

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Ecologie Végétale

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا و علم البيئة

مشروع نهائية الدراسة
المعدّ بغرض إنشاء مؤسسة ناشئة أو الحصول على براءة اختراع
(طبقاً لأحكام المنشور رقم 001 المؤرخ في 18 ماي 2023)
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : sciences biologiques
Spécialité : biotechnologie et génomique végétale

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Lancement d'une startup de création des principes actifs à base de
plantes médicinales :
Fabrication d'un phyto-médicament méta-stop**

Présenté par ZEIHER Ines Maroua

Le 21/09/2023

Jury d'évaluation :

Président : DJEKOUN Abdelhamid (Prof. Université Mentouri, Constantine 1).
Encadrant : HAMMOUDA Dounia (Prof. Université Mentouri, Constantine 1).
Examineur: MOURI Fouzia (MCB Université Mentouri, Constantine 1).
C.A.T.I : BENCHARIF – BETINA Soumeya (MCB, Mentouri, Constantine 1).
Incubateur : BOUCHEMAL Karima (MCB, Mentouri, Constantine 1)
Président CNPA: ERNIZ Elhamel

Année universitaire
2022 - 2023

*Certes, il y'a des travaux
pénibles ; mais la joie de
la réussite n'a-t-elle pas à
compenser nos douleurs ?*

»

Jean de la Bruyère

Remerciement

Tout d'abord je remercie Dieu le tout puissant qui m'a gardé en bonne santé et m'a donné la force et la patience afin de réaliser ce travail.

*Je tenais à remercier chaleureusement et infiniment mon encadreur le professeur **Mme Hammouda Dounia** pour la disponibilité et le support qu'elle a investi dans la supervision de mon mémoire. Elle a été pour moi un excellent guide au cours de ce périple académique. Je suis très reconnaissante pour la confiance que vous m'avez accordée et pour avoir cru en mes capacités tout au long de ce travail. Je vous remercie pