilisant un système de score arthritique selon Kuncha *et al.* (2014) et Liu *et al.*, (2022). Les lésions sur chaque patte arrière ont été classées entre 0 et 4 en fonction de la gravité de l'érythème et de l'œdème et en fonction de la déformation des articulations, d'une sorte que chaque animale peut manifester 8 points, 4 points pour chaque patte arrière (chaque point représente un degré de gravité).

Le degré 0 : une patte normale sans aucun gonflement ou une rougeur.

Le degré 1 : gonflement légère au niveau des orteils (doigts).

Le degré 2 : érythème et gonflement moyen de la patte.

Le degré 3 : gonflement et inflammation importante de toute la patte.

Le degré 4 : déformation de l'articulation.

c) Le poids corporel et poids relatif de la rate

Le poids corporel des rats de tous les groupes expérimentaux a été mesuré pendant le premier jour juste avant l'induction de l'arthrite, et puis chaque 3 ou 4 jours jusqu'à la fin de l'expérience. Le gain du poids corporel (%) en comparant avec le poids corporel initial a été calculé selon la formule suivante :

Gain de poids corporel (%) = (Poids corporel à Jx - poids corporel initial) / poids corporel initial x 100.

Le poids relatif (%) de la rate (organe lymphoïde) a été également calculé par rapport au poids corporel du rat correspondant selon la formule suivante :

Poids relatif de la rate (%) = (poids de la rate / poids corporel) x 100.

2.7.4.4. Paramètres plasmatiques

Un prélèvement du sang a été effectué le dernier jour de l'expérimentation avant le sacrifice des animaux. Le sang a été prélevé par une ponction retro-orbitaire sous une anesthésie par l'éther

diéthylique, recueilli dans des tubes EDTA et conservé à 4°C avant être centrifugé à 3000 rpm pendant 10 mn. Le plasma obtenu par centrifugation est réparti ensuite en petits volumes dans des microtubes eppendorf et congelé à -20°C en vue du dosage du MDA, NO plasmatique et l'activité de la catalase.

Par ailleurs, 120 µl du sang prélevé de chaque rat a été ajoutés à 30 µl de sodium citrate (3,8 %), les tubes ont été mélangés manuellement et soigneusement en vue de déterminer la vitesse de sédimentation des globules rouge selon la méthode de Cai *et al.* (2006) avec quelques modifications. Ensuite le sang a été transféré par capillarité dans des tubes capillaires (dimension 1 mm x 100 mm) qui sont inclinés directement avec 45 °C, la mesure de la vitesse de sédimentation des globules rouges s'effectue après 20 mn par une règle et les résultats sont exprimés en mm.

a) Dosage du MDA plasmatique

L'évaluation de la peroxidation lipidique chez les différents groupes expérimentaux a été effectuée en mesurant le taux du MDA (malondialdéhyde) dans le plasma par la réaction de l'acide thiobarbiturique (TBA) selon la méthode décrite par Guemmez *et al.* (2018). Dans des microtubes eppendorfs contenant 125 µl de sérum, 125 µl d'acide trichloroacétique (TCA à 20%) et 250 µl de 0,67% de TBA ont été ajoutés. Ensuite le mélange réactionnel a été placé dans un bain marie à 95°C pendant 20 mn puis refroidi à l'aide d'un bain de glaçons pendant 10 mn avant ajouter 1 ml de n-butanol pour but d'extraire le complexe MDA-TBA. Après agitation rigoureuse au vortex, le mélange final a été centrifugé pendant 15 mn à 3000 rpm/mn et l'absorbance du surnageant a été mesurée à 532 nm. Le contenu en MDA est exprimé en nmol/ml de sérum et sa concentration est calculée en utilisant le coefficient d'extinction $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{Cm}^{-1}$.

b) Dosage du NO plasmatique

L'évaluation de la production du NO a été réalisée en mesurant le taux des ions nitrites (NO^-2) dans le sérum selon la méthode décrite par Abdelouhab *et al.* (2012) avec quelques modifications. Le dosage est réalisé à l'abri de la lumière, des aliquotes de 100 μl de plasma de chaque échantillon ont été mélangés avec 50 μl de griess contenant sulfanilamide ou griess B (1% dans 5% H_3PO_4 ou HCl) et 50 μl de griess A (0,1 % naphthylethylene diamine dihydrochloride dans l'eau distillée). 800 μl d'eau distillée sont ajoutées, un mélange au vortex et une incubation des tubes à l'obscurité ont été réalisés. L'absorbance des différents échantillons a été ensuite mesurée à 543 nm.

Une courbe d'étalonnage (**figure 18**) a été tracée (absorbance en fonction de la concentration) en utilisant différentes concentrations de la solution préparée par les ions nitrites (NaNO_2) pour calculer la concentration des ions nitrites en μM dans les différents échantillons étudiés.

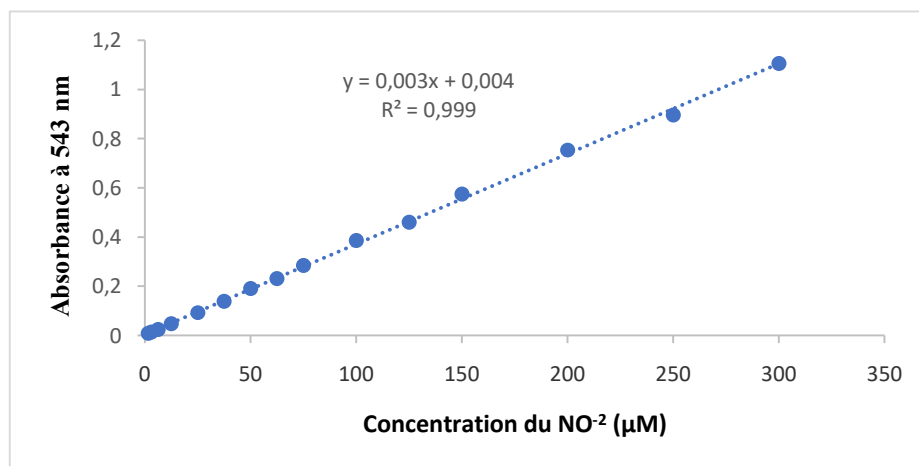


Figure 18. Droite standard des ions nitrites NO_2^- utilisée pour le dosage du NO plasmatique.

c) Estimation de l'activité de la catalase

L'estimation de l'activité de la catalase a été effectuée en suivant la cinétique de décomposition de H_2O_2 (19 mM dans le tampon PBS 50 mM, pH 7,4) selon la méthode décrite par Righi *et al.* (2021). Dans ce contexte, 17 μl de sérum de chaque échantillon a été dilués avec 1ml de tampon PBS contenant H_2O_2 . L'absorbance a été mesurée à 240 nm et l'activité de la catalase est exprimée en $\mu\text{mol}/\text{mn}$ en utilisant le coefficient d'extinction de l' H_2O_2 .

2.7.4.5. Etude histologique

La patte droite de chaque rat a été fixée dans 10 % du formol durant une période de 7 à 10 jours et puis décalcifiée dans une solution d'acide nitrique (HNO_3) à 15 % pendant une semaine. Durant cette étape de décalcification l'état de l'os est surveillé soigneusement en le piquant de temps en temps. La troisième étape consiste à déshydrater l'os pendant une nuit dans un automate de déshydratation (Leica), les pattes ont été passées de bain en bain d'éthanol (8 bains) à des concentrations croissantes puis dans deux bains de xylène et enfin dans deux bains de paraffine. Les tissus des pattes déshydratées ont été ensuite enrobés en blocs de paraffine pour donner une forme aux tissus (l'étape d'enrobage). L'étape suivante consiste à sectionner les blocs de tissus en paraffine préparés à 20 μm d'épaisseur à l'aide d'un microtome (la microtomie) pour dégrossir les tissus et enlever l'excès de paraffine. La dernière étape consiste à réaliser des coupes histologiques proprement-dites à 2 μm d'épaisseur, étaler ces coupes sur lames en verre et enfin déparaffinage à 76°C dans une étuve pendant une heure au minimum. Après séchage, les lames préparées sont colorées à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E) en vue d'une observation morphologique au microscope optique.

2.8. Etude statistique

Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de la moyenne de 3 répétitions $\pm$ écart-type (SD) pour les expériences réalisées in vitro et sous forme de moyenne $\pm$ écart-type moyen (SEM) pour les expériences réalisées in vivo (6 répétitions). Pour effectuer l'analyse statistique entre les groupes et tracer les courbes et les histogrammes graphiques, le logiciel Graphpad Prisme (V. 7.0) a été utilisé en appliquant le test One-Way ANOVA et Two-Way ANOVA. Le test de comparaison multiple de Tukey a été utilisé pour examiner les différences simples. Les différences sont considérées comme statistiquement significatives à une valeur de $p < 0,05$.

CHAPITRE II :

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Analyse phytochimique de *Capparis spinosa*

Depuis l'antiquité, l'homme a utilisé les plantes médicinales comme remèdes dans ses médications et actuellement, les plantes médicinales sont principalement utilisées pour préparer des médicaments qui traitent plusieurs maladies. Des études récentes ont révélé que les polyphénols présents dans ces plantes sont responsables de leurs propriétés bioactives et antioxydantes (Shad *et al.*, 2014, Dirar *et al.*, 2018). Les polyphénols ont démontré également des propriétés anti-inflammatoires significatives à la fois *in vivo* et *in vitro* (Li *et al.*, 2014). Il existe plusieurs techniques pour récupérer les métabolites phénoliques telle que l'extraction au soxhlet, la macération, la décoction, l'infusion, l'extraction assistée par ultrasons (Sharma *et al.*, 2008). La sélection du solvant organique peut affecter considérablement le rendement d'extraction et la bioactivité des métabolites secondaires cibles d'être extraites (Zhang *et al.*, 2022). Les polyphénols sont fréquemment extraits des matrices végétales à l'aide de solvants polaires tel que l'éthanol, le méthanol, l'acétone et l'éthyl d'acétate (Do *et al.*, 2014). Des études ont démontré que le méthanol est parmi les meilleurs solvants polaires utilisés et par conséquent l'extrait méthanolique contient un rendement élevé de composés phénoliques et une activité antioxydante plus élevée en comparant avec les autres solvants utilisés (Higazy et Ibrahim, 2012 ; Almousa *et al.*, 2022). Dans notre étude, l'extraction a été réalisée par macération des feuilles, des fruits et des tiges de *Capparis spinosa* dans du méthanol pur pendant une semaine selon Arrar *et al.* (2013), et pour augmenter le rendement d'extraction, la macération a été répétée une fois. L'extrait méthanolique des trois parties de *Capparis spinosa* (feuilles : EMF, tiges : EMT et fruits : EMFr) sont récupérées avec différents rendements (**Tableau 3**) dont le plus important est celui obtenu avec les feuilles (17,98 %) suivi par les fruits (11,75%) puis les tiges (7,38%). L'obtention de différents rendements peut être due à la nature et la quantité des métabolites secondaires extraits (Dirar *et al.*, 2018) et à la différence dans leur polarité (solubilité) vis-à-vis du solvant utilisé (Tiwari *et al.*, 2011).

Tableau 3. Rendement, teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes et en tanins des extraits de *Capparis spinosa*. Les valeurs sont des moyennes $\pm$ SD (n=3).

Extraits	Rendement (%)	Polyphenols (μg Eq AG/mg)	Flavonoïdes (μg EqQ/mg)	Tanins (μg EqAT/mg)
EMF	17,98	$57,37 \pm 0,90$	$31,34 \pm 9,15$	$275,11 \pm 2,51$
EMT	7,38	$27,06 \pm 0,73$	$17,69 \pm 11,39$	$217,12 \pm 73,93$
EMFr	11,75	$23,66 \pm 3,43$	$1,96 \pm 0,07$	$123,54 \pm 32,66$

La teneur en phénols, flavonoïdes et en tannins présents dans les extraits de *Capparis spinosa* sont présentées dans le **tableau 3** qui résume les résultats exprimés en μg d'équivalent d'acide gallique / mg extrait pour les polyphénols (μg Eq AG/mg), en μg d'équivalent de quercétine /mg d'extrait pour les flavonoïdes (μg EqQ/mg) et en μg d'équivalent d'acide tannique /mg d'extrait pour les tannins (μg EqAT/mg).

Les résultats montrent que l'EMF est significativement ($p < 0,0001$) plus riche en polyphénols ($57,37 \pm 0,9 \mu\text{g}$ Eq AG/mg) que l'EMT ($27,06 \pm 0,73 \mu\text{g}$ Eq AG/mg) et l'EMFr ($23,66 \pm 3,43 \mu\text{g}$ Eq AG/mg), mais aucune différence significative n'a été observée entre ces deux derniers extraits. L'EMF a montré également la teneur la plus élevée en flavonoïdes ($31,34 \pm 9,15 \mu\text{g}$ EqQ/mg) que l'EMT ($17,69 \pm 11,39 \mu\text{g}$ EqQ/mg) et l'EMFr ($1,96 \pm 0,07 \mu\text{g}$ EqQ/mg). Cependant, aucune distinction significative n'a été trouvée entre ces trois extraits. Nos résultats montrent que nos trois extraits (EMF, EMT et EMFr) sont riches en tanins ($275,11 \pm 2,51 \mu\text{g}$ Eq AT/mg, $217,125 \pm 73,93 \mu\text{g}$ Eq AT/mg et $123,54 \pm 32,66 \mu\text{g}$ Eq AT/mg, respectivement).

Les résultats ont montré que l'extrait des feuilles contient une teneur importante en polyphénols ce qui est en accord avec les résultats de Arrar *et al.* (2013) et Mohebbali *et al.* (2016) qui ont trouvé presque la même teneur en polyphénols quantifiée dans notre extrait ; $56,98 \pm 14,24 \mu\text{g}$ Eq AG/mg et $60,48 \pm 0,02 \mu\text{g}$ Eq AG/mg, respectivement. Une autre étude a été réalisée récemment par Beldi *et al.* (2022) pour évaluer la bioactivité et le contenu phénolique entre

différentes parties de *Capparis spinosa* (feuilles, tiges et racines) récoltés au stade de la floraison dans la commune Aftis, wilaya de Jijel. Ils ont trouvé que le contenu en composés phénoliques dans l'extrait méthanolique des feuilles est de $160,09 \pm 3,13 \mu\text{g Eq AG/mg}$ et dans l'extrait méthanolique des tiges est de $120,44 \pm 6,32 \mu\text{g Eq AG/mg}$. Ils ont quantifié aussi le contenu en flavonoïdes dans les feuilles et les tiges qui est de $74,11 \pm 1,19 \mu\text{g Eq Q/mg}$ et $37,70 \pm 1,14 \mu\text{g Eq Q/mg}$ respectivement. Toutes ces observations confirment que les polyphénols et les flavonoïdes sont concentrés dans les feuilles que les autres parties de la plante. Selon Meir *et al.* (1995), la présence d'acides phénoliques et de flavonoïdes dans les feuilles peut jouer un rôle important dans la protection contre les processus oxydatifs associés à la sénescence. Selon Beldi *et al.* (2022), la variation de la teneur en composés phénoliques entre les organes de la plante s'explique principalement par le rôle de ces composés. Les flavonoïdes jouent plusieurs fonctions dans les plantes comme la coloration et jouent un rôle essentiel dans l'absorption des radiations UV et donc interviennent dans les mécanismes de défense des plantes, ce qui peut expliquer aussi les niveaux élevés de ces composés dans les parties aériennes par rapport aux racines.

Mohebbi *et al.* (2016) ont aussi déterminé la teneur des polyphénols dans l'extrait des fruits de *Capparis spinosa* où leurs résultats étaient $35,74 \pm 74 \mu\text{g Eq Q/mg}$ d'extrait, une concentration proche de nos résultats $23,66 \pm 3,43 \mu\text{g Eq AG/mg}$. Arrar *et al.* (2013) ont déterminé aussi la concentration des flavonoïdes ($7,15 \pm 0,63 \mu\text{g Eq Q/mg}$) dans les fruits de *Capparis spinosa*, ils ont trouvé une concentration presque quatre fois plus élevée que la concentration de notre extrait ($1,96 \mu\text{g Eq Q/mg}$). Ces différences des résultats peuvent être expliquées par la région de la plante et les facteurs environnementaux qui peuvent avoir aussi un effet important. Selon Li *et al.* (2014), le degré de maturation de fruit constitue un autre facteur qui peut influencer le contenu en polyphénols et flavonoïdes. En effet l'extrait méthanolique de fruit de *Capparis spinosa* possède une teneur en polyphénols et flavonoïdes inférieure à celle trouvée par Karnouf *et al.* (2018), ($151,54 \mu\text{g Eq AG/mg}$ et $24,35 \mu\text{g Eq Q/mg}$, respectivement) qui ont quantifié ces composés dans les bourgeons floraux de *Capparis spinosa*. Ce qui est confirmé aussi par Arrar *et*

al. (2013), ils ont trouvé que la concentration des flavonoïdes dans les fleurs ($13,7 \pm 1,7 \mu\text{g Eq R/mg}$) est supérieure à celle trouvée dans les fruits ($1,1 \pm 1,3 \mu\text{g EqR/mg}$). Selon Grimalt *et al.* (2019), les polyphénols et les flavonoïdes abondants dans les câpres sont responsables de la résistance à la chaleur.

2. Activité antioxydante de *Capparis spinosa*

De nombreuses maladies chroniques sont dues aux radicaux libres induits par le stress et aux lésions oxydatives qui en résultent (Srivastava et Kumar, 2015). Selon Chandran et Abrahames (2020), les substances phytochimiques présentes dans les plantes notamment les polyphénols ont un large éventail de propriétés pharmacologiques dont la principale est leur capacité de piéger les radicaux libres, la raison pour laquelle les études de nos jours ont préféré d'évaluer les produits à base de plantes sous forme brute et ce qui justifie notre choix à utiliser l'extrait brut des différentes parties étudiées de la plante. Et comme les composés antioxydants peuvent agir par différents mécanismes, l'utilisation d'une seule méthode pour évaluer l'efficacité antioxydante de nouveaux composés est insuffisante (Huang *et al.*, 2005). Dans la présente étude, plusieurs tests *in vitro* ont été sélectionnés pour évaluer l'activité antioxydante de *Capparis spinosa* ; le test de DPPH $\cdot$ et d'ABTS $\cdot^+$ pour évaluer l'effet neutralisant des radicaux libres, le pouvoir réducteur et le test d'inhibition de l'oxydation de β -carotène.

2.1. Effet scavenger du radical libre DPPH $\cdot$

Dans ce test on a cherché un moyen pour neutraliser l'effet néfaste des radicaux libres sur le système biologique par le biais des trois extraits méthanoliques étudiés en utilisant le radical libre stable DPPH et calculer de ce fait l'IC₅₀ qui correspond à la concentration de l'extrait qui donne 50% d'effet neutralisant. En d'autres termes plus que l'extrait contient des composants antioxydants plus que l'IC₅₀ sera moindre (Abdolvahed Safarzaei *et al.*, 2023). Cette méthode a

été développée pour déterminer la capacité scavenger d'un antioxydant vers le radical libre dont l'électron impaire de l'atome d'azote présent dans le DPPH[•] est réduit en recevant un atome d'hydrogène de l'antioxydant en hydrazine correspondante (Kedare et Singh, 2011). Cette méthode est la plus couramment utilisée pour estimer l'activité antioxydante car elle est rapide, simple et économique (Muliasari *et al.*, 2023). L'activité antioxydante de l'échantillon (extrait) testé est proportionnelle à la perte du radical DPPH[•], ce dernier a une couleur violette qui se caractérise par une bande d'absorbance maximale à 516nm dans une solution d'éthanol en raison de son électron impair. Cette couleur change (se décolore) en une couleur jaune après la transformation (réduction) du radical DPPH[•] en une forme plus stable non radicalaire en présence de l'antioxydant (extrait) ; donneur de l'hydrogène (Molyneux, 2004 ; Kedare et Singh, 2011).

Les données présentées dans la **figure 19** montrent que l'EMF présente l'activité de piégeage de DPPH[•] la plus élevée avec une valeur d'IC₅₀ la plus basse $30,51 \pm 13,42$ µg/ml par rapport aux autres extraits, une valeur statistiquement (ns) proche de l'IC₅₀ de la quercétine ($3,63 \pm 13,42$ µg/ml) utilisée comme standard.

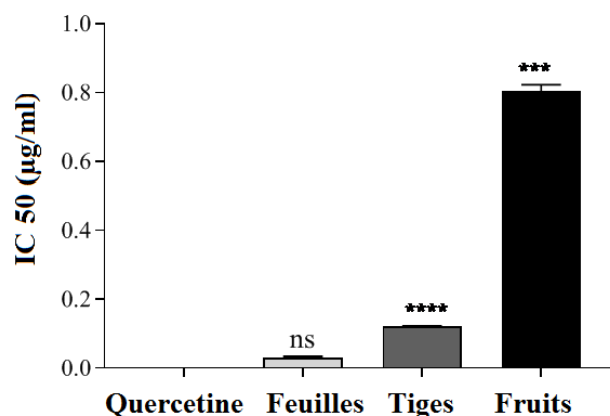


Figure 19. Valeur d'IC₅₀ (moyenne $\pm$ SD, n = 3) des extraits (EMF, EMT et EMFr) de l'activité de piégeage du radical DPPH, ns: pas de différence significative en comparant avec la quercétine utilisée comme référence, ***p < 0,001.

Cette valeur d'IC₅₀ est significativement inférieure que les autres valeurs obtenues pour les extraits EMFr ($804,31 \pm 32,61$ µg/ml) et EMT ($120,45 \pm 3,68$), (**tableau 4**).

Tableau 4 : L'activité antioxydante des extraits de *Capparis spinosa*. Les valeurs sont les moyennes $\pm$ SD (n=3). ND: n'est pas déterminé. *** $p < 0,001$; ns: pas de différence significative en comparant avec la quercétine et le BHT : hydroxytoluène butylé.

Echantillon	(IC ₅₀ , µg/ml)		(EC ₅₀ , µg/ml)	AA%
	DPPH	ABTS	Pouvoir réducteur	
EMF	30,51 $\pm$ 1,86 ^{ns}	11,93 $\pm$ 0,08 ^{***}	32,83 $\pm$ 0,57 ^{***}	91,06 $\pm$ 1,86 ^{ns}
EMT	120,45 $\pm$ 3,68 ^{***}	36,4 $\pm$ 0,13 ^{***}	95,74 $\pm$ 0,66	78,43 $\pm$ 1,78 ^{ns}
EMFr	804,31 $\pm$ 32,61 ^{***}	ND	95,23 $\pm$ 0,0	79,26 $\pm$ 2,88 ^{ns}
Quercetin	3,63 $\pm$ 0,054	-----	-----	-----
BHT	-----	1,4 $\pm$ 0,26	4,5 $\pm$ 0,5	98,98 $\pm$ 0,72

La **figure 20** montre que les trois extraits de *Capparis spinosa* possèdent un pourcentage de piégeage de DPPH $\cdot$ proportionnel à l'augmentation de la concentration des extraits (activité dose dépendante).

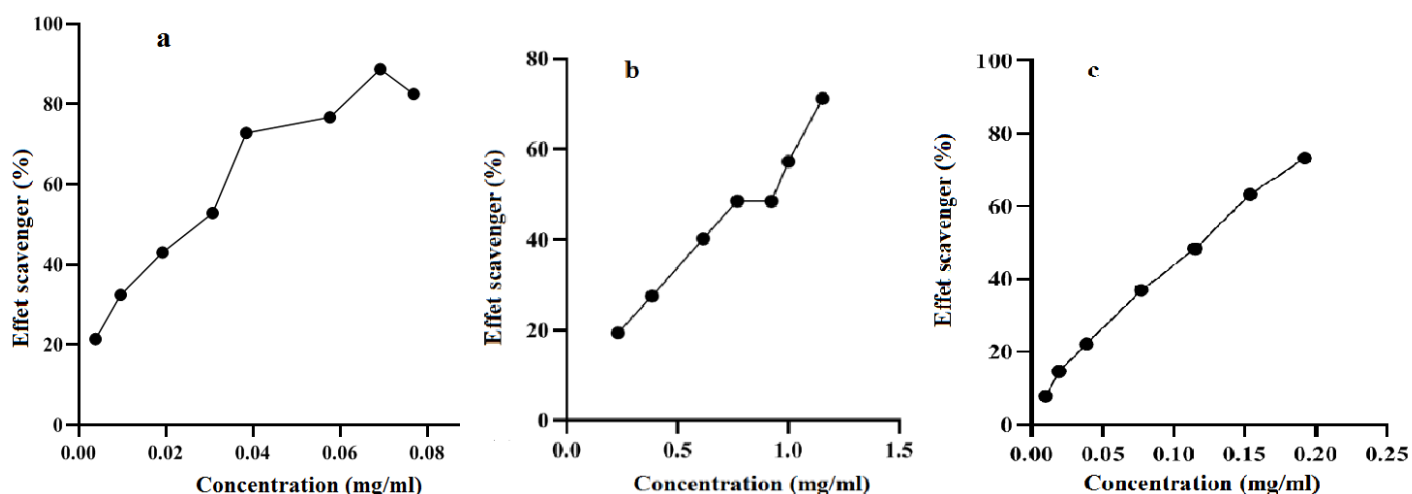


Figure 20. Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH $\cdot$ en fonction de la concentration des extraits méthanoliques de *Capparis spinosa*. a) EMF. b) EMFr. c) EMT.

Ces résultats concordent avec ceux d'Arrar *et al.* (2013) et de Tlili *et al.* (2017), ce qui peut s'expliquer par la présence de polyphénols en grande quantité dans les feuilles de *Capparis spinosa*. Ces explications ont également été confirmées par une étude précédente de Malencic *et al.* (2008) et une autre récente de Abdolvahed Safarzaei *et al.* (2023) qui ont montré que l'activité antioxydante augmentait proportionnellement avec la teneur en polyphénols, ils ont constaté qu'une relation linéaire entre les valeurs de DPPH et les polyphénols totaux et les tanins a été établie. Cette activité antioxydante qui caractérise les feuilles est démontrée aussi par les résultats de Tlili *et al.* (2017) dont ils ont trouvé une IC_{50} très proche ($43,031 \pm 1,24 \mu\text{g/ml}$) que nos résultats. Tandis qu'une autre étude réalisée par Kulisic-Bilusic *et al.* (2010) sur des huiles obtenues à partir des feuilles de câprier par hydrodistillation, n'a pas montrée une activité antioxydante significative par la méthode de DPPH. Dans une autre étude réalisée par Nadaroglu *et al.* (2009), il a été trouvé que les fruits de cette plante sont aussi des excellents scavenger de DPPH et possèdent de ce fait un pourcentage d'inhibition de 91,1% qui est supérieur de celui de BHT (87,4%). Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Meddour *et al.* (2013). Ils ont étudié un mélange de bourgeons à fleur, fleurs et fruits immatures récoltées des régions de la wilaya de Batna et Biskra. Ils ont démontré que l'extrait méthanolique a présenté l'activité anti-radicalaire la plus élevée avec un pourcentage d'inhibition de 78,34% et qui ne présente pas de différence significative de l'activité de standard utilisé. Ces résultats sont confirmés aussi par Rezzan *et al.* (2013) dont ils ont trouvé que l'effet scavenger de l'extrait méthanolique des fruits de *Capparis spinosa* est plus important que celui de BHT et qu'une concentration beaucoup plus faible ($0,32 \text{ mg/ml}$) a été nécessaire pour donner l' IC_{50} en comparant avec nos résultats ($32,61 \pm 0,80 \mu\text{g/ml}$). En 2015, Tlili *et al.* ont testé le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique des graines de *Capparis spinosa* collectées dans différentes localités de Tunisie. Ils ont trouvé une valeur d' IC_{50} ($3,5 \mu\text{g/ml}$) inférieures à celles du control positif BHT ($17,3 \mu\text{g/ml}$). Cela peut être attribué aux polyphénols présents dans les échantillons qui diffèrent considérablement, tout comme leurs capacités de piégeage. En revanche, Tagnaout *et al.* (2016) ont trouvé presque la

même concentration d'extrait méthanolique des fruit ($0,84 \pm 0,01\text{mg/ml}$) que nos résultats, nécessaire pour atteindre 50% d'effet inhibiteur sur le DPPH $\cdot$. L'activité antioxydante des fruits de *Capparis spinosa* est principalement due à des composés solubles dans l'eau tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes (Nabavi *et al.*, 2016), les phénols totaux et les flavanols ce qui justifie l'utilisation massive de cette plante en tant qu'aliment et dans la médecine traditionnelle, ainsi que comme plante permettant d'obtenir des composés bioactifs pour l'industrie alimentaire (Grimalt *et al.*, 2019).

2.2. Effet inhibiteur du blanchissement de β -carotène/acide linoléique

Le test de beta carotène permet de connaître la capacité des extraits à inhiber le blanchissement de β -carotène-acide linoléique. Le mécanisme de blanchissement du β -carotène est médié par un radical libre (hydroperoxyde) formé lors de l'abstraction d'un atome d'hydrogène de l'un des groupes méthylène diallyliques de l'acide linoléique. Le radical généré attaque les molécules de β -carotène hautement insaturées. Comme les molécules de β -carotène perdent leurs doubles liaisons par oxydation, le composé perd son chromophore et sa couleur orange caractéristique qui peut être contrôlée par spectrophotométrie à 490 nm (Madhava Naidu *et al.*, 2011, Amamra *et al.*, 2018). La présence d'antioxydants dans les extraits minimiserait l'oxydation du β -carotène par les hydroperoxydes. Cet effet est dû à l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique ou au piégeage des radicaux hydroperoxydes formés lors de l'oxydation de l'acide linoléique (Amamra *et al.*, 2018).

La cinétique du blanchissement du β -carotène des trois extraits étudiés a été suivie pour évaluer la capacité antioxydante de nos extraits et représentée dans la **figure 21**. Le standard utilisé dans ce test est le BHT, tandis que le méthanol et l'eau ont été utilisés comme control négatif. On enregistre l'inhibition de l'oxydation après 30 mn, après chaque heure pendant les premières cinq heures, après 24 heures et finalement après 48 heures. A une concentration de 2 mg/ml, tous les

extraits ont empêché l'oxydation et le blanchissement du β -carotène pendant 48 heures. Après 24 heures d'incubation, l'activité inhibitrice de l'EMF atteint 80%, dépasse 50% pour EMFr et atteint presque 50% pour EMT. A la fin de l'essai cette activité reste importante presque pour les trois extraits étudiés ($67,79 \pm 6,44$ %, $41,43 \pm 7,97$ % et $31,90 \pm 6,44$ %, respectivement). Alors que, en absence d'extrait (méthanol ou eau seulement), l'activité inhibitrice du blanchissement a montré une diminution rapide à inférieure de 10 % à la cinquième heure et seulement 1-2% à la fin de l'essai. Comme l'indique le **tableau 4**, l'EMF a montré la plus forte activité antioxydante avec $91,06 \pm 1,86$ % d'inhibition de l'oxydation du β -carotène par rapport à l'antioxydant synthétique BHT ($98,98$ % C 0,72), suivi par le EMFr ($79,26 \pm 2,88$ %) et puis l'EMT ($78,43 \pm 1,78$).

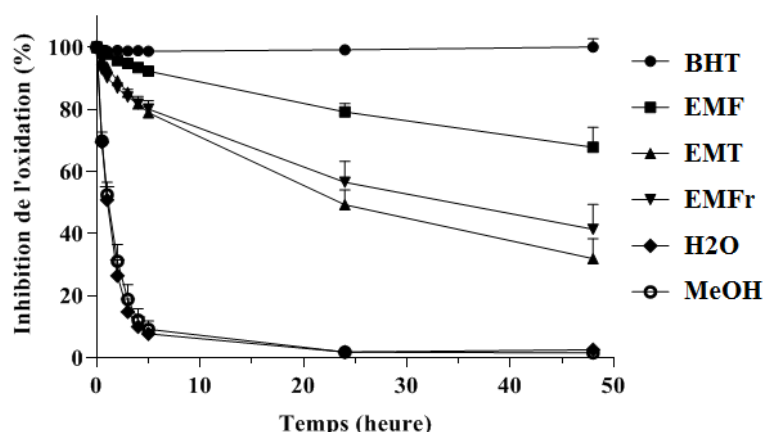


Figure 21. Cinétique de l'inhibition de l'oxydation de β -carotène-acide linoléique par les EMF, EMT et EMFr. Le BHT a été utilisé comme control positif et MeOH (Méthanol) et l'eau distillée comme control négatif. Les valeurs d'inhibition en % sont des moyennes $\pm$ SD, $n=3$.

Une comparaison entre l'activité inhibitrice des trois extraits étudiés à 24 heures (**figure 22**) en comparant avec le BHT utilisé comme control positif, l'eau et le méthanol utilisés comme control négatif confirme l'effet inhibiteur significatif ($P < 0,0001$) de l'EMF ($79,13 \pm 2,63$ %) par rapport à l'EMFr ($56,49 \pm 6,74$ %) et EMT ($49,3 \pm 4,7$ %). Tandis qu'aucune différence significative a été enregistrée entre ces deux dernier extraits (EMFr et EMT).

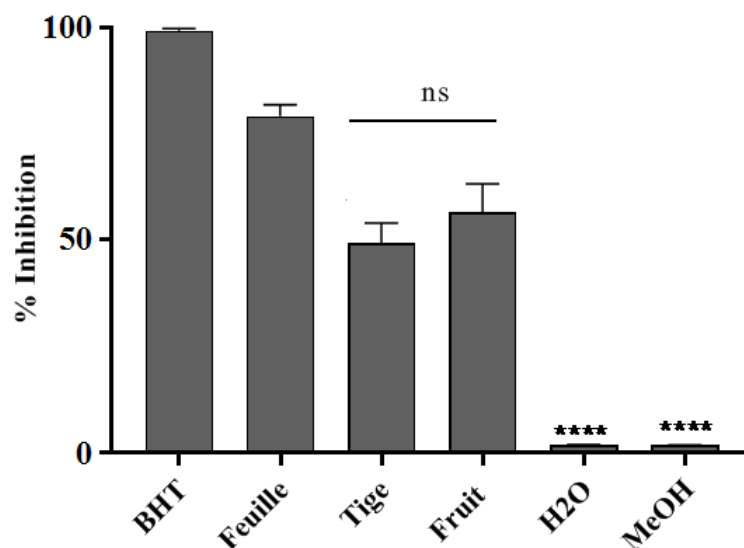


Figure 22. Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β -carotène-acide linoléique à 24 h par l'EMF, EMT et EMFr. MeOH : méthanol et BHT : hydroxytoluène butylé. Les valeurs sont moyennes $\pm$ SD, $n=3$. **** $p < 0,0001$.

Nos résultats ont montré que toutes les parties étudiées de *Capparis spinosa* ont inhibé le blanchiment du β -carotène à un degré élevé. Ces résultats concordent avec ceux de Kulisic-Bilusic *et al.* (2010), qui ont montré que les huiles essentielles obtenues à partir des feuilles de câprier présentaient une forte activité antioxydante (79-87 % d'inhibition du blanchiment du β -carotène à la concentration de 1g/L). Des études comparatives de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique entre différentes parties de *Capparis spinosa* (fleurs, feuilles, fruits et graines) réalisées par Arrar *et al.* (2013), ont démontré aussi par le test de β -carotène que les feuilles de cette plante possèdent la plus forte activité antioxydante après les fleurs. Ces résultats concordent aussi avec ceux démontrés par Beldi *et al.* (2022). Ils ont trouvé que les feuilles ont empêché de manière significative l'oxydation du β -carotène par rapport aux tiges avec des IC_{50} de $169,21 \pm 4,75 \mu\text{g/mL}$ et de $333,02 \pm 113,16 \mu\text{g/mL}$, respectivement.

La présence de substances chimiques physiologiquement actives, notamment les composés phénoliques qui varient en fonction de la diversité génétique et de la région où ils ont été cueillis pourrait expliquer la variabilité de l'activité antioxydante observée entre les échantillons (Almoussa *et al.*, 2022). En outre, les différences de résultats entre les tests sont presque certainement attribuables à la synergie et à l'interaction des molécules antioxydantes présentes dans le produit (Almoussa *et al.*, 2022). Des études antérieures ont montré qu'il existe une bonne corrélation entre les polyphénols et l'inhibition de l'oxydation (Meir *et al.*, 1995 ; Malencic *et al.*, 2008 ; Arrar *et al.*, 2013). Ces composés phénoliques sont capables d'exercer divers mécanismes antioxydants y compris l'activité de piégeage des radicaux hydroperoxydes libres grâce à leurs redox donneurs d'hydrogène (Senguttuvan *et al.*, 2014), la chélation des métaux de transition et la rupture de la chaîne hydrogène de soustraction lors de l'oxydation des lipides (Beldi *et al.*, 2022).

2.3. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur d'un extrait peut servir comme un indicateur important de son potentiel antioxydant. La présence d'un antioxydant dans l'extrait pourrait entraîner la réduction du complexe Fe^{3+} /cyanure ferrique à la forme ferreuse Fe^{2+} colorée (Duan *et al.*, 2007). La couleur jaune de la solution testée passe à différentes nuances de vert et de bleu en fonction du pouvoir réducteur de chaque composé, l'absorbance est lue à 700 nm dont une absorbance élevée témoigne d'un fort pouvoir réducteur de l'échantillon (Senguttuvan *et al.*, 2014). Le pouvoir réducteur est fortement lié à la présence de composés biologiquement actifs dotés de puissantes capacités de réduction (Hue *et al.*, 2012). L'action antioxydante des réducteurs est basée sur la rupture de la chaîne des radicaux libres en donnant des électrons ou en réagissant avec les précurseurs du peroxyde, empêchant ainsi la formation de peroxyde (Rezzagui *et al.*, 2020).

Dans la présente étude, les résultats obtenus ont permis de dessiner la courbe (**Figure 23**) des absorbances en fonction des concentrations des trois extraits et de standard utilisé (BHT). On

remarque que le pouvoir réducteur des extraits et de BHT s'élève avec l'augmentation de la concentration. Les résultats sont exprimés sous forme de concentration efficace (EC) capable de donner une absorbance de 0,5, plus l'EC₅₀ est minimale plus l'effet antioxydant de l'extrait est meilleur.

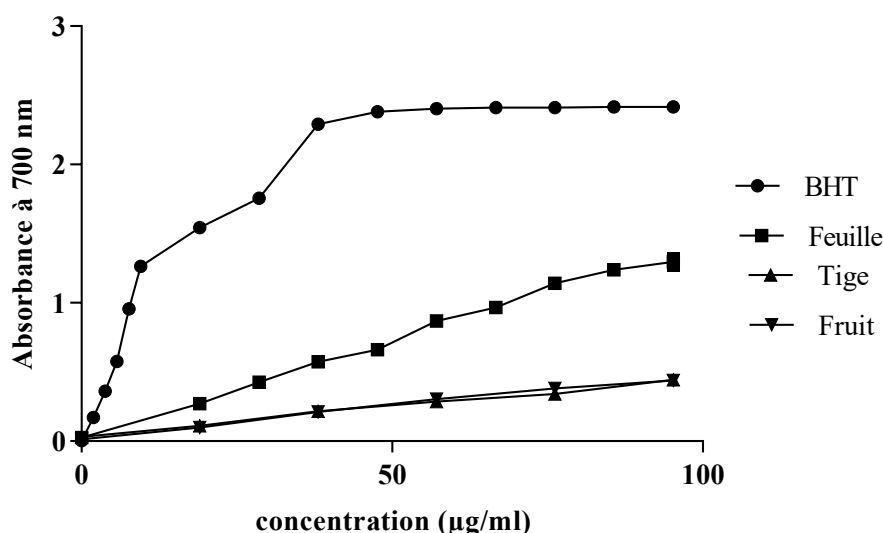


Figure 23. Pouvoir réducteur des extraits de *Capparis spinosa* et du BHT, valeur moyenne $\pm$ SD, n= 3.

Le pouvoir réducteur le plus élevé est enregistré avec l'EMF (EC₅₀ = 32,83 $\pm$ 0,57 µg/ml) comparativement à celui de BHT (4,5 $\pm$ 0,5 µg/ml) et aux autres extraits, l'EMT et l'EMFr.

L'efficacité de réduction du fer est inversement proportionnelle à la valeur de l'EC₅₀ selon l'ordre décroissant suivant : BHT > EMF > EMFr > EMT (**Tableau 4**).

En comparant les EC₅₀ des trois extraits, nos résultats (**Figure 24**) montrent que seul l'EMF qui présente une capacité antioxydante réductrice ferrique importante parmi les échantillons testés comme indiqué dans la méthode de DPPH, mais son activité reste inférieure à celle du BHT. On remarque aussi que l'EMFr présente une activité réductrice similaire à celle de l'EMT. Ainsi, l'extrait de feuilles peut agir comme un donneur d'électrons, réagir et convertir les radicaux libres en molécules plus stables et donc mettre fin aux réactions en chaîne des radicaux libre

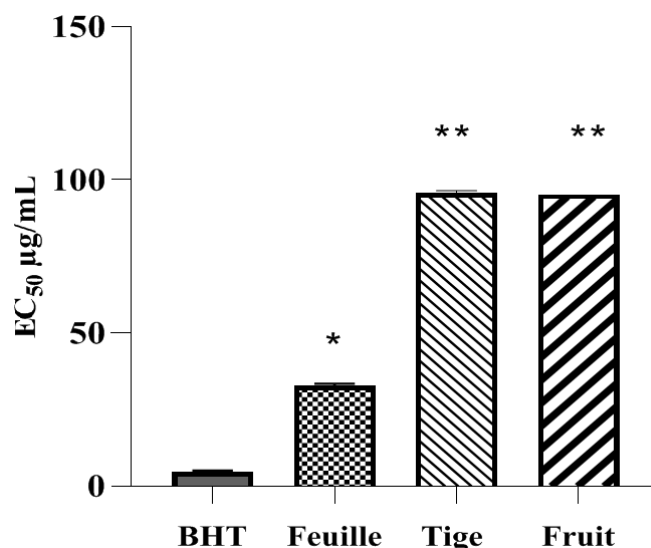


Figure 24. Pouvoir réducteur des extraits de *Capparis spinosa* et du BHT, valeur moyenne $\pm$ SD, $n = 3$. La valeur la plus faible d'EC₅₀ correspond à l'activité réductrice la plus élevée.

Cela peut être associé à la teneur la plus élevée en polyphénols (Meir *et al.*, 1995 ; Malencic *et al.*, 2008 ; Hue *et al.*, 2012 ; Arrar *et al.*, 2013). En effet, les études de Kalantari *et al.* (2018) ont confirmé qu'il y a une corrélation significative entre le contenu en polyphénols totaux et les essais de réduction du fer (par le test FRAP) et les IC₅₀ de l'activité de neutralisation du radical DPPH. Nos résultats pour l'EMF (EC₅₀ = $0,03 \pm 0,57$ mg/ml) présentent un pouvoir réducteur plus important par rapport à celui obtenu par Kalantari *et al.* (2018) qui ont évalué l'activité antioxydante de l'extrait des feuilles de *Capparis spinosa* préparé par trois solvants différents ; l'éthanol-eau 80%, l'éthyl d'acétate et le chloroforme. Ils ont trouvé des EC₅₀ de $1,655187 \pm 0,1219$, $15,90301 \pm 1,082$ et $3,908373 \pm 0,3171$ mg/ml, respectivement. Beldi *et al.* (2022) ont évalué également le pouvoir réducteur des feuilles, des tiges et des racines de *Capparis spinosa*. Ils ont démontré aussi que l'extrait méthanolique des feuilles était le plus efficace pour réduire les ions de fer. Ils ont trouvé que cet extrait se caractérise par la même capacité réductrice ferrique ($36,86 \pm 2,45$ µg/ml) que notre extrait, tandis que l'extrait méthanolique des tiges a montré une capacité réductrice plus faible (>200 µg/ml) par rapport à nos résultats (EC₅₀ = $95,74 \pm 0,66$ µg/ml).

2.4. Essai de piégeage du radical ABTS^{•+}

L'ABTS^{•+} est un autre test couramment utilisé pour mesurer le statut antioxydant total de divers échantillons biologiques en raison de leur bonne reproductibilité et de la facilité du contrôle de la qualité dont le mécanisme de réaction est identique à celui du DPPH. Lorsqu'un antioxydant est ajouté, l'ABTS perd sa couleur bleu-vert et est réduit (Dong *et al.*, 2015). Cette décoloration du radical ABTS s'accompagne par une diminution de l'absorbance à 734 nm et se traduit par un effet inverse sur la formation du radical cationique ABTS (Lee *et al.*, 2014). La capacité antioxydante des extraits a été évaluée en calculant le pourcentage d'inhibition et les IC₅₀ sont extraites par extrapolation à partir de la courbe pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration. Les données présentées dans la **figure 25** montrent que tous les extraits piègent le radical ABTS en fonction de la concentration (activité dose dépendante). Comme dans le test de DPPH, les résultats de l'ABTS ont montré, une fois de plus, que les feuilles de *Capparis spinosa* présentent la meilleure activité antioxydante.

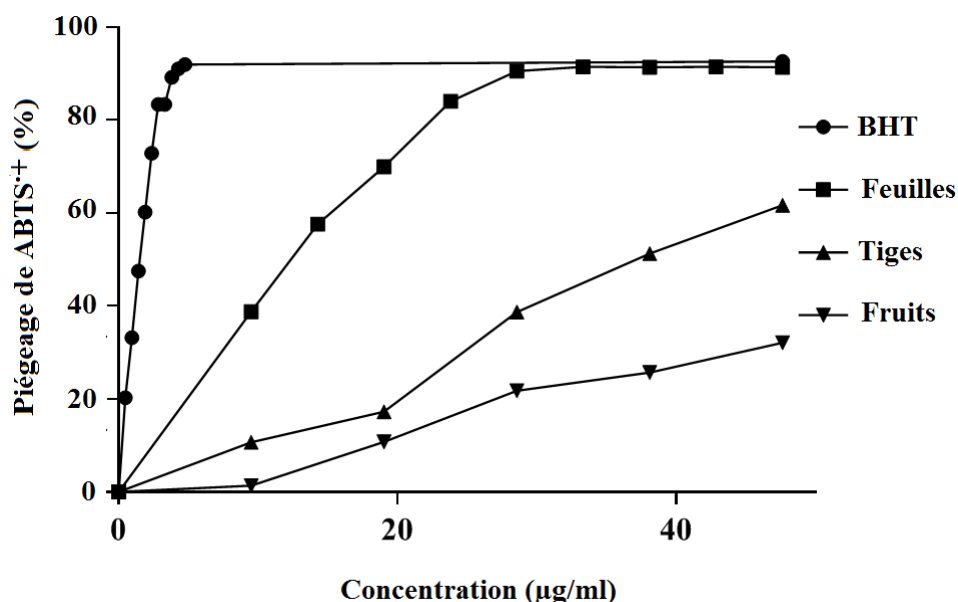


Figure 25. Activité de piégeage de radical cationique ABTS.+ exprimée en pourcentage en fonction de la concentration des extraits méthanoliques de *Capparis spinosa* et du BHT, valeurs moyennes $\pm$ SD, n=3.

En effet, l'EMF a montré l'IC₅₀ la plus faible ($11,93 \pm 0,08 \mu\text{g/ml}$) par rapport aux autres extraits donnant par conséquent l'effet antioxydant puissant (**tableau 4**) mais l'effet piègeur reste significativement inférieur ($P < 0,0001$) à celui du BHT ($1,4 \pm 0,26 \mu\text{g/ml}$), (**Figure 26**), tandis que l'EMFr n'a pas exhibé un effet antioxydant notable.

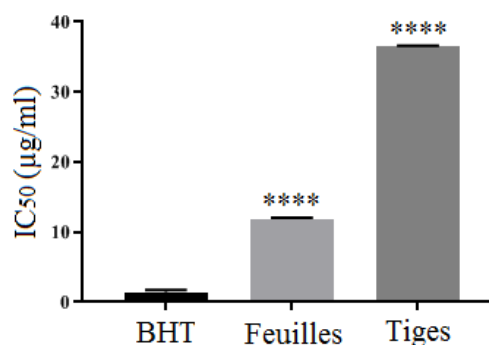


Figure 26. Valeur d'IC₅₀ (moyenne $\pm$ SD, n = 3) des extraits des feuilles de *Capparis spinosa* (EMF) et des tiges (EMT) de l'activité de piégeage du radical cationique ABTS., ****p < 0,0001.

Nos résultats ont montré que l'EMF est le plus fort piègeur du radical ABTS ainsi que du DPPH et constitue le réducteur le plus puissant, ce qui confirme la bonne corrélation entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante.

Tlili *et al.* (2015) ont évalué l'effet antioxydant des graines de *Capparis spinosa* de différentes régions de la Tunisie via le test d'ABTS. Ils ont trouvé que l'extrait méthanolique de ces graines possède une activité de piégeage ABTS importante ($2,6 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$) par rapport à l'IC₅₀ du trolox $3,47 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$. Les études de Allaith en 2016 ont démontré aussi que l'extrait méthanolique des fruits de *Capparis spinosa* de Bahrain se caractérise par une activité de piégeage du radical ABTS dont cet extrait atteint un pourcentage d'inhibition de $31,29 \pm 7,76 \%$. Nos résultats concordent avec ceux trouvés par Beldi *et al.* (2022). Ils ont démontré que l'extrait des feuilles était le plus puissant pour piéger le radical ABTS parmi les extraits étudiés avec une IC₅₀ = $17,67 \pm 0,74 \mu\text{g/ml}$, et qui est presque similaire à l'IC₅₀ achevée par notre extrait méthanolique des feuilles ($11,93 \pm 0,08 \mu\text{g/ml}$).

3. Essai de toxicité aiguë

Toutes les plantes médicinales ne sont pas exemptes d'effets secondaires, la raison pour laquelle leur sécurité doit être évaluée avant leur utilisation. Dans ce contexte, pour tester la toxicité aiguë de l'extrait méthanolique des trois parties étudiées (feuille, tige et racine) de *Capparis spinosa*, deux doses ont été utilisées, 2 et 5 g/kg pour chaque extrait. Nos études ont montré que l'administration de l'EMF, l'EMT et l'EMFr n'a produit aucun changement dans les symptômes comportementaux généraux des rats, et qu'aucune mortalité n'est survenue après 14 jours de traitement. Tous les animaux semblaient en bonne santé et il n'y avait pas de différences significatives de poids corporel entre le groupe témoin et les groupes traités, ce qui signifie que les extraits ne sont pas toxiques aux deux doses étudiées de 2 et 5 g/kg. Nos résultats suggèrent que la DL50 est supérieure à 5 g/kg. En se basant sur ces résultats on a choisi trois doses différentes (300 et 600 mg/kg) des extraits étudiés pour évaluer les activités biologiques de la plante sur les animaux.

4. Activité anti-inflammatoire de *Capparis spinosa* in vivo

L'inflammation aiguë se caractérise par des symptômes classiques tels que la chaleur, la rougeur, le gonflement et la douleur. La mesure de l'œdème induit par différents agents phlogistiques constitue un excellent outil pour la quantification de l'inflammation (Krimat *et al.*, 2017). Dans la présente étude, trois modèles d'inflammation in vivo ont été utilisés : l'œdème de l'oreille induit par le xylène, l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton et l'œdème de la patte induit par la carragénine.

4.1. Effet sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène

L'œdème de l'oreille induit par le xylène, utilisé comme modèle d'inflammation aiguë est largement utilisé pour le dépistage d'agents anti-inflammatoires capables de modifier l'activité

de l'enzyme phospholipase A2 (Antwi-Adjei *et al.*, 2017). L'application topique du xylène déclenche une réponse inflammatoire qui se traduit par un œdème, chaleur, rougeur de la peau et une irritation instantanée de l'oreille de la souris, en raison de la libération de médiateurs pro-inflammatoires tels que la sérotonine, l'histamine, la fibrinolyse, la kinine et la phospholipase A2. Ces médiateurs peuvent favoriser une vasodilatation sévère, augmenter la perméabilité vasculaire et par conséquent l'augmentation de l'infiltration de cellules inflammatoires et entraîner des changements œdémateux au niveau de la peau, ce qui est à l'origine de l'augmentation de l'épaisseur des tissus de l'oreille (Sun *et al.*, 2016 ; Antwi-Adjei *et al.*, 2017 ; Parandin et Daroogari, 2019). L'inflammation induite par le xylène est médiée aussi par l'augmentation de l'activité de deux enzymes ; la cyclooxygénase qui produit des médiateurs pro-inflammatoires tel que les prostaglandines et la myeloperoxydase qui représente un indicateur de l'infiltration des neutrophiles et de stress oxydatif (Soliman *et al.*, 2023). L'œdème induit par le xylène implique partiellement la substance P ; un neurotransmetteur dans le système nerveux central. L'augmentation de la sécrétion de cette substance provoquée par le xylène induit la libération d'oxyde nitrique qui est à l'origine de la vasodilatation et l'exsudation plasmatique (Singsai *et al.*, 2020).

La **figure 27** représente l'effet anti-inflammatoire des trois extraits méthanoliques (EMF, EMT et EMFr) de *Capparis spinosa* sur l'œdème de l'oreille de souris induit par le xylène. Les trois extraits ont réduit l'œdème. Mais dans ce modèle seul l'extrait des feuilles a diminué significativement l'œdème à la dose de 600 mg/kg ($0,008 \pm 0,003$ mm) et non à la dose de 300 mg/kg ($0,063 \pm 0,008$ mm) par rapport au contrôle ($0,063 \pm 0,009$ mm), (** $p < 0,01$). Cet extrait a inhibé l'œdème avec 86,84 % d'inhibition (**Figure 28**) et s'est avéré plus efficace que l'indométacine en tant qu'agent anti-inflammatoire qui a inhibé l'œdème ($0,02 \pm 0,01$ mm par rapport au contrôle, * $p < 0,05$) avec 68,42 %.

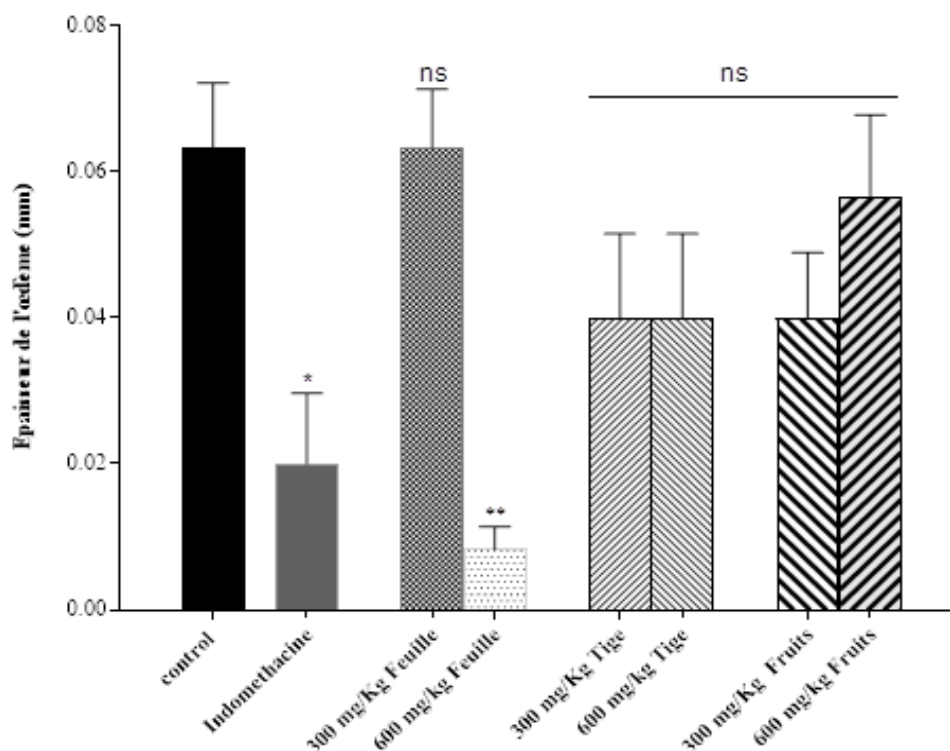


Figure 27. Effet de l'extrait méthanolique de feuilles, de tiges et de fruits de *Capparis spinosa* sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris. Les valeurs sont la moyenne $\pm$ SEM (n = 6). *P < 0,05, **P < 0,01 par rapport au groupe control enflammé. Le médicament de référence était l'indométacine (50 mg/kg).

Tandis que ni l'EMT ($0,04 \pm 0,012$ mm, $0,04 \pm 0,012$ mm) ni l'EMFr ($0,04 \pm 0,09$ mm, $0,057 \pm 0,011$ mm) ont pu réduire l'œdème de manière significative aux deux doses étudiées, 300 et 600 mg/kg respectivement (**figure 27**).

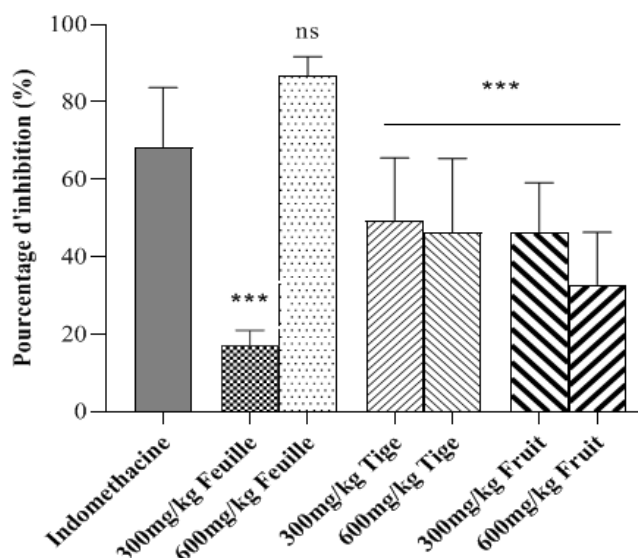


Figure 28. Effet de l'extrait méthanolique de feuilles, de tiges et de fruits de *Capparis spinosa* sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris. Les valeurs des pourcentages d'inhibition de l'œdème des trois extraits sont exprimées sous forme de moyenne $\pm$ SEM ($n = 6$) et comparées avec les valeurs de groupe traité par le médicament de référence ; l'indométacine (50 mg/kg). *** $P < 0,001$.

L'effet anti-inflammatoire puissant des feuilles concordent avec celui obtenu par Liu *et al.* (2014) dont ils ont trouvé que la partie feuille-tige de *Capparis spinosa* possède un effet anti-inflammatoire sur l'œdème induit par le xylène chez la souris supérieur que celui obtenu par les fruits avec des pourcentages d'inhibition 34,66% (2,32 g/kg) et 36,36 % (3,23 g/kg) respectivement, en comparant avec le groupe control positif traité par l'aspirine qui a montré un pourcentage d'inhibition de 41,17 % à la dose de 0,08 g/kg.

Par contre, Feng *et al.* (2011) ont montré que les extraits de fruit de *Capparis spinosa* inhibaient de manière significative la formation d'un œdème de l'oreille induit par le xylène, avec un effet similaire à celui du Diclofenac sodique. Une étude d'Alazhary *et al.* (2017) a examiné l'effet anti-inflammatoire des extraits des feuilles de *Capparis spinosa* sur l'œdème de l'oreille chez la souris. Ils ont démontré par l'étude histologique que la capacité d'inhibition d'inflammation est expliquée par la diminution de la vasodilatation et de l'infiltration des cellules immunitaires dans le site enflammé.

4.2. Model de l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton

L'huile de croton a également été utilisée comme agent phlogistique pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits méthanoliques de feuille, de tige et de fruit de *Capparis spinosa*. L'huile de croton est un constituant de la plante *Croton tiglium* L, contenant les esters de phorbols dont le principe actif 12-O-tétracanoilphorbol-13-acétate (TPA) est le plus dominant (Puspawati1 et Rita, 2019). L'effet phlogénique de l'huile de croton est dû principalement au TPA qu'elle contient dont l'application topique de ce produit induit une inflammation locale qui se caractérise par une production importante de médiateurs pro-inflammatoires, une augmentation de la perméabilité vasculaire et de l'infiltration des polymorphonucléaires et une formation d'un œdème. Le TPA déclenche l'inflammation par l'activation de la protéine kinase C (PKC), qui à son tour active d'autres cascades enzymatiques telles que la phospholipase A 2 (PLA2). Cette enzyme catalyse l'hydrolyse des phospholipides membranaires en acide arachidonique (Murakawa *et al.*, 2006 ; Eidi *et al.*, 2015 ; Krimat *et al.*, 2017). Par ailleurs, l'acide arachidonique peut être métabolisé par la voie de la lipo-oxygénase pour aboutir à la formation de leucotriènes et par la voie de la cyclo-oxygénase pour produire les thromboxanes et les prostaglandines, molécules fortement impliquées dans le processus inflammatoire (Lakache *et al.*, 2019). L'effet de l'EMF, l'EMT et l'EMFr sur l'inflammation de l'oreille induite par l'huile de croton chez les souris est illustré dans la **figure 29**. Dans la présente étude l'EMFr a été efficace dans l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton et a provoqué une diminution significative (* $p < 0,05$) de l'œdème ($0,05 \pm 0,003$ mm, $0,054 \pm 0,003$ mm) aux deux doses étudiées (300 et 600 mg/kg) par rapport au contrôle enflammé ($0,078 \pm 0,009$ mm). Cet extrait a inhibé l'œdème (inhibition de 35, 89 % et 30,76 % à 300 et 600 mg/kg respectivement) avec un effet inférieur à celui observé avec le contrôle positif, l'indométacine (** $p < 0,001$, $0,036 \pm 0,007$ mm, 53 % d'inhibition). Ce résultat peut s'expliquer par le fait que l'indométacine est pure, alors que l'extrait brut contient de nombreux composés (Xu *et al.*, 2014).

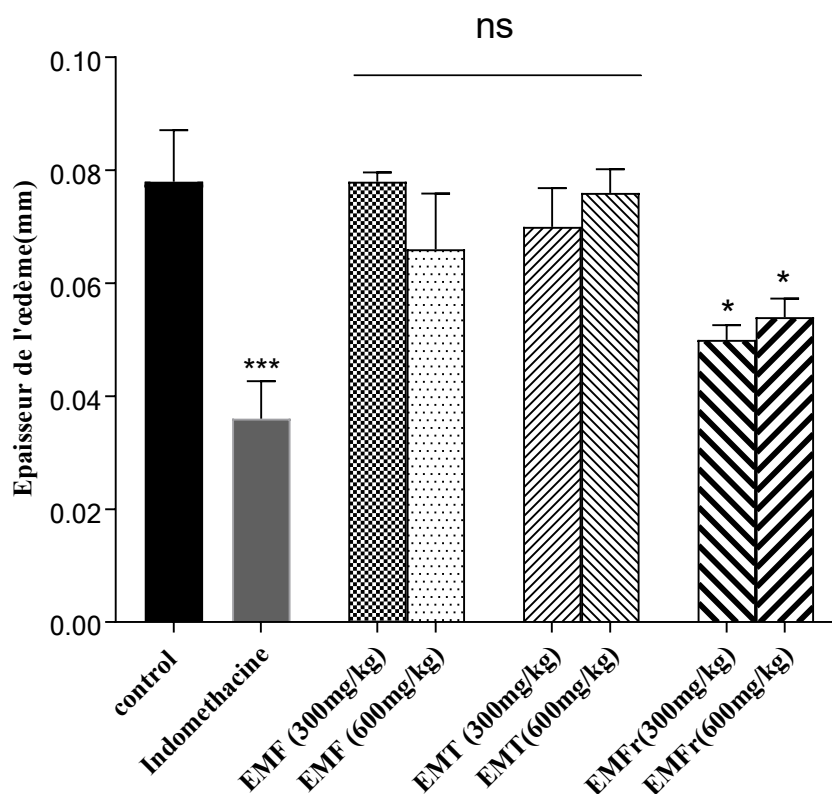


Figure 29. Effet de l'EMF, de l'EMT et de l'EMFr de *Capparis spinosa* sur l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris. Les valeurs sont la moyenne $\pm$ SEM (n = 6). *P < 0,05, ***P < 0,001 par rapport au groupe control enflammé. Le médicament de référence était l'indométacine (50 mg/kg).

Nos résultats ont montré que l'EMF et l'EMT n'avaient aucun effet sur l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton dans le cas des deux concentrations utilisées. Dans une autre étude, Conforti *et al.* (2008) ont évalué l'effet anti-inflammatoire de l'extrait hydroalcoolique des feuilles et des fruits de *C. spinosa* sur l'œdème induit par l'huile de croton, ils ont trouvé un effet inhibiteur de 24%.

4.3. Modèle de l'induction de l'œdème de la patte induit par la carragénine

L'œdème de la patte du rat induit par la carragénine est un modèle expérimental largement utilisé pour évaluer les propriétés anti-inflammatoires de différents produits naturels (Igbe *et al.*, 2010).

La carragénine est un polysaccharide naturel obtenu par extraction de certaines algues rouges de la classe des Rhodophycées connu sous le nom de carragénine (Li *et al.*, 2014). Le processus d'œdème induit par la carragénine est biphasique. La phase précoce ou première se produit pendant la première et la deuxième heure après l'injection de carragénine et se caractérise par la libération d'histamine, de sérotonine et de bradykinines par les mastocytes dans les tissus endommagés environnants, débutant par cela une cascade d'événements produisant d'autres médiateurs comme les prostaglandine et qui contribuent à l'établissement de la réaction inflammatoire aiguë pendant la phase tardive, qui dure de la troisième à la sixième heure (Yu *et al.*, 2012 ; Karim *et al.*, 2019). Dans la présente étude, l'évolution de l'œdème de la patte induit par la carragénine ainsi que les effets inhibiteurs des trois extraits méthanoliques étudiés de *Capparis spinosa* (feuilles, tiges et fruits) sur ce model inflammatoire ont été présentés dans la **figure 30**. La réponse inflammatoire aiguë est confirmée dans le groupe témoin (injection de la carragénine sans traitement) lorsque l'injection de la carragénine a montré une augmentation de l'épaisseur de la patte dès la première heure jusqu'à la sixième heure. Les animaux ont montré une augmentation progressive de l'œdème de la patte en fonction du temps après l'injection de carragénine ($1,25 \pm 0,065$ mm, $1,42 \pm 0,066$ mm, $1,90 \pm 0,086$ mm après 1h, 2h et 3h, respectivement), puis l'œdème augmente et atteint un plateau entre la troisième et la cinquième heure ($1,90 \pm 0,086$, $1,96 \pm 0,12$ mm) et atteint finalement son intensité maximale à 6 h ($2,53 \pm 0,2$ mm).

Nos résultats ont montré que cet œdème a été significativement inhibé par le Diclofenac (25 mg/kg) à tous les moments de l'évaluation (1h à 6 h) par rapport aux rats du groupe témoins (**Figure 30**). L'administration orale de l'EMF et de l'EMT n'a pas montré une inhibition de l'inflammation aux deux doses étudiées (300 et 600 mg/kg), (**figure 30 A et B**). Tandis que l'EMFr de *Capparis spinosa* à 300 mg/kg a permis de réduire l'épaisseur de l'œdème par rapport au contrôle dans la troisième (**P < 0,01) et la sixième heure (***P < 0,001), (**figure 30 C**).

A la dose la plus faible (300 mg/kg) et à la troisième heure après l'injection de la carragénine, cet extrait a réduit l'inflammation avec un pourcentage d'inhibition de $52.50 \pm 17.27\%$. Tandis qu'à la sixième heure, on a observé que cet effet a un peu diminué pour atteindre $35.63 \pm 10.73\%$ mais est resté efficace, ce qui peut être expliqué par la sécrétion des médiateurs inflammatoires durant la phase tardive.

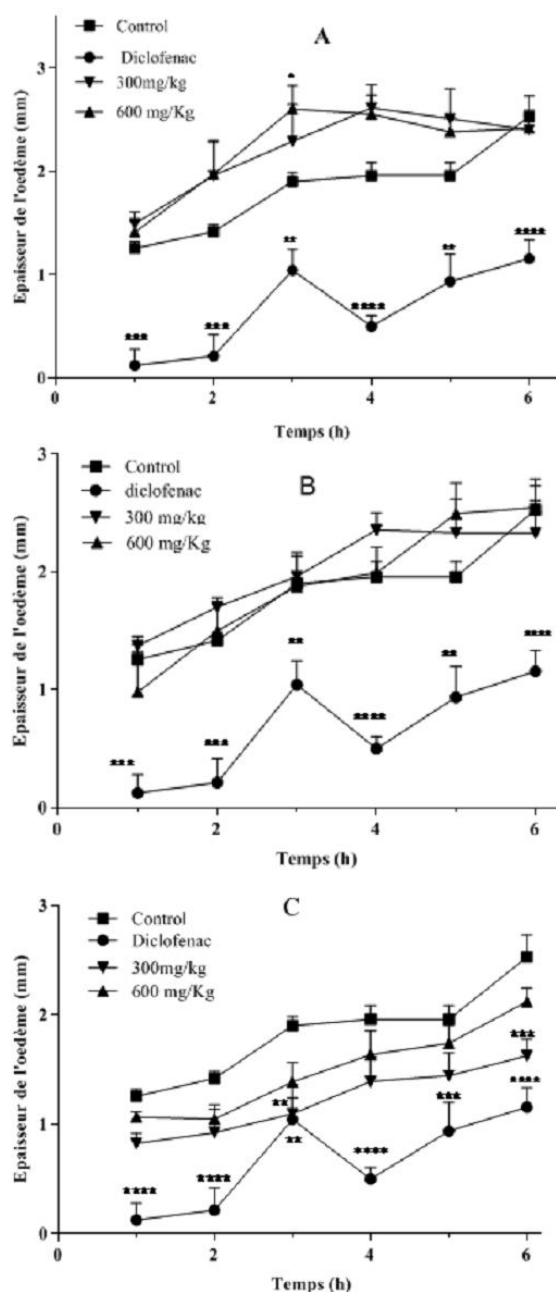


Figure 30. Effet de l'extrait méthanolique de la feuille (A), de la tige (B) et du fruit (C) de *Capparis spinosa* sur la cinétique de l'évolution de l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat. Les valeurs sont la moyenne $\pm$ SEM ($n = 6$). * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ par rapport au groupe témoin. Le médicament de référence était le Diclofenac (25 mg/kg).

Une comparaison entre les différents extraits étudiés à la dose de 300 mg/kg, le groupe traité par le diclofenac et le groupe témoin a été effectuée à 3 h et 6 h après l'injection de la carragénine pour but d'évaluer l'effet exercé sur l'épaisseur de l'œdème (**Figure 31**). La **figure 32** illustre une comparaison entre les pourcentages d'inhibition achevés par les trois extraits et le Diclofenac.

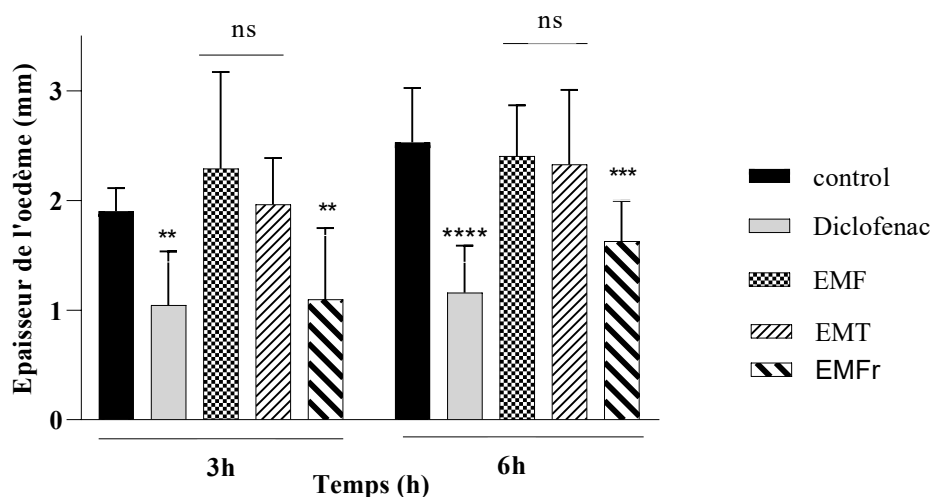


Figure 31. Epaisseur de l'œdème de la patte (mm) induit par l'injection de la carragénine chez les rats, mesuré après 3 heures et 6 heures de l'induction de l'inflammation et après traitement par les extraits méthanoliques de *Capparis spinosa* (EMF, EMT et de EMFr). Les valeurs sont la moyenne $\pm$ SEM (n = 6). **P < 0,01, ***P < 0.001, ****P < 0.0001 par rapport au groupe témoin non traité. Le médicament de référence était le Diclofenac (25 mg/kg).

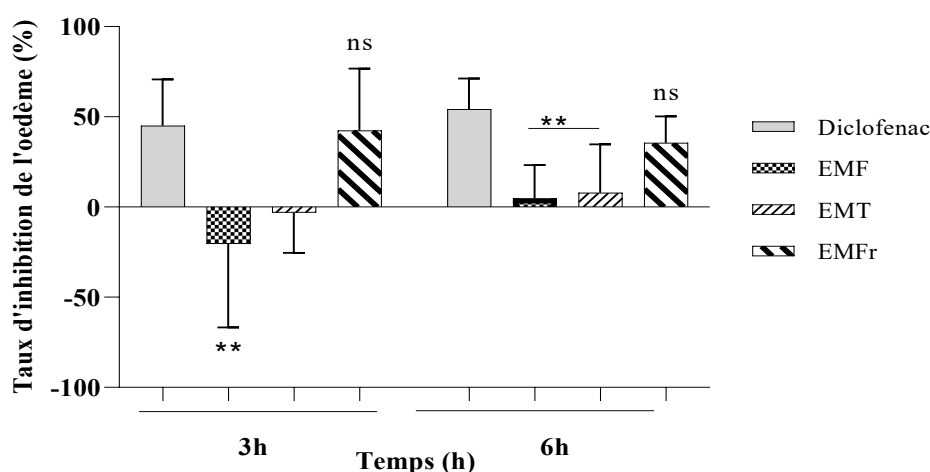


Figure 32. Taux d'inhibition de l'œdème de la patte (%) induit par la carragénine chez les rats, au cours de la troisième et la sixième heure par les extraits méthanoliques de *Capparis spinosa* (EMF, EMT et EMFr). Les valeurs sont la moyenne $\pm$ SEM (n = 6). **P < 0,01, ***P < 0.001, ****P < 0.0001 par rapport au groupe témoin non traité. Le médicament de référence était le Diclofenac (25 mg/kg).

Nos résultats ont été partiellement confirmés par l'étude de Aichour *et al.* (2018) lorsqu'ils ont trouvé que l'extrait de feuilles et de fruits de *Capparis spinosa* était incapable de réduire l'inflammation à la dose de 200 mg/kg, cependant à la dose de 400 mg/kg, leur extrait présente une activité significative. Cette différence de résultats peut être interprétée par le contenu biochimique de la plante, qui est influencé par plusieurs facteurs tels que les conditions géographiques et environnementales, la date et la taille de la récolte, les procédures de conservation, le génotype et les méthodes de traitement de l'extraction (Chedraoui *et al.*, 2017).

D'après nos résultats, l'extrait méthanolique de *Capparis spinosa* exerce un effet anti-inflammatoire durant la deuxième phase, ce qui est similaire aux résultats trouvés par Zhou *et al.* (2010). Ils ont trouvé que l'extrait de fruit de *Capparis spinosa* à 250 mg/kg exerce un effet inhibiteur de 40.8 % sur l'œdème induit par la carragénine chez les souris à 6 h. Cela peut être expliqué par l'effet inhibiteur sur la libération des prostaglandines et il est possible que cette activité soit attribuée à la présence de constituants bioactifs comme les flavonoïdes, les indoles et les acides phénoliques ou provienne des effets synergiques de ces composés. En effet, les flavonoïdes, les indoles, les acides phénoliques et leurs composés analogues ont tous été utilisés comme agents anti-inflammatoires dans plusieurs plantes (Calis *et al.*, 1999 ; Zhou *et al.*, 2011). Des études antérieures ont démontré que les extraits de fruits de *Capparis spinosa* contiennent des composés phénoliques, des flavonoïdes, des caroténoïdes et des indoles (Calis *et al.*, 2002 ; Zhou *et al.*, 2010 ; Allaith, 2016).

5. Activité antiarthritique chez le rat

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie inflammatoire systémique chronique et progressive à médiation immunitaire, caractérisée par une hyperplasie synoviale causée par un important infiltrat cellulaire prolifératif de cellules immunitaires, une forte expression élevée de cytokines pro-inflammatoires et l'érosion et le remodelage du cartilage et de l'os. Ce processus est médié par un réseau interdépendant de cytokines et d'enzymes protéolytiques. Plusieurs

modèles d'arthrite érosive auto-immune induits expérimentalement chez le rat et la souris sont actuellement largement utilisés pour étudier la pathogenèse de la maladie, tester l'utilité potentielle de médicaments antirhumatismaux et pour évaluer de nouveaux agents thérapeutiques potentiels (Di Paola et Cuzzocrea, 2008 ; Cascao *et al.*, 2012).

L'arthrite induite par adjuvant (AIA) est l'un des meilleurs modèles expérimentaux pour étudier les effets de l'arthrite, dont les caractéristiques pathologiques et morphologiques ressemblent à celles de l'AR chez l'homme (Yang *et al.*, 2020). Ce type d'arthrite, qui apparaît environ 8-12 jours après l'injection, se caractérise par une infiltration de lymphocytes dans la synovie, la destruction du cartilage et l'érosion osseuse (Di Paola et Cuzzocrea, 2008 ; Bao *et al.*, 2019).

5.1. Effet des extraits de *Capparis spinosa* sur les paramètres cliniques

5.1.1. Effet sur l'épaisseur de la patte

La mesure de l'épaisseur de la patte est un moyen simple et rapide pour étudier l'évolution de l'inflammation et pour tester l'effet anti-inflammatoire de l'extrait étudié (Amraoui *et al.*, 2019). Le diamètre d'œdème de la patte arrière droite de tous les animaux a été mesuré juste avant l'injection de l'ACF et ensuite chaque quatre jours jusqu'à la fin de l'expérience. **La figure 33** illustre l'augmentation de l'épaisseur de la patte en fonction des jours chez le groupe AIA, et chez les différents groupes désignés pour étudier nos extraits dans la présente étude.

L'injection de l'ACF a entraîné une augmentation de l'épaisseur de la patte caractérisée par l'apparition d'un pic à J3 chez les rats des différents groupes où on a enregistré un taux de gonflement de $159,53 \pm 6,01$ % ($5,32 \pm 0,09$ mm) chez le groupe AIA. On a noté une légère décroissance de $140,82 \pm 5,92$ % ($4,70 \pm 0,22$ mm) le J7 suivie d'un autre pic le J10 de $151,65 \pm 7,46$ % ($5 \pm 0,25$ mm) et puis on a observé une diminution continue du J14 jusqu'à la fin de l'expérience le J21 où le taux de gonflement atteint $83,05 \pm 1,12$ % ($3,02 \pm 0,29$ mm), (**figure 33**).

Le mécanisme d'arthrite induite par l'ACF chez le rat est caractérisé par une apparition et une progression rapide de l'inflammation durant la première phase dite aigue, cette phase évolue vers une inflammation polyarticulaire durant la phase chronique, après 10 à 14 jours jusqu'à la fin de l'expérience dont les symptômes de l'inflammation peuvent être observés (Choudhary *et al.*, 2018).

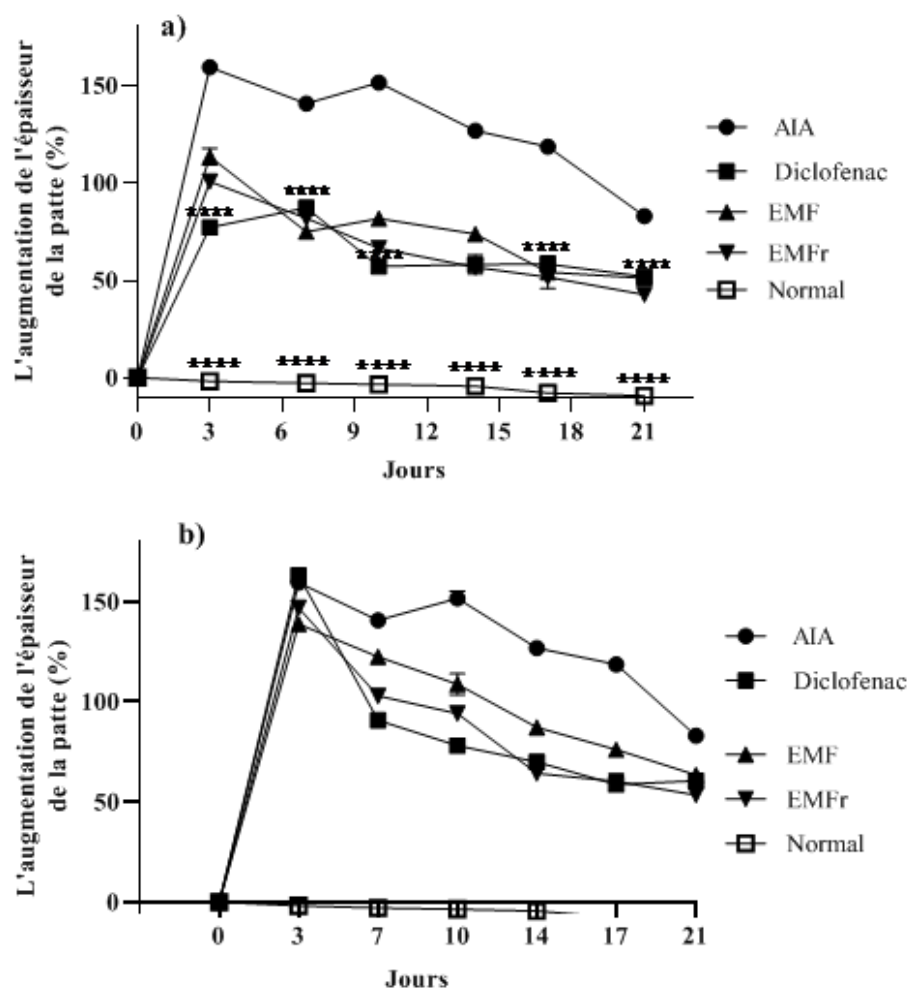


Figure 33. Effet de l'extrait méthanolique de la feuille (EMF) et du fruit (EMFr) de *Capparis spinosa* sur la cinétique de l'évolution de l'œdème de la patte induit par l'adjuvant complet de Freund chez le rat. a) effet préventif, b) effet thérapeutique. Les valeurs sont la moyenne $\pm$ SEM ($n = 6$). * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ par rapport au groupe AIA. Le médicament de référence était le Diclofenac (3mg/kg).

Dans cette étude, le modèle d'AIA a été adopté pour évaluer l'efficacité préventive de nos extraits (EMF et EMfr) dans sa première partie dont on a utilisé le Diclofenac comme

médicament (control positif). Le gavage journalier des rats avec une dose de 3 mg/kg de Diclofenac a permis de réduire le taux de gonflement (**figure 34 a**) d'une manière significative ($P < 0,01$). Cet effet significatif a été observé dès le J 3 ($P < 0,0001$; $77,11 \pm 0,2$ %), par rapport au groupe malade AIA ($159,53 \pm 6,01$ %) et tout au long de l'expérience jusqu'au J21 où un taux de gonflement de $52,03 \pm 5,22\%$ ($P < 0,0001$) a été enregistré, par rapport au groupe malade non traité AIA ($83,05 \pm 1,12$ %).

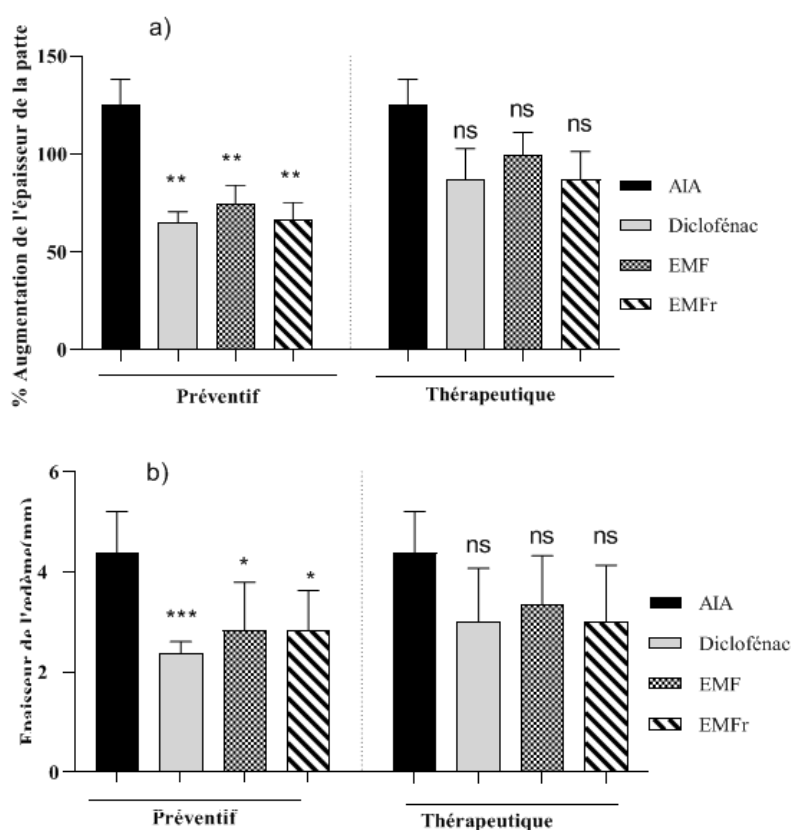


Figure 34. Effet préventif et thérapeutique de l'extrait méthanolique de la feuille (EMF) et du fruit (EMFr) de *Capparis spinosa* (300 mg/kg) sur l'œdème de la patte induit par l'adjuvant complet de Freund chez le rat. a) pourcentage de gonflement, b) épaisseur de l'œdème (mm). Les valeurs sont la moyenne $\pm$ SEM ($n = 6$). * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ par rapport au groupe AIA. Le médicament de référence était le Diclofenac (3mg/kg).

D'un autre côté, les résultats enregistrés des deux groupes des rats traités avec 300 mg/kg de chaque type d'extraits (EMF et EMfr) ont montrés une amélioration significative ($P < 0,01$) de l'œdème (**figure 34 a**). Effectivement une diminution notable a été enregistré par l'EMFr et l'EMF par rapport au groupe AIA ($159,53 \pm 6,01$ %) où un taux de gonflement de $100,80 \pm 6,68$

% et de $113,64 \pm 8,52$ % a été noté le J3, et de $42,67 \pm 6,85$ % et $51,19 \pm 6,39$ % le J21, respectivement. On a observé aussi que l'effet préventif obtenu par l'EMFr sur le gonflement est significativement plus important que celui obtenu par l'EMF le J3 ($100,80 \pm 6,68$ % vs $113,64 \pm 8,52$ %, $p < 0,05$), le J10 ($66,50 \pm 1,2$ % vs $81,79 \pm 7,51$ %, $p < 0,01$) et le J14 ($56,69 \pm 5,36$ % vs $73,85 \pm 5,18$ %, $p < 0,001$).

Pour confirmer l'effet préventif de *Capparis spinosa*, on a calculé aussi le pourcentage d'inhibition de gonflement de la patte exercé par le Diclofenac et par chaque extrait en prenant en considération la moyenne de l'épaisseur de l'œdème comparativement au groupe AIA. Le pourcentage d'inhibition induit par le Diclofenac était 42,25 %, alors que celui de l'EMFr et l'EMF était 41,71% et 39,74% respectivement.

La **figure 34** illustre les résultats démontrés par la deuxième partie de notre étude thérapeutique où l'administration orale de diclofenac et des extraits a été effectuée après 10 jour de l'injection de l'ACF. En effet ce type d'arthrite et ces symptômes cliniques apparaissent environ 8-12 jours après l'induction de cette inflammation (Di Paola et Cuzzocrea, 2008, Holmdahl *et al.*, 2014 ; Voon *et al.*, 2016).

Contrairement au traitement préventif par le diclofenac, le traitement thérapeutique des rats arthritiques par ce médicament (3mg/kg) à partir du J10, n'a pas montré un effet inhibiteur significatif sur l'épaisseur de l'œdème, (**figure 34**).

De plus, aucun effet inhibiteur significatif de l'œdème n'a été observé en thérapeutique dans les groupes des rats traités par l'EMFr et l'EMF comparativement au groupe AIA. Ceci est illustré dans la **figure 34** où aucune variation significative n'a été constaté concernant le taux de gonflement (%) ou l'épaisseur de l'œdème (mm). Mais une petite amélioration (non significative) de l'état de l'œdème a été notée par rapport au groupe AIA le J10, 14 et le J17, ce qui peut démontrer l'effet défensif des extraits administrés de *Capparis spinosa* contre

l'aggravation de l'inflammation articulaire chez le rat souffrant d'AIA.

Les composants mycobactériens de l'ACF provoquent une forte réponse immunitaire des lymphocytes T dans les pattes des rats après l'injection intra plantaire. Cette immunité pathologique comprend des réactions croisées avec des antigènes articulaires. Des études ont suggéré que les protéines de choc thermique (HSP) conservée de 65 kDétaientla cible dans l'arthrite induite par la muccobacterium, ainsi dans l'AR (Holmdahl *et al.*, 2001, Voon *et al.*, 2016). Les lymphocytes T interagissent avec les cellules dendritiques, monocytes et macrophages pour déclencher la production des cytokines pro-inflammatoires prédominantes, telles que le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6 dans la membrane synoviale, entraînant l'initiation de l'angiogenèse et de la prolifération des fibroblastes synoviaux qui expriment des molécules d'adhésion ce qui se traduit par la migration des leucocytes dans le site inflammatoire. Les cellules inflammatoires libèrent des médiateurs pro-inflammatoires qui entraînent une vasodilatation et l'infiltration d'un plus grand nombre de cellules immunitaires dans la cavité articulaire ce qui entraîne la formation d'un pannus (Yang *et al.*, 2020, Voon *et al.*, 2016, Huang *et al.*, 2023).

Dans la présente étude nous avons démontré que l'AIA peut être traitée grâce à un effet inhibiteur possible exercé par les extraits de *Capparis spinosa* sur ces acteurs d'inflammation. Cet effet se manifeste par la diminution significative ($P < 0,01$) de l'épaisseur de l'œdème chez les rats qui ont reçu les deux extraits en préventif (EMF et EMFr). Ces deux extraits ont donné un effet très proche que celui du Diclofenac. Dans l'étude thérapeutique, les extraits ont amélioré un peu l'inflammation surtout le jour 10,14 et 17 mais leur effet reste non significatif. Des études réalisées par Feng *et al.* (2011) ont confirmé aussi l'effet antiarthritique de *Capparis spinosa*. En effet, le traitement par des fractions éluées par l'éthanol-eau de fruit de cette plante a réduit de manière significative et équivalente au Diclofenac le gonflement des pattes et a diminué l'œdème chez des rats model d'arthrite induite par l'injection de l'ACF.

D'autres études ont démontré que l'extrait des feuilles de *Capparis spinosa* régule l'inflammation (model d'hypersensibilité de contact) induite in vivo chez la souris et pourrait donc être une source de molécules anti-inflammatoires en diminuant l'infiltration des cellules immunitaires et la vasodilatation et par conséquent la diminution de l'œdème dans le site inflammatoire. Ils ont démontré que cette plante inhibe l'expression génétique des cytokines (IFN γ , IL-4, IL-17) et pourraient être utilisées dans certaines maladies inflammatoires dépendantes des lymphocytes T (El Azhary *et al.*, 2017). Moutia *et al.* (2016) ont rapporté que l'extrait de feuille de *Capparis spinosa* présentait une activité anti-inflammatoire in vitro sur des cellules mononucléaires du sang périphérique humain obtenues à partir de sujets sains. Ils ont trouvé que cet extrait était capable de stimuler l'expression de l'IL-4 (cytokine anti-inflammatoire) et inhiber l'expression de l'IL-17 (cytokine pro-inflammatoire). Récemment une autre étude a confirmé l'effet anti-inflammatoire de *Capparis spinosa*, ils ont démontré que le traitement des rats arthritiques par l'extrait éthanolique des racines a réussi dans la diminution de l'œdème des pattes provoqué par l'ACF (Jalebawi et Chyad ; 2021 ; Hajimehdipoor *et al.*, 2024)

5.1.2. Effet sur le score arthritique

Le score d'arthrite est un indicateur essentiel pour évaluer l'effet antiarthritique des médicaments et des substances naturelles. Dans la présente étude ce paramètre est utilisé pour évaluer l'effet anti-inflammatoire possible de *Capparis spinosa*. Les pattes arrière des rats ont été surveillées tous les 3 /4 jours à partir du J10 jusqu'à la fin de l'expérience, la **figure 35** illustre les résultats obtenus. Comme le montre la **figure 35**, les rats du groupe modèle AIA se caractérisent par des scores d'arthrite nettement plus élevés que ceux des rats du groupe normale ($p < 0.0001$). Dans notre partie d'étude visée pour évaluer l'effet préventif de la plante, le traitement par le Diclofenac (3 mg/kg) a permis la diminution significative du score d'arthrite par rapport du groupe AIA le J10 ($p < 0.0001$) jusqu'au jour 17 ($p < 0.001$).

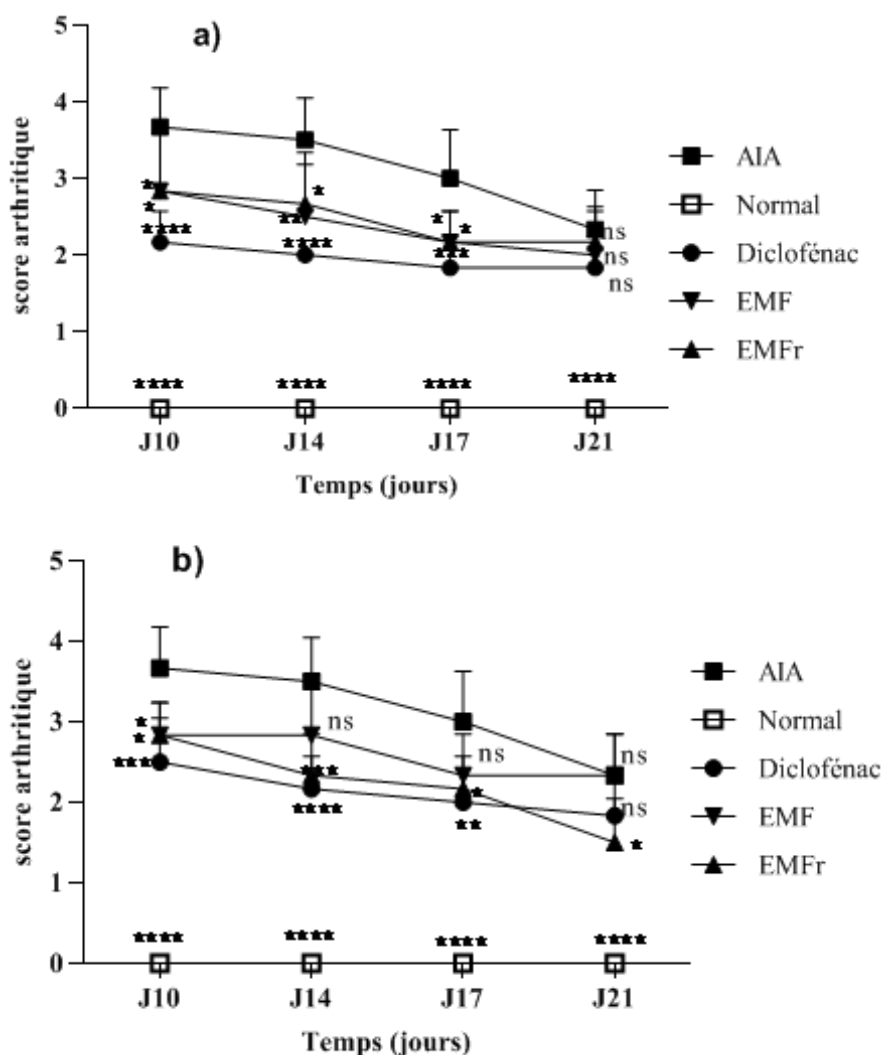


Figure 35. Effet (a: préventif ; b: thérapeutique) des extraits (EMF et EMFr) de *Capparis spinosa* sur le score arthritique chez les rats model AIA. Le médicament de référence était le Diclofenac (3mg/kg). Les données sont exprimées en moyenne $\pm$ SEM (n = 6) en comparant avec le groupe AIA. **** : $p < 0.0001$, *** : $p < 0.001$, ** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$, ns : non significative.

Comme pour le Diclofenac, le traitement préventif par *Capparis spinosa* a diminué de manière significative le score arthritique le J10 ($p < 0.05$; $p < 0.05$) le J14 ($p < 0.01$; $p < 0.05$), et le J17 ($p < 0.05$; $p < 0.05$), un effet obtenu par l'EMF et l'EMFr respectivement. Tandis que l'usage thérapeutique de l'EMF n'a pas amélioré significativement le score arthritique sauf le J10 ($p < 0.05$), inversement à l'EMFr qui a donné un effet significatif maximal sur le score arthritique le J14 ($p < 0.001$).

5.1.3. Effet sur le poids corporel et le poids relatif de la rate

Un autre critère clinique a été observé tous les 3/4 jours tout au long de l'expérience pour le suivi de l'inflammation, le poids corporel des rats. Le thymus et la rate sont des organes essentiels pour la réponse immunitaire et les variations de leur poids constituent un indicateur crucial reflétant la fonction immunologique (Zheng *et al.*, 2015), dans notre expérience la rate a été pesée le J 21 après le sacrifice des rats, ensuite l'indice de la rate a été calculé (mg/g). Le poids corporel de tous les groupes de rats a été enregistré depuis le jour 0 jusqu'au jour 21 (**Figure 36**).

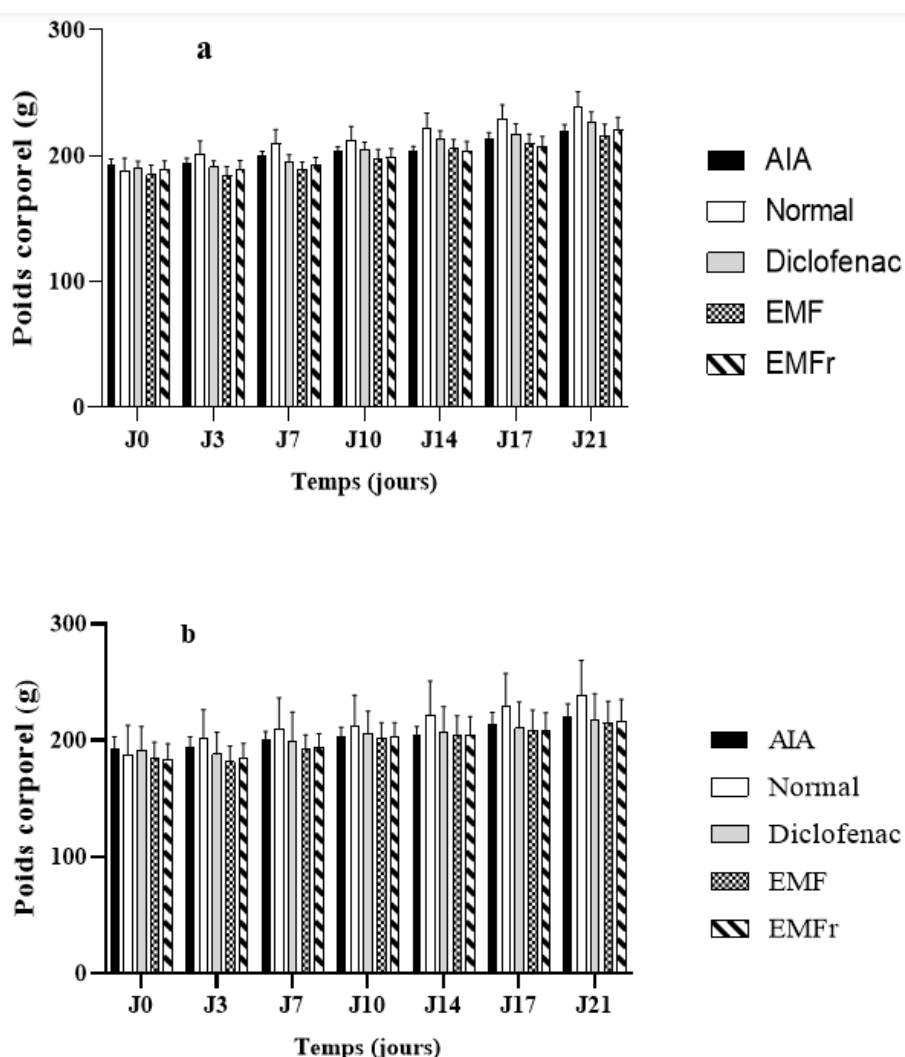


Figure 36. Effet de *Capparis spinosa*, **a)** préventif **b)** thérapeutique sur le poids corporel chez les rats AIA au cours de l'expérience du J0 jusqu'au jour 21. Les données sont exprimées en moyenne $\pm$ SEM (n = 6). Le médicament de référence était le Diclofenac (3mg/kg), les deux extraits EMF et EMFr ont été administrés aux rats avec une dose de 300 mg/kg.

Dans les deux études préventives (**Figure 36a**) et thérapeutique (**Figure 36 b**), le poids corporel des rats témoins normaux a augmenté régulièrement tout au long de l'expérience, tandis que le poids corporel chez les rats modèles AIA a montré une augmentation plus lente par rapport au groupe normale. On a calculé le gain du poids corporel (**tableau 5**) et on a enregistré une réduction significative ($p < 0,01$) de ce dernier chez les rats AIA comparativement aux rats du groupe normal. Cela peut être expliqué par la diminution de la mobilité des rats due à l'inflammation de la patte et à la douleur qui restreint leur accès à la nourriture. D'autres études ont interprété cette diminution de poids corporel par l'augmentation de la sécrétion de la leptine durant les 24 heures suivant l'administration de l'ACF ; une hormone de type cytokine impliquée dans la régulation de l'apport alimentaire et le métabolisme et qui entraîne l'anorexie et la perte de poids (Patil *et al.*, 2012). Il est important de noter que le traitement par le Diclofenac (3mg/kg), l'EMF et l'EMFr de *Capparis spinosa* (300 mg/kg) a amélioré dans une certaine mesure la perte de poids corporel des rats modèles. En effet, le traitement par l'EMF en préventif a empêché la réduction du poids corporel (11.39 ± 2.46) d'une manière significative ($p < 0.01$) et identique à celle obtenue par le Diclofenac (11.55 ± 2.67) le J14 par rapport au groupe AIA (5.76 ± 2.42), (**tableau 5**).

Tableau 5. Gain de poids corporel chez les différents groupes de rats à jour 7, 10, 14, 17 et 21.

Groupe	J7	J10	J14	J17	J21
Normal	11.83 ± 3.57	13.28 ± 3.23	18.39 ± 4.26	22.21 ± 3.54	27.34 ± 3.43
AIA	3.77 ± 1.73 ¥¥	5.41 ± 2.14 ¥¥	5.76 ± 2.42 ¥¥	10.72 ± 2.04 ¥¥	13.81 ± 2.77 ¥¥
pDiclofenac	2.54 ± 2.85 NS	7.6 ± 2.52 NS	$11.55 \pm 2.67^{**}$	14.03 ± 3.22 NS	18.74 ± 3.64 NS
pEMF	2.42 ± 2.35 NS	6.93 ± 1.49 NS	$11.39 \pm 2.46^{**}$	13.45 ± 2.81 NS	16.88 ± 3.04 NS
pEMFr	2.02 ± 1.57 NS	5.35 ± 1.2 NS	8.07 ± 1.96 NS	9.66 ± 1.41 NS	16.65 ± 5.15 NS
tDiclofenac	4.18 ± 3.81 NS	7.73 ± 2.89 NS	8.54 ± 4.14 NS	10.13 ± 5.58 NS	14.19 ± 5.49 NS
tEMF	3.83 ± 2.43 NS	$8.85 \pm 2.32^{*}$	$10.4 \pm 2.62^{*}$	12.46 ± 3.36 NS	16.13 ± 3.39 NS
tEMFr	5.14 ± 3.14 NS	$10.00 \pm 1.57^{**}$	$11.38 \pm 2.02^{**}$	13.39 ± 1.54 NS	17.55 ± 2.74 NS

Toutes les données sont exprimées en moyenne $\pm$ SEM (n=6). ¥¥ : Différence statistique par rapport au groupe normal (¥¥: $p < 0.01$). * : Différence statistique par rapport au groupe AIA (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, NS : non significative).

Les résultats enregistrés durant l'étude thérapeutique ont démontré aussi que *Capparis spinosa* a amélioré significativement le gain du poids chez les rats AIA le J10 et J14 via les deux extraits, l'EMF et l'EMFr. On a observé que le fruit est plus efficace ($p < 0.01$) que la feuille ($p < 0.05$) dans le maintien du poids corporel. Concernant le poids relatif de la rate, nos résultats n'ont montré aucune différence significative entre les rats atteints d'arthrite (AIA) et les rats normaux. On n'a également noté aucune différence entre les rats traité par le Diclofenac ou par l'EMF et l'EMFr de *Capparis spinosa* (pour un effet préventif et thérapeutique) et les rats AIA, voir le **tableau 6**.

Tableau 6: Index de poids de la rate par rapport au poids corporel (mg/g) chez les rats de différents groupes à la fin de l'expérience le J21.

Groupe	Rate	Groupe	Rate
AIA	0.28 ± 0.03^{NS}	Normal	0.28 ± 0.02
pDiclofénac	0.32 ± 0.04^{NS}	tDiclofénac	0.30 ± 0.04^{NS}
pEMF	0.28 ± 0.03^{NS}	tEMF	0.26 ± 0.01^{NS}
pEMFr	0.30 ± 0.06^{NS}	tEMFr	0.26 ± 0.02^{NS}

Toutes les données sont exprimées en moyenne $\pm$ SEM (n=6). Le groupe AIA a été comparé avec le groupe normal. Les groupes de l'étude préventive (pDiclofénac, pEMF et pEMFr) et thérapeutique (tDiclofénac, tEMF et tEMFr) sont comparés avec le groupe AIA. NS : non significative.

Par contre, d'autres études ont démontré dans ce contexte que le poids de la rate a augmenté de façon remarquable chez les rats du groupe model AIA comparativement aux rats du groupe normal et que le traitement par des extraits naturels a permis la diminution du poids de la rate par rapport Au groupe AIA. Ils ont démontré que l'hyperfonction du thymus et la rate est étroitement liée à la stimulation du système immunitaire chez le groupe model AIA et par conséquent la diminution des indices de la rate indique un effet immunosuppresseur (Bao *et al.*, 2019 ; Yang *et al.*, 2020).

D'autres études (Feng *et al.*, 2011) concordent avec nos résultats en ce qui concerne l'effet de *Capparis spinosa* sur le poids corporel des rats arthritiques. Ils ont trouvé que le taux de prise de poids chez les rats arthritiques traités par des fractions de fruit de cette plante est similaire à celui des rats normaux, ce qui suggère que la plante a amélioré l'état de santé des animaux.

5.1.4. Effet sur la vitesse de sédimentation des érythrocytes

La vitesse de sédimentation des érythrocytes (ESR) est un test peu coûteux et simple pour évaluer la réponse inflammatoire, il joue un rôle important dans le diagnostic et le suivi de la polyarthrite rhumatoïde (Bochen *et al.*, 2011). L'ESR reflète l'agrégation des globules rouges qui augmente durant l'inflammation, le stress et la nécrose cellulaire (Patil *et al.*, 2012). Une ESR plus élevée est associée à une augmentation de la production de protéines endogènes telles que le fibrinogène et l' α/β -globuline (Patel *et al.*, 2021). Le fibrinogène, le réactif le plus abondant de la phase aiguë a l'effet le plus important sur l'élévation de l'ESR par rapport aux autres protéines de la phase aiguë (Bochen *et al.*, 2011). Dans notre expérience le sang a été prélevé avant le sacrifice des animaux le J21 et on a calculé ensuite l'ESR, la **figure 37** illustre les résultats de l'effet de *Capparis spinosa* sur l'ESR chez les rats arthritiques AIA, les rats traités par le Diclofenac et les extraits (EMF, EMfr).

D'après les résultats de l'étude préventive présentés dans la **figure 37 a**, l'ESR chez les rats arthritiques AIA a été significativement ($p < 0.05$) augmentée en comparant avec le groupe normal. Le traitement par le Diclofenac (3mg/kg) et par les deux extraits (EMF et EMfr) à une dose de 300mg/kg a entraîné une diminution significative ($p < 0.05$) dans la valeur d'ESR en comparant avec le groupe AIA. Tandis que dans la deuxième partie de notre étude (**figure 37 b**), l'évaluation de l'effet thérapeutique par le Diclofenac et les deux extraits de la plante n'a pas atténué significativement l'ESR en comparant avec le groupe AIA.

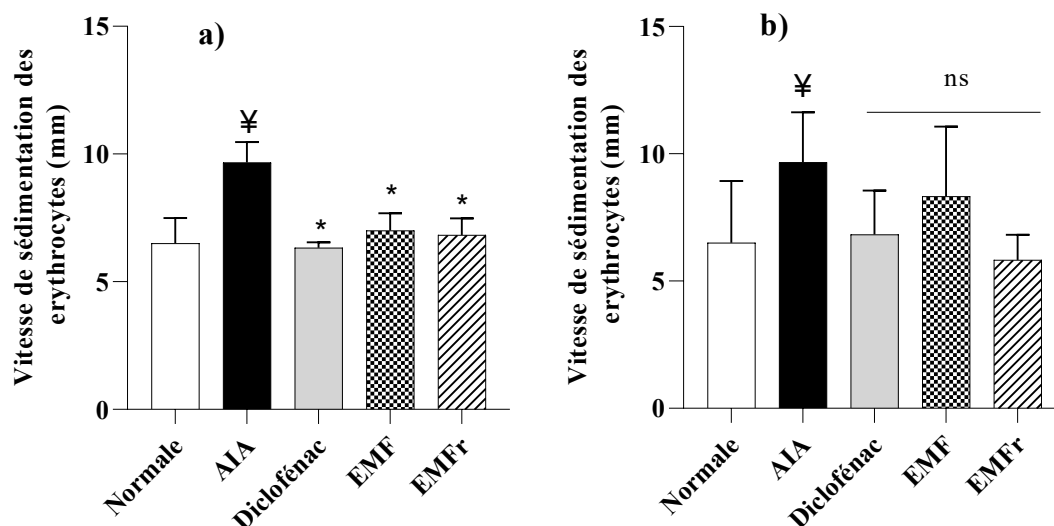


Figure 37. Effet de *Capparis spinosa* sur l'ESR chez les rats AIA, a) : effet préventif, b) : effet thérapeutique. Les données sont exprimées en moyenne $\pm$ SEM ($n = 6$). Le médicament de référence était le diclofénac (3 mg/kg), les deux extraits EMF et EMFr ont été administrés aux rats avec une dose de 300 mg/kg. ¥ : $p < 0.05$ en comparant avec le groupe normal. * : $p < 0.05$ en comparant avec le groupe arthritique AIA, NS : non significative.

5.2. Effet des extraits de *Capparis spinosa* sur les paramètres plasmatiques

Le stress oxydatif est également un facteur critique dans la destruction des articulations de la polyarthrite rhumatoïde. En effet, la peroxydation lipidique médiée par les ROS, et les mécanismes de défense antioxydants retardés (catalase, superoxyde dismutase) joue un rôle important dans la détérioration de l'inflammation encore plus (Luo *et al.*, 2020). Dans ce contexte trois paramètres plasmatiques ont été évalué chez tous les rats des groupes expérimentaux. La mesure du taux de MDA dans le plasma, principal métabolite de la peroxydation lipidique, et la mesure de la concentration des ions nitrites (NO^-2). Ces deux paramètres ont été utilisés comme indicateurs du stress oxydatif chez les rats atteints d'arthrite et les rats traités (Diclofenac et les extraits). L'activité du NO et la peroxydation lipidique médié par les espèces réactive de l'oxygène peut être atténué par l'augmentation de l'activité des enzymes de défense antioxydantes (Luo *et al.*, 2020). Parmi ces enzymes on a mesuré l'activité enzymatique de la catalase ; troisième marqueur plasmatique évalué dans cette étude.

Pour évaluer l'effet des extraits de la plante sur ces marqueurs on a comparé les résultats du groupe malade AIA avec ceux du groupe normal sain, tandis que les résultats des groupes traités (Diclofenac et les extraits) sont comparés avec les résultats du groupe AIA. Le **tableau 7** illustre les résultats obtenus.

.

Tableau 7: Les marqueurs du stress oxydatif chez les rats arthritiques AIA et traités. Le taux du MDA exprimé en nmol/ml, la concentration du NO en μM et l'activité enzymatique de la catalase en $\mu\text{mol/min}$.

Paramètres plasmatiques	Normal	AIA	pDiclofénac	pEMF	pEMFr	tDiclofénac	tEMF	tEMFr
MDA	0.52 ± 0.03	$0.6 \pm 0.03^{\text{ns}}$	$0.51 \pm 0.01^{\text{ns}}$	$0.52 \pm 0.02^{\text{ns}}$	$0.49 \pm 0.01^{\text{ns}}$	$0.6 \pm 0.01^{\text{ns}}$	$0.41 \pm 0.01^{**}$	$0.5 \pm 0.01^{\text{ns}}$
NO	12.68 ± 0.58	$17.90 \pm 0.4^{\text{***}}$	$11.78 \pm 1.05^{**}$	$11.86 \pm 1.46^{**}$	$13.66 \pm 0.77^*$	$11.91 \pm 1.03^{***}$	$12.2 \pm 0.7^{***}$	$12.67 \pm 0.4^{***}$
Catalase	9.48 ± 0.69	$7.75 \pm 0.67^{\text{ns}}$	$7.62 \pm 0.99^{\text{ns}}$	$5.24 \pm 1.39^{\text{ns}}$	$6.49 \pm 1.59^{\text{ns}}$	$2.12 \pm 0.16^{\text{ns}}$	$1.95 \pm 0.2^{\text{ns}}$	$7.55 \pm 0.05^{\text{ns}}$

Toutes les données sont exprimées en moyenne $\pm$ SEM (n=6). Le groupe AIA a été comparé avec le groupe normal, $^{\text{***}}$: $p < 0.001$. Les groupes traités de l'étude préventive (pDiclofénac, pEMF et pEMFr) et thérapeutique (tDiclofénac, tEMF et tEMFr) sont comparés avec le groupe AIA. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$, **** : $p < 0.0001$.

5.2.1. Effet sur le malondialdéhyde plasmatique

Le MDA est un aldéhyde réactif formé durant les réactions de la peroxydation lipidique, c'est le résultat d'une production importante d'ROS et d'un déséquilibre des systèmes antioxydants. Il représente le produit majeur de décomposition, dérivé des acides gras polyinsaturés par les peroxydes et est utilisé comme un marqueur pour évaluer le stress oxydatif. Le MDA peut affecter aussi les protéines membranaires par réticulation les rendant inutilisables en tant que récepteurs ou enzymes. Les produits de peroxydation affectent directement ou indirectement de nombreuses fonctions essentielles à l'homéostasie cellulaire et organique. Par exemple, les produits de la peroxydation lipidique peuvent provoquer une réponse immunitaire, déclencher une fibrose ou une inflammation, inactiver les enzymes contenant du thiol ou la mort cellulaire programmée (Moore et Roberts, 1998 ; Li *et al.*, 2018).

Dans nos résultats (**tableau 7**), on a noté aucune différence significative dans la concentration du MDA plasmatique entre le groupe AIA ($0.6 \pm 0.03 \text{ nmol/ml}$) et le groupe normal ($0.52 \pm 0.03 \text{ nmol/ml}$). Le même résultat a été observé après le traitement des rats arthritiques par le

diclofénac (3mg/kg) et les deux extraits étudiés (300 mg/kg) dont on a obtenu aucun effet significatif de *Capparis spinosa* que ce soit préventif ou thérapeutique sur ce marqueur en comparant avec le groupe AIA, sauf l'EMF qui a donné un effet significatif ($p < 0.01$; 0.41 ± 0.01 nmol/ml) en thérapeutique (**tableau 7**).

A l'inverse de nos résultats, plusieurs recherches ont indiqué que le taux de MDA était considérablement élevé chez les rats atteint d'arthrite provoquée par l'injection de l'ACF au niveau articulaire et systémique (Bauerova *et al.*, 2011 ; Akrams *et al.*, 2015 ; Alzarea *et al.*, 2022). Cela prouve qu'il y a une augmentation de la peroxydation lipidique dans les articulations des animaux arthritiques en raison de l'augmentation des radicaux libres et de l'inflammation.

Mansour *et al.*, (2016) ont évalué l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait hydroalcoolique des feuilles de *Capparis spinosa* sur une lignée cellulaire humaine HeLa (lignée cellulaire épithéliale du cancer du col de l'utérus) exposées aux Fe^{2+} ou H_2O_2 . Ils ont observé que le traitement de ces cellules par *Capparis spinosa* a réduit le taux du MDA par rapport aux cellules non traités en raison de la diminution de la peroxydation lipidique. D'autres chercheurs ont examiné l'effet anti-inflammatoire et antioxydant de la partie aérienne de *Capparis spinosa*. Ils ont démontré que cette plante a diminué *in vivo* la production du MDA chez des rats traités par rapport au groupe control qui a manifesté un taux de MDA élevé (Hosseini Ravesh *et al.*, 2024).

5.2.2. Effet sur la production du monoxyde d'azote

L'omniprésence du NO dans l'organisme vivant implique son rôle significatif dans le maintien de la santé du corps. Il assure plusieurs fonctions y compris la régulation du tonus des vaisseaux sanguins, l'inflammation, les fonctions mitochondriales et l'apoptose. Le NO est un radical libre et il est produit de manière endogène par la conversion de la L-arginine en L-citrulline, le NADPH jouant le rôle de donneur d'électrons. La production de NO est catalysée par une famille d'enzymes appelées oxyde nitrique synthases (NOS) qui comprend trois isoformes différentes : eNOS (NOS endothélial ou NOS1), iNOS (NOS inducible ou NOS2) et nNOS (NOS neuronal

ou NOS3). La NOS1 et NOS3 sont exprimées de manière constitutive, tandis que la NOS2 n'est exprimée que dans les cellules activées et est induite par le lipopolysaccharide (LPS) et les cytokines inflammatoires telles que l'IL-1 β , le TNF- α , ou l'IFN- γ . Il a été démontré que les flavonoïdes et les autres composés polyphénoliques présents dans les légumes et les fruits stimulent la production du NO, tandis que d'autres inhibent sa production dans le cas d'inflammation et d'infection (Nagy *et al.*, 2010 ; Ahmed *et al.*, 2020 ; Alqahtany *et al.*, 2023).

Dans cette étude, l'évaluation du NO plasmatique en utilisant la droite standard montre que l'induction de l'inflammation par l'injection de l'ACF a entraîné une augmentation significative ($p < 0.001$) dans la production du NO chez le groupe AIA ($17.90 \pm 0.4\mu\text{M}$) comparativement au groupe normale ($12.68 \pm 0.58\mu\text{M}$), (**tableau 7**).

L'inflammation est un trouble physiologique de l'organisme qui comprend une augmentation des leucocytes et des médiateurs inflammatoires dans les tissus lésés ou envahis par les microorganismes. Les macrophages jouent un rôle important dans la réponse inflammatoire par la production de cytokines pro-inflammatoires tel que l'oxyde nitrique (NO) et les enzymes médiatrices de l'inflammation tel que l'oxyde nitrique synthase et toute surexpression de cette enzyme *via* l'activation des macrophages constitue le mécanisme responsable de la synthèse du NO durant l'inflammation (Suwandi *et al.*, 2021). L'augmentation de la production du NO durant l'inflammation chronique due à la production excessive des cytokines pro-inflammatoires qui stimulent les neutrophiles et activent les macrophages à produire les ROS dans le liquide synovial, joue un rôle important dans la PR (Comar *et al.*, 2013). Associé à d'autres substances réactives, l'ON exerce une importance cruciale dans les dommages articulaires. Le NO est caractérisé par la formation d'espèces d'oxyde nitrique réactives en interagissant avec O₂ et O₂⁻. Parmi ces espèces le peroxynitrite (ONOO⁻) qui médie les effets toxiques les plus graves du NO. Le NO agit comme molécule pro-apoptotique (régulation dose dépendante) car le ONOO⁻ est très réactif et peuvent causer des lésions tissulaires par le biais de dommages oxydatifs aux macromolécules, y compris l'ADN, les protéines et les lipides membranaires. La production

excessive de NO par l'iNOS entraîne aussi des lésions du cartilage en stimulant les chondrocytes à produire des proenzymes qui deviennent des enzymes actives comme les metalloprotéases d'un côté (ces enzymes jouent un rôle significatif dans la destruction de la matrice cartilagineuse dans les maladies arthritiques) ou en réduisant la biosynthèse de l'aggrécane et du collagène d'un autre côté (Panico *et al.*, 2005 ; Nagy *et al.*, 2010, Ahmed *et al.*, 2021).

Chez les groupes traités par le Diclofenac (3mg/kg), une réduction significative ($p < 0.01$) dans la production du NO a été observée par rapport au groupe AIA ($17.90 \pm 0.4 \mu\text{M}$) que ce soit dans le cas de l'étude préventive ($11.78 \pm 1.05 \mu\text{M}$) ou thérapeutique ($11.91 \pm 1.03 \mu\text{M}$). De même le traitement par les deux extraits de la plante a diminué significativement la production du NO chez les rats arthritiques, un résultat qui est obtenu par les deux études préventive (EMF : $11.86 \pm 1.46 \mu\text{M}$, EMFr : $13.66 \pm 0.77 \mu\text{M}$) et thérapeutique (EMF : 12.29 ± 0.7 ; EMFr : 12.67 ± 0.4), (tableau 7).

Des études confirment cet effet protecteur de *Capparis spinosa* sur l'inflammation articulaire. En effet, l'évaluation de l'effet chondroprotecteur *in vitro* de l'extrait méthanolique lyophilisé des bourgeons floraux de *Capparis Spinosa* sur des chondrocytes articulaires humaines stimulées par des cytokines pro-inflammatoire interleukine-1 β a montré une inhibition dose dépendante de la production du NO (Panico *et al.*, 2005). D'autres études ont démontré également que des fractions de *Capparis spinosa* présentent une activité anti-inflammatoire *via* l'inhibition *in vitro* de la production du NO dans les cellules RAW 264.7 stimulées par le lipopolysaccharide. La fraction de chloroforme à une dose de 25 et 50 $\mu\text{g/ml}$ a permis la réduction significative du NO jusqu'à une concentration de 24 ± 1.17 et $16.8 \pm 1.2 \mu\text{M}$, respectivement en comparant avec le taux de NO chez les cellules stimulé par le lipopolysaccharide ($53.9 \pm 1.6 \mu\text{M}$). De même la fraction d'acétate d'éthyle a réduit aussi de manière significative la production du NO à 21 ± 1.79 et $17 \pm 1.19 \mu\text{M}$ avec les deux concentrations utilisées respectivement (Alqahtany *et al.*, 2023). Dans une autre étude, le traitement par *Capparis spinosa* (partie aérienne) à une dose de 100 et

300 mg/kg a présenté des niveaux de NO significativement plus faibles comparativement au groupe de rats atteints de colite (Hosseini Ravesh *et al.*, 2025). Dans cette étude l'effet inhibiteur de *Capparis spinosa* peut être attribué à la présence des flavonoïdes et d'autres polyphénols.

En effet, des investigateurs ont démontré que les flavonoïdes tel que la rutine (bénéfice maximale à la dose 15 mg/kg) peuvent diminuer significativement d'une manière dose dépendante les cytokines sériques pro-inflammatoires tel que TNF α et l'IL-1 β chez les rats atteint d'arthrite par l'injection de l'ACF. Une amélioration significative dans le diamètre des pattes, des lésions histopathologiques et du poids corporel a été observée également chez les rats arthritiques après l'administration de la rutine en comparant aux rats malades non traités (Sun *et al.*, 2017).

5.2.3. Effet sur l'activité de la catalase

La catalase est un antioxydant endogène sous forme d'enzyme, aide les cellules à éviter le stress oxydatif en décomposant le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau (Ali *et al.*, 2024). Chez les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde, les antioxydants, y compris la catalase, connaissent une diminution globale. Chez les animaux de laboratoire atteints d'arthrite adjuvante, les niveaux de catalase sont réduits en raison du stress oxydatif (Handajani et Sukmana, 2024 ; Ali *et al.*, 2024).

Dans notre étude, le groupe malade AIA (7.75 ± 0.67 $\mu\text{mol/mn}$) n'a montré aucune diminution significative de l'activité catalase par rapport au groupe témoin normal (9.48 ± 0.69 $\mu\text{mol/mn}$), (**tableau 7**). De même, les groupes des rats arthritiques traités avec le Diclofenac (3mg/kg) ou les extraits étudiés (300mg/kg) de *Capparis spinosa* n'ont montré aucune variation dans l'activité de cette enzyme en comparant avec le groupe AIA que ce soit pour l'étude préventive ou thérapeutique, (**tableau 7**).

Contrairement à nos résultats, plusieurs études ont montré une diminution significative dans

l'activité de la catalase chez les rats arthritiques en comparant avec le groupe normal et que le traitement par des extraits naturels a augmenté considérablement cette activité (Ali *et al.*, 2024; Handajani et Sukmana, 2024). Tandis que d'autres études concordent avec nos résultats dont aucune différence significative dans l'activité de la catalase sérique chez le control et les groupes traités n'a été enregistrée (Akrams *et al.*, 2015). Des études ont démontré que l'induction de l'arthrite rhumatoïde chez les rats par l'injection de l'ACF entraîne l'augmentation du stress oxydatif et cela peut être conclu à partir des niveaux plus élevés de NO et du MDA trouvés dans l'homogénat hépatique comparativement au groupe normal (Comar *et al.*, 2013). La teneur plus élevée en ROS semble être la conséquence à la fois d'un système pro-oxydant stimulé et d'une défense antioxydante déficiente. Ils ont démontré qu'il existe une reverse corrélation entre le taux du MDA et l'activité de la catalase (MDA élevé, activité catalase épuisé), (Comar *et al.*, 2013).

Des études réalisées par Mansour *et al.*, (2014) montre que l'extrait hydroalcoolique des feuilles de *Capparis spinosa* a un effet dans la restauration de l'activité de la catalase et le rétablissement de l'équilibre pro-oxydant/ antioxydant dans une lignée cellulaire humaine HeLa (lignée cellulaire épithéliale du cancer du col de l'utérus) exposées aux Fe^{2+} ou H_2O_2 et ils ont expliqué ce résultat par la teneur élevée en flavonoïdes et polyphénols présente dans les feuilles de *Capparis spinosa*.

Une autre étude réalisée par Hosseiniravesh *et al.*, (2024) confirme que *Capparis spinosa* (partie aérienne) a permis de réduire efficacement les facteurs de stress oxydatif élevés (MDA, NO et MPO) et d'augmenter les facteurs antioxydants (CAT, SOD et GSH).

5.3. Effet sur la structure Histologique

L'analyse histopathologique est la méthode la plus informative pour examiner les symptômes de l'AIA. Les **figures 38, 39 et 40** illustrent les résultats obtenus des coupes histologiques réalisées

sur l'articulation de la cheville de la patte droite chez tous les rats des différents groupes. Le groupe normal a présenté une histologie de la synovie intacte et préservée, sans aucune indication d'inflammation (hyperplasie synoviale, détérioration du cartilage, infiltration par les leucocytes et apparition du pannus), (**figure 38 a**).

Comparativement aux rats témoins sains, les modifications histopathologiques observées dans l'articulation de la cheville des rats modèles AIA se distinguent par une importante infiltration de cellules inflammatoires dans le tissu synovial, l'apparition de pannus, une hyperplasie synoviale ainsi qu'une dégénérescence du cartilage (**figure 38 b**).

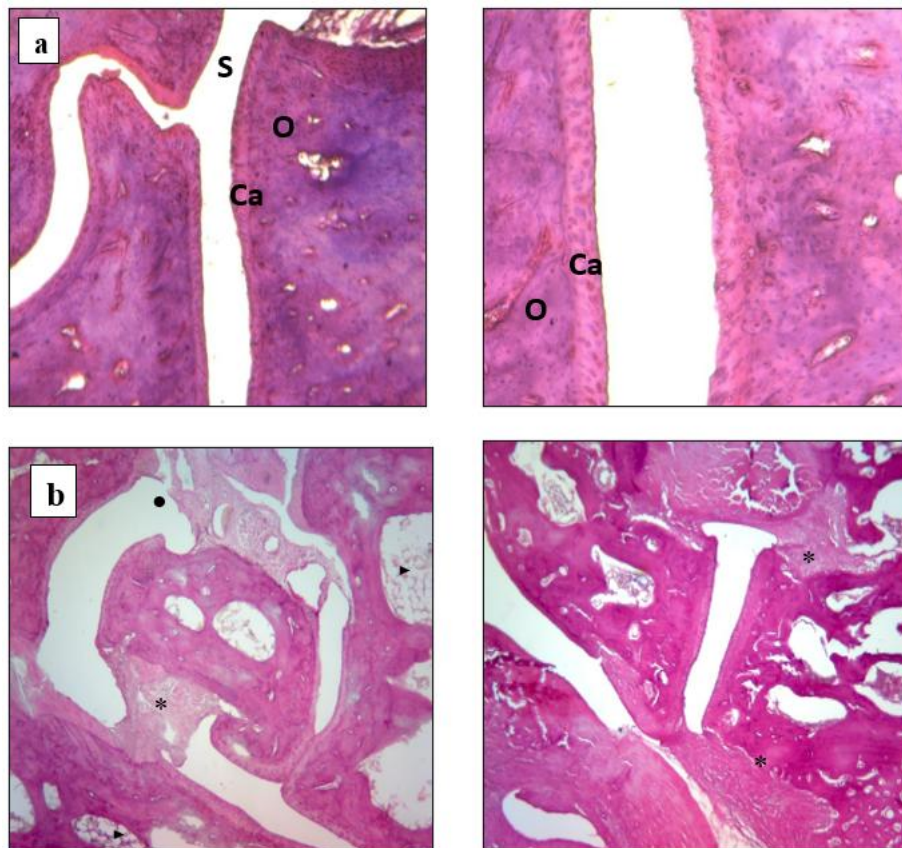


Figure38. Les modifications histopathologiques des articulations de la cheville chez les rats AIA (grossissement : x20, x40). a) groupe control normal, b) groupe AIA. O : os. Ca : cartilage. S : synovial.

► : infiltration des cellules inflammatoires. ● : hyperplasie synoviale.*: formation du pannus.

Ces changements histopathologiques anormaux ont été considérablement atténués chez les rats du modèle AIA après un traitement au Diclofenac (3mg/kg) notamment en préventif dont on a observé un profil histologique très similaire à celui du groupe normal sans formation du pannus, aucune destruction du cartilage et infiltration des cellules minimale (**figure 39 b**).

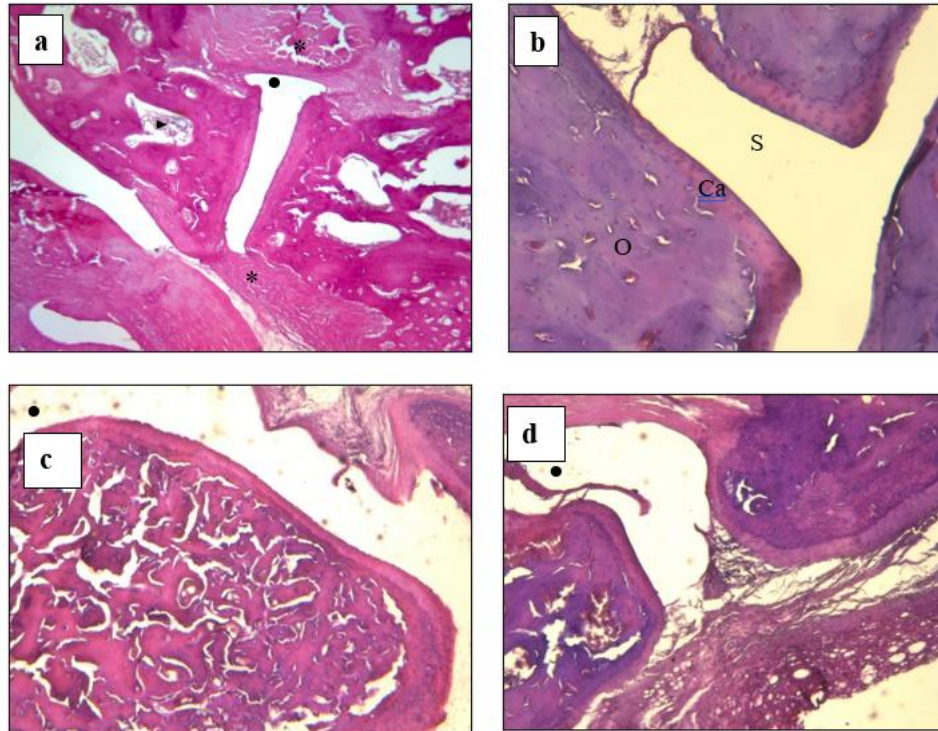


Figure 39. Effet préventif de *Capparis spinosa* sur les modifications histopathologiques des articulations de la cheville chez les rats AIA (grossissement : x20). a) groupe AIA. b) groupe traité par le Diclofenac. c) groupe traité par l'EMF. d) groupe traité par l'EMFr. O : os. Ca : cartilage. S : synovial. ► : infiltration des cellules inflammatoires. ● : hyperplasie synoviale.*: formation du pannus.

Tandis qu'en thérapeutique, le traitement par le Diclofenac n'a pas donné un effet similaire à celui obtenu en préventif où une infiltration des cellules a été observée et aussi une hyperplasie synoviale (**figure 40 b**).

Le traitement préventif par l'EMF et l'EMFr à une dose de 300 mg/kg a montré un effet protecteur sur les rats arthritiques dont on a observé l'absence de formation du pannus et une

amélioration dans l'infiltration des cellules inflammatoires par rapport au groupe AIA (**figure 39 c et d**).

Alors que le traitement par ces deux mêmes extraits en thérapeutique à partir du J10 après l'induction de l'arthrite par l'ACF n'a pas donné un effet protecteur significatif en comparant avec le groupe AIA et que ce soit l'amélioration achevée, cette dernière reste moins importante que celle obtenu en préventif. En effet, l'observation des coupes histologiques a montré une hyperplasie synoviale et une infiltration importante des cellules inflammatoire (**figure 40 c et d**). Sur la base de ces observations, il est évident que le traitement préventif avec les extraits de *Capparis spinosa* a conduit à une amélioration de l'atteinte articulaire comparée au groupe AIA.

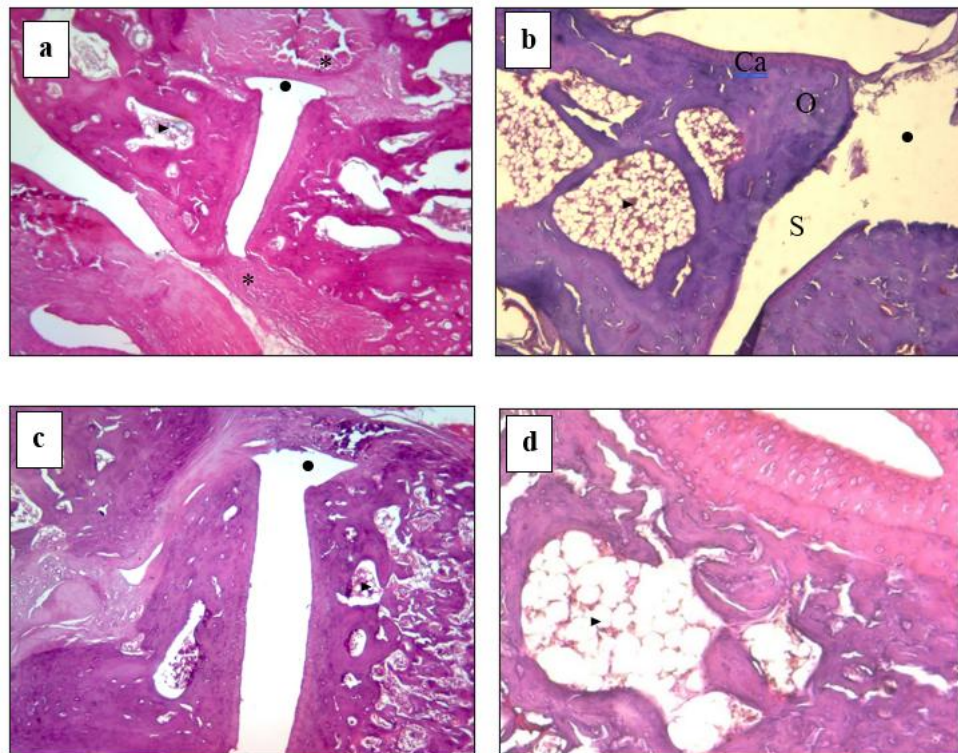


Figure 40. Effet thérapeutique de *Capparis spinosa* sur les modifications histopathologiques des articulations de la cheville chez les rats AIA (grossissement : x20). a) groupe AIA, b) groupe traité par le Diclofenac. c) groupe traité par l'EMF. d) groupe traité par l'EMFr. O : os. Ca : cartilage. S : synovial. ► : infiltration des cellules inflammatoires ; ● : hyperplasie synoviale ; * : formation du panus.

Une élimination presque complète de l'inflammation a été obtenue chez les rats traités au Diclofenac en préventif. On a observé une persistance de l'inflammation chez les groupes traités de manière curative. Ceci est en accord avec les résultats obtenus dans le cadre de l'évaluation de l'effet de la plante sur l'épaisseur de l'œdème des pattes et le score arthritique, ainsi sur la vitesse de sédimentation des érythrocytes. Il est possible que de meilleurs résultats peuvent être obtenu si nous avions commencé le traitement curatif plus tôt, le jour 8 par exemple.

L'activité anti-arthrite des extraits de *Capparis spinosa* observée dans notre étude peut être attribuée à la présence de composés phénoliques contenus dans le fruit et la feuille de cette plante. Divers stimuli inflammatoires tels que l'excès de ROS produits au cours du métabolisme oxydatif ont été signalés comme déclenchant le processus inflammatoire entraînant la synthèse et la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires (Hussain *et al.*, 2016). Les composés phénoliques et les flavonoïdes peuvent interagir avec les ROS et mettre fin à la réaction en chaîne avant que la viabilité cellulaire ne soit sérieusement affectée (Hussain *et al.*, 2016). Les activités antioxydantes des polyphénols sont liées à leur capacité à piéger une large gamme de ROS. En effet, les mécanismes impliqués dans la capacité antioxydante des polyphénols comprennent la suppression de la formation des ROS par l'inhibition de l'activité des oxydase spécifique (lipoxigénase, cyclooxygénase et xanthine oxydase qui sont des enzymes responsables de la catalysation de la production d'oxydes actifs pendant l'inflammation et le stress oxydatif tels que les leukotriènes et l'oxyde nitrique) impliquées dans leur production, le piégeage des ROS, la régulation à la hausse ou la protection des défenses antioxydantes comme SOD, GPx et la CAT (Hussain *et al.*, 2016 ; Sun *et al.*, 2024). Les polyphénols peuvent affecter les systèmes enzymatiques qui sont impliqués dans les processus d'activation cellulaire tel que la prolifération des cellules T et l'activation des lymphocyte B (tyrosine et serine thréonine kinase) (Hussain *et al.*, 2016). Les polyphénols inhibent la production des médiateurs inflammatoires sécrétés par les macrophages et les monocytes tel que les PGE2, TNF α , IL-1 et IL-6 (González *et al.*, 2011).

De plus, les polyphénols régulent les voies de signalisation intracellulaires en inhibant l'activation du NFκB, un facteur de transcription clé qui régule l'expression de gènes inflammatoires impliqués dans l'immunité cellulaire, l'inflammation, le stress, la prolifération et l'apoptose (Bitler *et al.*, 2005). Les polyphénols modulent également la signalisation MAPK et la signalisation de l'acide arachidonique pour réduire la réponse inflammatoire à différents niveaux, notamment en bloquant la libération de TNF-α (Yahfoufi *et al.*, 2018).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Cette recherche avait pour objectif de déterminer le contenu phénolique des extraits méthanoliques de différentes parties de *Capparis spinosa* et d'examiner leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antiarthritiques.

L'étude phytochimique a montré que tous les extraits présentent une teneur considérable en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins notamment l'extrait méthanolique des feuille (EMF).

L'exploration de l'activité antioxydante a montré que l'EMF piège efficacement les espèces DPPH et ABTS et a réduit les ions ferreux par rapport aux autres extraits des fruits et des tiges (EMT et EMFr), le résultat qui peut être expliqué par sa richesse en polyphénols. Par ailleurs les trois extraits inhibent l'oxydation du B-carotène presque de façon similaire.

Dans l'étude anti-inflammatoire aigue, l'EMF et l'EMFr ont montré d'importants effets inhibiteurs sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène et l'huile de croton chez la souris et l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat. Tandis que l'EMT n'a pas donné un effet anti-œdémateux significatif sur ce type d'inflammation, c'est pour cette raison que l'étude de l'inflammation chronique induite par l'adjuvant complet de Freund (AIA) a été axée sur l'évaluation de l'effet de l'EMF et l'EMFr seulement. Dans la présente étude nous avons démontré que l'AIA peut être traitée par ces deux extraits en préventif, tandis que ces deux mêmes extraits n'ont pas donné un effet thérapeutique significatif.

Cette étude représente une contribution scientifique qui soutient, encourage et justifie l'utilisation traditionnelle de cette plante. Cependant, d'autres études doivent être menées principalement la réalisation d'étude approfondie de la composition chimique de la plante par l'HPLC. Il serait aussi pertinent d'explorer les huiles essentielles de *Capparis spinosa*, qui est

une plante aromatique. Provoquer l'arthrite par d'autres protocoles en utilisant le collagène pure ou purifié, pour but d'une meilleure compréhension de la physiopathologie de l'AR, constitue aussi l'une des points que nous aspirons à réaliser à l'avenir. Enfin doser les cytokines pro-inflammatoires telles que TNF- α , l'IL-1, l'IL-6, l'IL-17 et l'interféron IFN- γ dans le plasma prélevé des modèles animaux par la technique d'ELISA afin de confirmer l'arthrite provoquée.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdelouhab, K., Rafa, H., Toumi, R., Bouaziz, S., Medjeber, O., & Touil-Boukoffa, C. (2012). Mucosal intestinal alteration in experimental colitis correlates with nitric oxide production by peritoneal macrophages : Effect of probiotics and prebiotics. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 34(4), 590-597.
- Abdolvahed Safarzaei, A. S., Esmacilzadeh kenari, R., & Farahmandfar, R. (2023). Optimization of aqueous extraction conditions of phenolic and antioxidant compounds of Caper (*Capparis spinosa*) leaves and roots using response surface. *Journal of Food Science and Technology(Iran)*, 20(138).
- Aghel, N., Rashidi, I.& Mombeini, A. (2007). Hepatoprotective Activity of *Capparis spinosa* Root Bark Against CCl₄ Induced Hepatic Damage in Mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 6 (4), 285-290.
- Ahmad, N., Ansari, M. Y., & Haqqi, T. M. (2020). Role of iNOS in osteoarthritis : Pathological and therapeutic aspects. *Journal of Cellular Physiology*, 235(10), 6366-6376.
- Aichour, R., Benzidane, N., Arrar, L., Charef, N., & Baghiani, A. (2018). Hepatoprotective and Anti-inflammatory Activities of Algerian *Capparis spinosa*. L. *Annual Research & Review in Biology*, 25(3), 1-12.
- Akramas, L., Leonavičienė, L., Vasiliauskas, A., Bradūnaitė, R., Vaitkienė, D., Zabulytė, D., Normantienė, T., Lukošius, A., & Jonauskienė, I. (2015). Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of herbal preparation EM 1201 in adjuvant arthritic rats. *Medicina*, 51(6), 368-377.
- Aletaha, D.& Smolen, J. S. (2018). Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis : A Review. *JAMA*, 320(13), 1360.
- Ali, A., Saadullah, M., Fakhar-e-Alam, M., Siddique, R.& Atif, M. (2024). Appraisal of the anti-arthritic potential of *Strelitzia reginae* inWistar rats via modulating molecular inflammatory cascadesIL-6,IL-17a, IL-1β,TNF-α, IFN-γ, RANKL, OPG, and IL-4 and attenuating oxidative stress biomarkers. *Journal of King Saud University - Science*, 36(8), 103315.
- Ali, A., Saadullah, M., Fakhar-e-Alam, M., Siddique, R., & Atif, M. (2024). Appraisal of the anti-arthritic potential of *Strelitzia reginae* inWistar rats via modulating molecular inflammatory cascadesIL-6,IL-17a, IL-1β,TNF-α, IFN-γ, RANKL, OPG, and IL-4 and attenuating oxidative stress biomarkers. *Journal of King Saud University - Science*, 36(8), 103315.
- Allaith, A. A. A. (2016). Assessment of the antioxidant properties of the caper fruit (*Capparis spinosa* L.) from Bahrain. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 19(1), 1-7.
- AlMousa, L.A., AlFaris, N. A., Alshammari, G.M., ALTamimi, J. Z., Alsyadi, M. M., Alagal, R.I. &Yahya,M.A. (2022). Antioxidant and antimicrobial potential of two extracts from *Capparis spinosa* L. and *Rumex nervosus* and molecular docking investigation of selected major compounds. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29, 1-10, 103346.
- Alpízar-Rodríguez, Deshiré., Pluchino, N. Canny, G., Gabay, C.& Finckh, Ax. (2016). The role of female hormonal factors in the development of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 1-10.
- Alqahtani, A.S., Nasr, F. A., Ahmed, M. Z., Bin Mansour, M. Y., Biksmawi, A. A., Noman, O. M., Herqash, R. N., Al-zharani, M., Qurtam, A. A.&Rudayni, H. A. (2023). In vitro protective and anti-inflammatory effects of *Capparis spinosa* and its flavonoids profile. *Open Chemistry*,21, 1-9, 20230186.
- Al-Snafi, A. E. (2015). The chemical constituents and pharmacological effects of *capparis spinosa* -an overview. *Indian Journal of Pharmaceutical Science & Research*, 5(2) 93-100.
- Alzarea, S. I., Alasmari, A. F., Alanazi, A. S., Alzarea, A. I., Alharbi, M., Alshammari, A., Kazmi, I., Aljoufi, F. A., Sayyed, N., & Afzal, M. (2022). Butin Attenuates Arthritis in Complete Freund's Adjuvant-Treated Arthritic Rats : Possibly Mediated by Its Antioxidant and Anti-Inflammatory Actions. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 810052.

- Amamra, A., Charef, N., Arrar, L., Belhaddad, O., Khenouf, S., Zaim, K. & Baghiani, A. (2018). Phenolic Content, Antioxidant and Antibacterial Effects of Fruit Extracts of Algerian Ash, *Fraxinus excelsior*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80(6), 1021-1028.
- Amraoui, N., Mayouf, N., Charef, N., Baghiani, A. & Arrar, L. (2021). Antioxidant, anti-inflammatory and anti-arthritic activities of methanol extract of *Tamus communis* L. roots. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 18(7), 1499-1506.
- Antwi-Adjei, M., Owusu, G., & Ameade, E. P. K. (2017). Aqueous extract of *Lannea microcarpa* attenuates dextran sulphate-induced paw oedema and xylene-induced ear oedema in rodents. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, 6(5), 1048.
- Arrar, L., Benzidane, N., Krache, I., Charef, N., Khenouf, S. & Baghiani, A. (2013). Comparison between polyphenol contents and antioxidant activities of different parts of *Capparis spinosa* L. *Pharmacognosy Communications*, 3(2), 70-74.
- Baghiani, A., Ameni, D., Boumerfeg, S., Adjadj, M., Djarmouni, M., Charef, N., Khenouf, S. & Arrar, L. (2012). Studies of Antioxidants and Xanthine Oxidase Inhibitory Potentials of Root and Aerial Parts of Medicinal Plant *Capparis Spinosa* L. *American Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2(1), 25-32.
- Banji, D., Pinnapureddy, J., Banji, Otilia J. F., Kumar, Ar., Reddy, Kn. (2011). Evaluation of the concomitant use of methotrexate and curcumin on Freund's complete adjuvant-induced arthritis and hematological indices in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 43(5), 546.
- Banko, A., Cirkovic, A., Jeremic, I., Basaric, M., Grk, M., Miskovic, R., Lazarevic, I. & Miljanovic, D. (2023). Uncovering the Role of Epstein–Barr Virus Infection Markers for Remission in Rheumatoid Arthritis. *Biomedicines*, 11(9), 2375.
- Bao, Y., Sun, Y.-W., Ji, J., Gan, L., Zhang, C.-F., Wang, C.-Z., & Yuan, C.-S. (2019). Genkwanin ameliorates adjuvant-induced arthritis in rats through inhibiting JAK/STAT and NF- κ B signaling pathways. *Phytomedicine*, 63, 1-10, 153036.
- Barnig C, Frossard N & Levy B. D. (2018). Towards targeting resolution pathways of airway inflammation in asthma. *Pharmacology & Therapeutics*, 186, 98-113.
- Bauerová, K., Poništ, S., Mihalová, D., Dráfi, F., & Kuncířová, V. (2011). Utilization of adjuvant arthritis model for evaluation of new approaches in rheumatoid arthritis therapy focused on regulation of immune processes and oxidative stress. *Interdisciplinary Toxicology*, 4(1).
- Beldi, H., Gali, L., Benbott, A., Boudechicha, A., Bensouici, C., Yahia, A., & Benzidane, N. (2022). Variation of Phenolic Content and Bioactivity between the Different Organs of the Algerian *Capparis Spinosa* L. *Indian Journal of Novel Drug Delivery*, 14(3), 164-173.
- Bensakhria, A., (2018). Le stress oxydatif. *Toxicologie Générale*, 16, 70-86.
- Benzidane, N., Charef, N., Krache, I., Baghiani, A. & Arrar, L. (2013) In vitro bronchorelaxant effects of *Capparis spinosa* aqueous extracts on rat trachea. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(09), 085-088.
- Bitler, C. M., Viale, T. M., Damaj, B., & Crea, R. (2005). Hydrolyzed Olive Vegetation Water in Mice Has Anti-Inflammatory Activity. *The Journal of Nutrition*, 135(6), 1475-1479.
- Bochen, K., Krasowska, A., Milaniuk, S., Kulczyńska, M., Prystupa, A., & Dzida, G. (2011) Erythrocyte sedimentation rate – an old marker with new applications. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 5(2), 50-55.
- Bouaziz, A., Khenouf, S., Zarga, M. A., Abdalla, S., Baghiani, A. & Charef, N. (2015). Phytochemical analysis, hypotensive effect and antioxidant properties of *Myrtus communis* L. growing in Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(1), 19-28.
- Cai, X., Wong, Y.F., Zhou, H., Xie, Y., Liu, Z.Q., Jiang, Z.H., Bian, Z.X., Xu, H.X. & Liu L (2006). The comparative study of Sprague–Dawley and Lewis rats in adjuvant-induced arthritis. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 373, 140–147.

- Çaliş, İ., Kuruüzüm, A., & Rüedi, P. (1999). 1H-Indole-3 acetonitrile glycosides from Capparis spinosa fruits. *Phytochemistry*, 50(7), 1205-1208.
- Calis, I., Kuruuzum, A., Lorenzetto, P.A. & Ruedi, P. (2002) (6S)-Hydroxy-3- oxo- a-ionol glucosides from Capparis spinosa fruits. *Phytochemistry*, 59,451–457.
- Cascão, R., Vidal, B., Raquel, H., Neves-Costa, A., Figueiredo, N., Gupta, V., Fonseca, J. E., & Moita, L. F. (2012). Effective treatment of rat adjuvant-induced arthritis by celastrol. *Autoimmunity Reviews*, 11(12), 856-862.
- Chandran, R., & Abrahamse, H. (2020). Identifying Plant-Based Natural Medicine against Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-9.
- 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. *Frontiers in Plant Science*, 8,1-18.
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X.& Zhao, L. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204-7218.
- Choudhary, N., Bhatt, L. K., & Prabhavalkar, K. S. (2018). Experimental animal models for rheumatoid arthritis. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 40(3), 193-200.
- Comar, J. F., Babeto De Sá-Nakanishi, A., De Oliveira, A. L., Marques Nogueira Wendt, M., Bersani Amado, C. A., Ishii Iwamoto, E. L., Peralta, R. M., & Bracht, A. (2013). Oxidative state of the liver of rats with adjuvant-induced arthritis. *Free Radical Biology and Medicine*, 58, 144-153.
- Darrah, E., Giles, J. T., Davis, R. L., Naik, P., Wang, H., König, M. F., Cappelli, L. C., Bingham, C. O., Danoff, S. K.&Andrade, F. (2018). Autoantibodies to Peptidylarginine Deiminase 2 Are Associated With Less Severe Disease in Rheumatoid Arthritis. *Frontiers in Immunology*, 9, 1-9, 2696.
- de Almeida, D. E., Ling, S.& Holoshitz, J. (2011). New insights into the functional role of the rheumatoid arthritis shared epitope. *FEBS Letters*,585(23), 3619-3926.
- Deane, K. D., Demoruelle, M. K., Kelmenson, L. B., Kuhn, K. A., Norris, J. M.& Holers, V. M. (2017). Genetic and environmental risk factors for rheumatoid arthritis. Best Practice & Research *Clinical Rheumatology*, 31(1), 3-18.
- Di Paola, R.& Cuzzocrea, S. (2008). Predictivity and sensitivity of animal models of arthritis. *Autoimmunity Reviews*, 8(1), 73-75.
- Dirar, A.I., Alsaadi, D.H.M., Wada, M., Mohamed, M.A., Watanabe, T.& Devkota, H.P. (2018). Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 1-7.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y.-H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296-302.
- Dong, J.-W., Cai, L., Xing, Y., Yu, J., & Ding, Z.-T. (2015). Re-evaluation of ABTS•+ Assay for Total Antioxidant Capacity of Natural Products. *Natural Product Communications*, 10(12), 2169 – 2172.
- Dorward, D., A., Lucas, C. D., Rossi, A. G., Haslett C. & Dhaliwal, K. D.A. (2012). Imaging inflammation: Molecular strategies to visualize key components of the inflammatory cascade, from initiation to resolution. *Pharmacology & Therapeutics*,135 (2012) 182–199.
- Duan, X., Wu, G. & Jiang, Y. (2007) Evaluation of the Antioxidant Properties of Litchi Fruit Phenoli in Relation to Pericarp Browning Prevention. *Molecules*, 12, 759-771.
- Eidi, A., Oryan, S., Zaringhalam, J., & Rad, M. (2016). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the aerial parts of *Artemisia dracunculus* in mice. *Pharmaceutical Biology*, 54(3), 549-554.
- El Azhary, K., Tahiri Jouti, N., El Khachibi, M., Moutia, M., Tabyaoui, I., El Hou, A., Achtak, 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 Complementary and Alternative Medicine*,

- 17(1), 81.
- Engdahl, C., Jochems, C., Windahl, S. H., Borjesson, A. E., Ohlsson, C., Carlsten, H. & Lagerquist M. K. (2010). Amelioration of collagen-induced arthritis and immune-associated bone loss through signaling via estrogen receptor α , and not estrogen receptor β or g protein-coupled receptor 30. *Arthritis and Rheumatism*, 62(2), 524-533.
- Fadili, K., Zerkani, H., Amalich, S. & Zair, T. (2017). Phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of leaves and fruits of capparisspinosal. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 108-118.
- Fallah Huseini, H., Hasani-Rnjbar, S., Nayeibi, N., Heshmat, R., Sigaroodi, F. K., Ahvazi, M., Alaei, B. A. & Kianbakht, S. (2013). Capparisspinosa L. (Caper) fruit extract in treatment of type 2 diabetic patients : A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Complementary Therapies in Medicine*, 21(5), 447-452.
- Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales pharmaceutiques françaises*, 64(6), 390-396.
- Feng, X., Lu, J., Xin, H., Zhang, L., Wang, Y. & Tang, K. (2011). Anti-arthritis Active Fraction of Capparisspinosa L. Fruits and Its Chemical Constituents. *YAKUGAKU ZASSHI*, 131(3), 423-429.
- Gao, Y., Zhang, Y. & Liu, X. (2024). Rheumatoid arthritis : Pathogenesis and therapeutic advances. *Med Comm*, 5(3), e509, 1-24.
- Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D. & Abedinzadeh, Z. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *actualité chimique*, 91-96.
- Gierut, A., Perlman, H. & Pope, R. M. (2010). Innate Immunity and Rheumatoid Arthritis. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 36(2), 271-296.
- Gomes, A., Datta, P., Das, T., Biswas, A. K. & Gomes, A. (2014). Anti arthritic and anti inflammatory activity of a cytotoxic protein NN-32 from Indian spectacle cobra (Naja naja) venom in male albino rats. *Toxicon*, 90, 106-110.
- González, R., Ballester, I., López-Posadas, R., Suárez, M. D., Zarzuelo, A., Martínez-Augustin, O., & Medina, F. S. D. (2011). Effects of Flavonoids and other Polyphenols on Inflammation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 331-362.
- Grimalt, M., Legua, P., Hernández, F., Amorós, A., & Almansa, M. S. (2019). Antioxidant Activity and Bioactive Compounds Contents in Different Stages of Flower Bud Development from Three Spanish Caper (Capparisspinosa) Cultivars. *The Horticulture Journal*, 88(3), 410-419.
- Guemmaz, T., Arrar, L., Namoune, I. & Baghiani, A. (2020). Chelation Activity, Hydroxyl Radicals and Hydrogen Peroxide Scavenging and Anti-Inflammatory Properties of Algerian Xanthium Strumarium Leaf Extracts. *Indian Journal of Novel Drug Deliver*, 12(3):141-149.
- Guemmaz, T., Zerargui, F., Boumerfeg, S., Arrar, L., Aouachria, S., Khennouf, S., Charef, N., & Baghiani, A. (2018). Anti-hemolytic, Anti-lipid Peroxidation, Antioxidant Properties and Acute Toxicity of Xanthium strumarium Leaves Extracts. *Annual Research & Review in Biology*, 24(3), 1-12.
- Gull, T., Anwar, F., Sultana, B., Alcayde, M. A. C. & Nouman, W. (2015). Capparisspecies : A potential source of bioactives and high-value components: A review. *Industrial Crops and Products*, 67, 81-96.
- Habib, A., Kalam, M. A., Rifat, I., Qayoom, I. & Naved, M. (2022). KABAR (CAPPARISSPINOSA L.): Pharmacological action and therapeutic uses in the perspective of unani medicine: a review. *European Journal of Pharmaceutical and Medical research*, 9(12), 209-216.
- Hajimehdiipoor, H., Rajabi, S., Jafari, F., & Keramatian, B. (2024a). The Effect of Capparisspinosa on Inflammatory Responses in a Mouse Model of Allergic Asthma. *Research Journal of Pharmacognosy*, 11(3).
- Hamahmi, N. & Toumi, F.Z. (2014) La prise en charge thérapeutique de la polyarthrite rhumatoïde et la place de la biothérapie en Algérie. <http://dspace.univtlemcen.dz/handle/112/7823>.
- Handajani, F., & Sukmana, J. (2024). The Effect of Tuna Extract on Periarticular Tissue Catalase Activity and

- Malondialdehyde Levels in Animal Models of Adjuvant Arthritis. *eJournal Kedokteran Indonesia*, 12(1), 16.
- Hashim, Z. M.& Abdulameer, K. A. (2024). The Effects of -806 T/C and -857 T/C Single Nucleotide Polymorphisms in the TNF- α Gene on Rheumatoid Arthritis Severity and Inflammatory Markers. *Al-Rafidain Journal of Medical Sciences*, 6(1), 188-194.
- Hegazy, A. E., & Ibrahim, M. I. (2012). Antioxidant Activities of Orange Peel Extracts. *World Applied Sciences Journal*, 18 (5): 684-688.
- Holmdahl, R., Lorentzen, J. C., Lu, S., Olofsson, P., Wester, L., Holmberg, J., & Pettersson, U. (2001). Arthritis induced in rats with non-immunogenic adjuvants as models for rheumatoid arthritis. *Immunological Reviews*, 184(1), 184-202.
- Hosseini Ravesh, F., Ghalibaf, A. M., Askari, V. R., Fayedeh, F., Rahimi, V. B., Etemad, L., & Taherzadeh, Z. (2024). Therapeutic potential of Capparis spinosa in experimental model of acute acetic acid-induced colitis : Anti-inflammatory and antioxidant effects. *Heliyon*, 10(12), 32836.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- Huang, J.-B., Chen, Z.-R., Yang, S.-L.& Hong, F.-F. (2023). Nitric Oxide Synthases in Rheumatoid Arthritis. *Molecules*, 28(11), 4414.
- Hue, S.-M., Boyce, A. N., & Somasundram, C. (2012). Antioxidant activity, phenolic and flavonoid contents in the leaves of different varieties of sweet potato (Ipomoea batatas). *Australian Journal Of Crop Science*, 6(3):375-380.
- Hussain T, Tan B, Yin Y, Blachier F, Tossou M. C. B., & Rahu N. (2016). Oxidative Stress and Inflammation : What Polyphenols Can Do for Us?. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, (9), 7432797.
- Igbe I, Ching FP& Eromon A. (2010) Anti-inflammatory activity of aqueous fruit pulp extract of Hunteria umbellata K. Schum in acute and chronic inflammation. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 67: 81-85.
- Jahid, M., Khan, K. U., Rehan-Ul-Haq& Ahmed, R. S. (2023). Overview of Rheumatoid Arthritis and Scientific Understanding of the Disease. *Mediterranean Journal of Rheumatology*, 34(3), 284.
- Jain, P., Pandey, R.& Shukla, S. S. (2015). Inflammation : Natural Resources and Its Applications. *Springer India*.
- Jalebawi, R. J. A. & Chyad, A. H. (2022) Evaluation of antiarthritic activity of Capparis spinosa L. roots ex- tract in complete freund's adjuvant induced arthritis in mice. *Revista Bionatura*, 13, 1-10.
- Juan, C.A., Pérez de la Lastra, J.M., Plou, F.J.& Pérez-Lebeña, E. (2021). The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *International Journal of Molecular science*, 22, 1-21, 4642.
- Kalantari, H., Foruozaandeh, H., Khodayar, M. J., Siahpoosh, A., Saki, N., & Kheradmand, P. (2018). Antioxidant and hepatoprotective effects of Capparis spinosa L. fractions and Quercetin on tert-butyl hydroperoxide-induced acute liver damage in mice. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 8(1), 120-127.
- Karak, P. (2019). Biological activities of flavonoids: an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(4): 1567-1574.
- Karbab, A., Mokhnache, K., Ouhida, S., Charef, N., Djabi, F., Arrar, L.& Mubarak, M. S. (2020). Anti-inflammatory, analgesic activity, and toxicity of Pituranthos scoparius stem extract: An ethnopharmacological study in rat and mouse models. *Journal of Ethnopharmacology*, 258, 1-10, 112936.
- Karim, N., Khan, I., Khan, W., Khan, I., Khan, A., Halim, S. A., Khan, H., Hussain, J.& Al-Harrasi, A. (2019). Anti-nociceptive and Anti-inflammatory Activities of Asparacosin A Involve Selective Cyclooxygenase 2 and Inflammatory Cytokines Inhibition: An in-vitro, in-vivo, and in-silico Approach. *Frontiers in Immunology*, 10, 1-11, 581.
- Kataria, S. & Kaur, D. (2013). Ethnopharmacological approaches to inflammation-exploring medicinal plants.

- Indian Journal of Natural Products and Resources*. 4(3), 295-305.
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412-422.
- Kernouf, N., Bouriche, H., Kada, S., Messaoudi, D., Assaf, A. & Senator, A. (2018). Anti-inflammatory and Immuno-modulatory Effects of Capparis spinosa Flower Bud Extract. *Annual Research & Review in Biology*, 25(3), 1-11.
- Kiss, A. L. (2022). Inflammation in Focus : The Beginning and the End. *Pathology and Oncology Research*, 27, 1610136.
- Koushki, K., Shahbaz, S. K., Mashayekhi, K., Sadeghi, M., Zayeri, Z. D., Taba, M. Y., Banach, M., Al-Rasadi, K., Johnston, T. P. & Sahebkar, A. (2021). Anti-inflammatory Action of Statins in Cardiovascular Disease : The Role of Inflammasome and Toll-Like Receptor Pathways. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 60(2), 175-199.
- Krimat, S., Metidji, H., Tigrine, C., Dahmane, D., Nouasri, A., & Dob, T. (2017). Analyse chimique, activités antioxydante, anti-inflammatoire et cytotoxique d'extrait hydrométhanolique d'*Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 1-8.
- Kulisic-Bilusic, T., Blažević, I., Dejanović, B., Miloš, M., & Pifat, G. (2010). Evaluation of the Antioxidant activity of essential oils from caper (*capparis spinosa*) and sea fennel (*crithmum maritimum*) by different methods : antioxidant activity of essential oil of caper and sea fennel. *Journal of Food Biochemistry*, 34, 286-302.
- Kuncha, M., Naidu, V. G. M., Sahu, B. D., Gadepalli, S. G. & Sistla, R. (2014). Curcumin potentiates the anti-arthritic effect of prednisolone in Freund's complete adjuvant-induced arthritic rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 66(1), 133-144.
- Lakache, Z., Tigrine, C., Aliboudhar, H., & Kameli, A. (2021). Composition chimique, activités anti-inflammatoire, antalgique et cytotoxique in vivo de l'extrait méthanolique des feuilles d' *Olea europaea*. *Phytothérapie*, 19(2), 83-92.
- Li, A.-N., Li, S., Zhang, Y.-J., Xu, X.-R., Chen, Y.-M., & Li, H.-B. (2014). Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols. *Nutrients*, 6(12), 6020-6047.
- Li, S., Hong, M., Tan, H.-Y., Wang, N., & Feng, Y. (2016). Insights into the Role and Interdependence of Oxidative Stress and Inflammation in Liver Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, (1), ARTICLE 4234061.
- Li, F., Li, H., Luo, S., Ran, Y., Xie, X., Wang, Y., Zheng, M., Wang, M., Zhao, Z., & Li, X. (2018). Evaluation of the effect of andrographolide and methotrexate combined therapy in complete Freund's adjuvant induced arthritis with reduced hepatotoxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106, 637-645.
- Lin, Y.-J., Anzaghe, M., & Schülke, S. (2020). Update on the Pathomechanism, Diagnosis, and Treatment Options for Rheumatoid Arthritis. *Cells*, 9(4), 1-20, 880.
- Liu, C., Li, Y., Wen, C., Yan, Z., Olatunji, O. J. & Yin, Z. (2022). Dehydrozingerone Alleviates Hyperalgesia, Oxidative Stress and Inflammatory Factors in Complete Freund's Adjuvant-Induced Arthritic Rats. *Drug Design, Development and Therapy*, 16, 3015-3022.
- Liu, H.-J., Yang, T., Cheng, X.-M., & Wang, C.-H. (2014). Comparative evaluation of anti-inflammatory and analgesic activities of various medicinal parts of *capparis spinosa*: a consideration of ecological environment and resource conservation. *Indian Journal of Pharmaceutical Science & Research*, 4, 53-59.
- Liu, Y., Lin, H., Zou, R., Wu, J., Han, R., Raymond, L. N., Reid, P. F., & Qin, Z. (2009). Suppression of complete Freund's adjuvant-induced adjuvant arthritis by cobra toxin. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30(2), 219-227.
- Luo, S., Li, H., Liu, J., Xie, X., Wan, Z., Wang, Y., Zhao, Z., Wu, X., Li, X., Yang, M., & Li, X. (2020). Andrographolide ameliorates oxidative stress, inflammation and histological outcome in complete Freund's adjuvant-induced arthritis. *Chemico-Biological Interactions*, 319, 108984.
- Madhava Naidu, M., Shyamala, B. N., Pura Naik, J., Sulochanamma, G., & Srinivas, P. (2011). Chemical

- composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds. *LWT - Food Science and Technology*, 44(2), 451-456.
- Malencic, D., Maksimovic, Z., Popovic, M. & Miladinovic, J. (2008). Polyphenol contents and antioxidant activity of soybean seed extracts. *Bioresource Technology*, 99, 6688–6691.
- Mansour, R. B., Jilani, I. B. H., 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(1), 135-142.
- Mayouf, N., Charef, N., Saoudi, S., Baghiani, A., Khennouf, S. & Arrar, L. (2019). Antioxidant and anti-inflammatory effect of *Asphodelus microcarpus* methanolic extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 239, 111914.
- Mazarei, F., Jooyandeh, H., Noshad, M. & Hojjati, M. (2017). Polysaccharide of caper (*Capparis spinosa* L.) Leaf : Extraction optimization, antioxidant potential and antimicrobial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 224-231.
- McCarty, S., Syed, F. & Bayat, A. (2010). Role of the HLA system in the pathogenesis of Dupuytren's disease. *Hand*, 5(3), 241-250.
- Meddour, A., Yahia, M., Benkiki, N., & Ayachi, A. (2013). Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *capparis spinosa* L. *Lebanese Science Journal*, 14(1), 49-60.
- Meir, S., Kanner, J., Akiri, B. & Philosoph-Hadas, S. (1995). Determination and Involvement of Aqueous Reducing Compounds in Oxidative Defense Systems of Various Senescing Leaves. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 43, 1813-1819.
- Migdal, C. & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
- Milatovic, D., Zaja-Milatovic, S. & Gupta, R. C. (2019). Biomarkers of Oxidative/Nitrosative Stress and Neurotoxicity. In *Biomarkers in Toxicology*, 1013-1031.
- Mohebbali, N., Shahzadeh Fazeli, S. A., Ghafoori, H., Farahmand, Z., MohammadKhani, E., Vakhshiteh, F., Ghamarian, A., Farhangniya, M., & Sanati, M. H. (2018). Effect of flavonoids rich extract of *Capparis spinosa* on inflammatory involved genes in amyloid-beta peptide injected rat model of Alzheimer's disease. *Nutritional Neuroscience*, 21(2), 143-150.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2), 211-219.
- Moore, K., et Roberts L.J. (1998). Measurement of Lipid Peroxidation. *Free Rad Res.*, 28, 659-671.
- Moufid A, Farid O, M. Eddouks (2015). Pharmacological Properties of *Capparis spinosa* Linn. *International Journal of Diabetology & Vascular Disease Research*, 3(5), 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 Immunology*, 17(1), 26.
- Muliasari, H., Sopiah, B., Yuanita, E., & Ningsih, B.N. S. (2023). Free-Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Compounds of Red and Green Poinsettia Leaves (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) from Lombok Island. *Makara Journal of Science*, 27(4), 273–278.
- Murakawa, M., Yamaoka, K., Tanaka, Y., & Fukuda, Y. (2006). Involvement of tumor necrosis factor (TNF)- α in phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced skin edema in mice. *Biochemical Pharmacology*, 71(9), 1331-1336.
- Nabavi, S. F., Maggi, F., Daglia, M., Habtemariam, S., Rastrelli, L. & Nabavi, S. M. (2016). Pharmacological Effects of *Capparis spinosa* L. *Phytotherapy Research*, 30(11), 1733-1744.
- Nadaroglu, H., Demir, N., & Demir, Y. (2009). Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Capsules of Caper (*Capparis spinosa*). *Asian Journal of Chemistry*. 21(7), 5123-5134.

- Nagy, G., Koncz, A., Telarico, T., Fernandez, D., Érsek, B., Buzás, E., & Perl, A. (2010). Central role of nitric oxide in the pathogenesis of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Research & Therapy*, 12(210), 1-6.
- Neergheen-Bhujun, V. S., Munogee, N. & Coolen, V. (2014). Antioxidant and anti-inflammatory efficacies of polyherbal formulations and elixirs traditionally used in Mauritius for the treatment of rheumatoid arthritis. *Journal of Herbal Medicine*, 4(1), 1-9.
- Nijenhuis, S., Zendman, A. J. W., Vossenaar, E. R., Pruijn, G. J. M. & vanVenrooij, W. J. (2004). Autoantibodies to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis: clinical performance and biochemical aspects of an RA-specific marker. *Clinica Chimica Acta*, 350, 17-34.
- Noack, M., & Kolopp-Sarda, M.-N. (2018). Cytokines et inflammation : Physiologie, physiopathologie et utilisation thérapeutique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2018(499), 28-37.
- OECD (2008) Guidelines for the testing of chemicals. Acute Oral Toxicity. Up and down Procedure. 425, 27.
- Ozougwu, Jevan, C., Ph., D. (2016). The Role of Reactive Oxygen Species and Antioxidants in
- Panico, Am., Cardile, V., Garufi, F., Puglia, C., Bonina, F., & Ronsisvalle, G. (2005). Protective effect of Capparis spinosa on chondrocytes. *Life Sciences*, 77(20), 2479-2488.
- Parandin, R. & Daroogari, S. (2019) Anti-Inflammatory and Antinociceptive Activities of the Ethanolic Extract of Propolis in Male Mice and Rats. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 21(2),1-7.
- Patel, R., Kadri, S., Gohil, P., Deshpande, S., & Shah, G. (2021). Amelioration of complete Freund's adjuvant-induced arthritis by Calotropis procera latex in rats. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 213.
- Patil, M. V. K., Kandhare, A. D., & Bhise, S. D. (2012). Anti-arthritic and anti-inflammatory activity of Xanthium srtumarium L. ethanolic extract in Freund's complete adjuvant induced arthritis. *Biomedicine & Aging Pathology*, 2(1), 6-15.
- Pauline, R. & Kumar Subbaraj, G. (2025). Association of tumor necrosis factor- α (rs1800629) with RA patients and receptor activator of nuclear factor-kappa B (rs1805034) gene polymorphism with rheumatoid arthritis with osteoporosis susceptibility: A systemic review and meta-analysis. *Egyptian Rheumatology and Rehabilitation*, 52(1), 13.
- Perricone, C., Ceccarelli, F. & Valesini, G. (2011). An overview on the genetic of rheumatoid arthritis: A never-ending story. *Autoimmunity Reviews*, 10, 599-608.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B. & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals : Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11-26.
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K. & Defraigne, j-O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16, 233–239.
- Pomacu, M., Trașcă, M., Pădureanu, V., Bugă, A., Andrei, A., Stănculescu, E., Baniță, I., Rădulescu, D., & Pisoschi, C. (2021). Interrelation of inflammation and oxidative stress in liver cirrhosis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 21(6), 602.
- Puspawati, N. M., & Rita, W. S. (2019). Topical anti-inflammatory activity of n-hexane extract of santalum album linn leaves on rat ear oedema induced by croton oil. *Journal of Physics: Conference Series*, 1321(2), 022033.
- Rahnavard, R. & Razavi, N. (2017). A review on the medical effects of Capparis spinosa L. *Advanced Herbal Medicine*, 2(1): 44-53.
- Rahnavard, R. & Razavi, N. (2017). A review on the medical effects of Capparis spinosa L. *Advanced Herbal Medicine*, 3(1), 44-53.
- Ramos-González, E., Bitzer-Quintero, O. K., Ortiz, G., Hernández-Cruz, J. J. & Ramírez-Jirano, L. J. (2024). Relationship between inflammation and oxidative stress and its effect on multiple sclerosis. *Neurología*, 39(3), 292-301.

- Reimund, j. M. (2002). Stress oxydant au cours des syndromes inflammatoires chroniques Oxidative stress in chronic inflammatory syndromes. *Nutrition clinique et métabolisme* 16, 275–284.
- Rezzagui, A., Senator, A., Benbrinis, S., & Bouriche, H. (2020). Free Radical Scavenging Activity, Reducing Power and Anti-Hemolytic Capacity of Algerian *Drimia maritima* Baker Flower Extracts. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(4), 70-78.
- Rezzan, A., Ozan, E. E., Huseyin, S., Oktay, Y., & Nimet, B. (2013). Phenolic components, antioxidant activity, and mineral analysis of *Capparis spinosa* L. *African Journal of Biotechnology*, 12(47), 6643-6649.
- Righi, N., Boumerfeg, S., Deghima, A., Fernandes, P. A. R., Coelho, E., Baali, F., Cardoso, S. M., Coimbra, M. A., & Baghiani, A. (2021). Phenolic profile, safety assessment, and anti-inflammatory activity of *Salvia verbenaca* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 272, 113940.
- Romão V., C.& Fonseca, J., E. (2021). Etiology and Risk Factors for Rheumatoid Arthritis: A State-of-the-Art Review. *Frontiers in Medicine*, 8, 689698.
- Rudrapal, M., Khairnar, S. J., Khan, J., Dukhyil, A. B., Ansari, M. A., Alomary, M. N., Alshabrm, F. M., Palai, S., Deb, P. K.& Devi, R. (2022). Dietary Polyphenols and Their Role in Oxidative Stress-Induced Human Diseases : Insights Into Protective Effects, Antioxidant Potentials and Mechanism(s) of Action. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 1-15, 806470.
- Sansbury, B. E.& Spite, M. (2016). Resolution of Acute Inflammation and the Role of Resolvins in Immunity, Thrombosis, and Vascular Biology. *Circulation Research*, 119(1), 113-130.
- Santos, M. J., Cordeiro, A. C. & Gil, V. M. (2015). Immune-Mediated Inflammatory Rheumatic Diseases (chapitre de livre). *Spring International Publishing*, 113- 132 In Palavra, F., Reis, F., Marado, D. & Sena, A. (Éditeurs), titre de livre *Biomarkers of Cardiometabolic Risk*.
- Selfayan, M.& Namjooyan, F. (2016). Inhibitory Effect of *Capparis spinosa* Extract on Pancreatic Alpha-Amylase Activity. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 18(4):e6450.
- Senguttuvan, J., Paulsamy, S. & Karthika, K. (2014) Phytochemical analysis and evaluation of leaf and root parts of the medicinal herb, *Hypochaeris radicata* L. for in vitro antioxidant activities. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4, S359-S367.
- Shad, A. A., Ahmad, S., Ullah, R., AbdEl-Salam, N. M., Fouad, H., Rehman, N. U., Hussain, H., & Saeed, W. (2014). Phytochemical and Biological Activities of Four Wild Medicinal Plants. *The Scientific World Journal*, 1-7, 857363.
- Shahrajabian, M. H., Sun, W.&Cheng, Q. (2021). Plant of the Millennium, Caper (*Capparis spinosa* L.), chemical composition and medicinal uses. *Bulletin of the National Research Centre*, 45(1), 1-9, 131.
- Sharma, U. K., Sharma, K., Sharma, N., Sharma, A., Singh, H. P., & Sinha, A. K. (2008). Microwave-Assisted Efficient Extraction of Different Parts of *Hippophae rhamnoides* for the Comparative Evaluation of Antioxidant Activity and Quantification of Its Phenolic Constituents by Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(2), 374-379.
- Sher, H.& Alyemeni, M. N. (2010) Ethnobotanical and pharmaceutical evaluation of *Capparis spinosa* L, validity of local folk and Unani system of medicine. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(17), 1751-1756.
- Singsai, K., Charoongchit, P., Chaikaew, W., Boonma, N., Fhanjaksai, P., & Chaisatan, K. (2020). Antilipoxygenase and Anti-Inflammatory Activities of *Streblus asper* Leaf Extract on Xylene-Induced Ear Edema in Mice. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 1-5.
- Smolen, J. S.& Steiner, G. (2003). Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2(6), 473-488.
- Smolen, j. S., Aletaha, D.& McInnes, I. B. (2016). Rheumatoid arthritis. *The Lancet*, 388, 2023-2038.
- Soliman, S. M., Teaima, M. H., Rashwan, K. O., Ali, B. M., Jasti, B. R., El-Nabarawi, M. A., & Abd El-Halim, S. M. (2023). The deleterious effect of xylene-induced ear edema in rats : Protective role of dexketoprofen trometamol transdermal invasomes via inhibiting the oxidative stress/NF-κB/COX-2 pathway. *International*

- Journal of Pharmaceutics*, 631, ARTICLE 122525.
- Srivastava, K. K.& Kumar, R. (2015). Stress, Oxidative Injury and Disease. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 3-10.
- Srivastava, K.K. & Kumar, R. (2015). Stress, Oxidative Injury and Disease. *Ind J Clin Biochem*, 30(1), 3–10.
- Sun, C., Wei, J., & Bi, L. (2017). Rutin Attenuates Oxidative Stress and Proinflammatory Cytokine Level in Adjuvant Induced Rheumatoid Arthritis via Inhibition of NF- κ B. *Pharmacology*, 100(1-2), 40-49.
- Sun, J.-Y., You, C.-Y., Dong, K., You, H.-S., & Xing, J.-F. (2016). Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities of 3,4-oxo-isopropylidene-shikimic acid. *Pharmaceutical Biology*, 54(10), 2282-2287.
- Sun, S., Liu, Z., Lin, M., Gao, N., & Wang, X. (2024). Polyphenols in health and food processing : Antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant insights. *Frontiers in Nutrition*, 11, 1456730.
- Suwandi, D. W., Rostnawati, T., Muchtaridi, M., & Subarnas, A. (2021). In vitro evaluation of seligecaine A effects on the proinflammatory mediators production in RAW264.7 murine macrophages. *Journal of Hermed Pharmacology*, 10(3), 313-318.
- Tafuri, S., Cocchia, N., Landolfi, F., Luigi Iorio, E.& Ciani, F. (2016). Redoxomics and Oxidative Stress: From the Basic Research to the Clinical Practice, chapter 8.
- Tagnaout, I., Zerkani, H., Mahjoubi, M., Bourakhouadar, M., Alistiqsa, F., Bouzoubaa, A., & Zair, T. (2016). Phytochemical Study, Antibacterial and Antioxidant Activities of Extracts of Capparis spinosa L. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(12), 1993-2006.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G.& Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1, 98-106.
- Tlili, N., Feriani, A., Saadoui, E., Nasri, N.&Khaldi, A. (2017). Capparis spinosa leaves extract : Source of bioantioxidants with nephroprotective and hepatoprotective effects. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 87, 171-179.
- Tlili, N., Feriani, A., Saadoui, E., Nasri, N., & Khaldi, A. (2017b). Capparis spinosa leaves extract : Source of bioantioxidants with nephroprotective and hepatoprotective effects. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 87, 171-179.
- Tlili, N., Mejri, H., Anouer, F., Saadaoui, E., Khaldi, A.& Nasri, N. (2015). Phenolic profile and antioxidant activity of Capparis spinosa seeds harvested from different wild habitats. *Industrial Crops and Products*, 76, 930-935.
- Vahid, H., Rakhshandeh, H.& Ghorbani, A. (2017). Antidiabetic properties of Capparis spinosa L. and its components. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 92, 293-302.
- Voon, F.-L., Sulaiman, M. R., Akhtar, M. N., Idris, M. F., Akira, A., Perimal, E. K., Israf, D. A., & Ming-Tatt, L. (2017). Cardamonin (2',4'-dihydroxy-6'-methoxychalcone) isolated from Boesenbergia rotunda (L.) Mansf. Inhibits CFA-induced rheumatoid arthritis in rats. *European Journal of Pharmacology*, 794, 127-134.
- Wang, R., Zhou, M., Ma, H., Qiao, Y., & Li, Q. (2021). The Role of Chronic Inflammation in Various Diseases and Anti-inflammatory Therapies Containing Natural Products. *Chem Med Chem*, 16(10), 1-18.
- Xu, Q., Wang, Y., Guo, S., Shen, Z., Wang, Y., & Yang, L. (2014). Anti-inflammatory and analgesic activity of aqueous extract of Flos populi. *Journal of Ethnopharmacology*, 152(3), 540-545.
- Xu, W.& Larbi, A. (2017). Immunity and Inflammation : From Jekyll to Hyde. *Experimental Gerontology*, 107, 98-101.
- Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambri, M., & Matar, C. (2018). The Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Role of Polyphenols. *Nutrients*, 10(11), 1618.
- Yang, L., Liu, R., Fan, A., Zhao, J., Zhang, Y., & He, j. (2020). Chemical Composition of Pterospermum heterophyllum Root and its Anti-Arthritis Effect on Adjuvant-Induced Arthritis in Rats via Modulation of Inflammatory Responses. *Frontiers in pharmacology*, 11, 1-13, 584849.

- Yang, T., Wang, C., Chou, G., Wu, T., Cheng, X. & Wang, Z. (2010). New alkaloids from *Capparis spinosa* : Structure and X-ray crystallographic analysis. *Food Chemistry*, 123(3), 705-710.
- Yu, C.-H., Tang, W.-Z., Peng, C., Sun, T., Liu, B., Li, M., Xie, X.-F., & Zhang, H. (2012). Diuretic, anti-inflammatory, and analgesic activities of the ethanol extract from *Cynoglossum lanceolatum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 139(1), 149-154.
- Yu, L., Yang, J., Wang, J., Jiang, B., Sun, Y. & Ji, Y. (2017). Antioxidant and antitumor activities of *Capparis spinosa* L. and the related mechanisms. *Oncology reports*, 37,357-367.
- Zhang, C., Li, H., Li, J., Hu, J., Yang, K., & Tao, L. (2023). Oxidative stress : A common pathological state in a high-risk population for osteoporosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 163, 114834.
- Zhang, H. & Ma Z.F. (2018) Phytochemical and Pharmacological Properties of *Capparis spinosa* as a Medicinal Plant. *Nutrients*, 10 (2),1-14.
- Zhang, H., Zhao, W., Bai, T., Fu, L., Chen, Z., Jing, X., & Wang, X. (2022). Sustainable extraction of polyphenols from millet using switchable deep eutectic solvents. *LWT - Food Science and Technology*, 170, 1-8, 114082.
- Zhang, S., Hu, D., He, J., Guan, K. & Zhu, H. (2014). ChemInform Abstract: A Novel Tetrahydroquinoline Acid (I) and a New Racemic Benzofuranone (II) from *Capparis spinosa* L., a Case Study of Absolute Configuration Determination Using Quantum Methods. *ChemInform*, 45(29), 201429224.
- Zheng, Z., Sun, Y., Liu, Z., Zhang, M., & Li, C. (2015). The effect of curcumin and its nanoformulation on adjuvant-induced arthritis in rats. *Drug Desing Development and therapy*, 9 4931–4942.
- 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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(24), 12717-12721.
- Zhou, H.-F., Xie, C., Jian, R., Kang, J., Li, Y., Zhuang, C.-L., Yang, F., Zhang, L.-L., Lai, L., Wu, T., & Wu, X. (2011). Biflavonoids from Caper (*Capparis spinosa* L.) Fruits and Their Effects in Inhibiting NF-kappa B Activation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7), 3060-3065.
- Zhuo, J., Xia, Q., Sharma, N., Gao, S., Lama, S., Cui, J., Feathers, V., Shadick, N. & Weinblatt, M. E. (2022). The Role of Shared Epitope in Rheumatoid Arthritis Prognosis in Relation to Anti-Citrullinated Protein Antibody Positivity. *Rheumatology and Therapy*, 9(2), 637-647.

الخصائص المضادة للأكسدة والالتهابات والتهاب المفاصل لنبات الكبار من منطقة سطيف

ملخص

نبات الكبار *Capparis spinosa* هو شجيرة متوسطة من عائلة Capparidaceae تستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي العشبي. تتمتع هذه النبتة بعدة خصائص بيولوجية مثل التأثيرات المضادة للأكسدة وحماية الكبد وتعديل المناعة. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثيرات المضادة للأكسدة والالتهابات للمستخلصات الميثانولية من أوراق (EMF) وسيقان (EMT) وثمار (EMFr) نبات *C. spinosa*. يُظهر تحديد مجموع عديدات الفينول والفلافونويدات والتانينات أن EMF يحتوي على أعلى تركيزات من عديدات الفينول ($57,37 \pm 0,9$ ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/غ من المستخلص) والفلافونويدات ($31,34 \pm 29,15$ ميكروغرام مكافئ الكيرستين/غ من المستخلص) والتانينات ($275,11 \pm 2,51$ ميكروغرام مكافئ حمض التانيك/غ من المستخلص). كما أظهر هذا المستخلص أعلى قدرة إرجاعية ($32,83 \pm 0,57$ ميكروغرام/مل) وأعلى نشاط احتجاز تجاه جذور DPPH و ABTS ($30,51 \pm 1,86$ ميكروغرام/مل و $11,93 \pm 0,08$ ميكروغرام/مل، على التوالي). في حين أن تثبيط تبييض β -كاروتين كان متشابهًا تقريبًا بالنسبة للمستخلصات الثلاثة التي تمت دراستها. أظهر تقييم التأثير المضاد للوذمة أن EMF قد ثبت الوذمة التي سببها الجزيلين عند الفئران بنسبة $84,86\%$ بجرعة 600 مغ/كغ. بينما كان EMFr فعالاً على الوذمة التي سببها زيت الكروتون عند الفئران ($35,89\%$) والكاراجينين عند الجرذان ($52,50 \pm 17,27\%$ في الساعة الثالثة) بجرعة 300 مغ/كغ. وأخيراً، تم الحصول أيضاً على تأثير مضاد لداء المفاصل بشكل وقائي مع EMF و EMFr ($41,71\%$ و $39,74\%$ ، على التوالي) في نموذج التهاب المفاصل الناجم عن مادة مساعد فروند الكامل عند الجرذان. وينعكس هذا التأثير في تحسن المؤشرات السريرية والمصلية والنسجية. أكدت هذه النتائج أن أجزاء نبات *C. spinosa* لها تأثيرات مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات المختلفة، وتبرر الاستخدام التقليدي الواسع النطاق لنبات *Capparis spinosa*.

الكلمات المفتاحية: *Capparis spinosa*، عديدات الفينول، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهابات، التهاب المفاصل المحرض.

Activités antioxydante, anti-inflammatoire et antiarthritique de *Capparis spinosa* de la région de Sétif

Résumé

Capparis spinosa est un arbuste méditerranéen de la famille des Capparidaceae largement utilisé dans la médecine traditionnelle à base de plantes. Cette plante possède plusieurs activités biologiques telles que des effets antioxydants, hépatoprotecteurs et immunomodulateurs. L'objectif de la présente étude vise à évaluer les effets antioxydants et anti-inflammatoires des extraits méthanoliques de *C. spinosa* provenant des feuilles (EMF), des tiges (EMT) et des fruits (EMFr). La détermination des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins montre que l'EMF contient les concentrations les plus élevées de polyphénols ($57,37 \pm 0,9$ µg Eq AG/mg d'extrait), de flavonoïdes ($31,34 \pm 29,15$ µg Eq Q/mg d'extrait) et de tanins ($275,11 \pm 2,51$ µg Eq AT/mg d'extrait). Cet extrait a également montré le pouvoir réducteur le plus élevé ($EC_{50} = 32,83 \pm 0,57$ µg/ml) et l'activité de piégeage la plus élevée envers le radical DPPH et ABTS ($IC_{50} = 30,51 \pm 1,86$ µg/ml et $11,93 \pm 0,08$ µg/ml, respectivement). Alors que la prévention du blanchiment du β -carotène était presque similaire pour les trois extraits étudiés. L'évaluation de l'effet anti-œdémateux montre que l'EMF a inhibé l'œdème induit par le xylène chez la souris avec $84,86\%$ à la dose de 600 mg/kg. Tandis que l'EMFr était efficace sur l'œdème induit par l'huile de croton chez la souris ($35,89\%$) et par la carragénine chez le rat ($52,50 \pm 17,27\%$ à 3 h) à une dose de 300 mg/kg. Enfin, un effet anti-inflammatoire a été également obtenu en préventif avec l'EMFr et l'EMF ($41,71\%$ et $39,74\%$ respectivement) dans le modèle de l'arthrite induite par l'adjuvant complet de Freund (AIA) chez le rat. Cet effet se traduit par une amélioration des paramètres cliniques, sériques et histologiques. Ces résultats ont confirmé que les parties de *Capparis spinosa* possèdent différents effets antioxydants et anti-inflammatoires et justifient l'utilisation traditionnelle répandue de *Capparis spinosa*.

Mots clés : *Capparis spinosa*, polyphénols, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, arthrite induite

Antioxidant, anti-inflammatory and anti-arthritic activities of *Capparis spinosa* from the Setif region

Abstract

Capparis spinosa, a Mediterranean shrub belongs to the Capparidaceae family, widely used in traditional herbal medicine. This plant has several biological activities, such as antioxidant, hepatoprotective, and immunomodulatory effects. The objective of this study is to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory effects of methanolic extracts of *C. spinosa* from leaves (EMF), stems (EMT), and fruits (EMFr). The determination of total polyphenols, flavonoids, and tannins shows that EMF contains the highest concentrations of polyphenols (57.37 ± 0.9 µg AG Eq/mg of extract), flavonoids (31.34 ± 29.15 µg Q Eq/mg of extract), and tannins (275.11 ± 2.51 µg AT Eq/mg of extract). This extract also showed the highest reducing power ($EC_{50} = 32.83 \pm 0.57$ µg/ml) and the highest scavenging activity against DPPH and ABTS radicals ($IC_{50} = 30.51 \pm 1.86$ µg/ml and 11.93 ± 0.08 µg/ml, respectively). The prevention of β -carotene bleaching was almost similar for the three extracts studied. The evaluation of the anti-edema effect shows that EMF inhibited xylene-induced edema in mice by 84.86% at a dose of 600 mg/kg. EMFr was effective against croton oil-induced edema in mice (35.89%) and carrageenan-induced edema in rats ($52.50 \pm 17.27\%$ at 3 hours) at a dose of 300 mg/kg. Finally, an anti-inflammatory effect was also obtained preventively with EMFr and EMF (41.71% and 39.74% respectively) in the Freund's complete adjuvant-induced arthritis (AIA) model in rats. This effect resulted in an improvement in clinical, serum, and histological parameters. These results confirmed that parts of *Capparis spinosa* have various antioxidant and anti-inflammatory effects linked to their polyphenol and/or flavonoid content, and justify the widespread traditional use of *Capparis spinosa*.

Keywords: *Capparis spinosa*, polyphenols, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, induced arthritis.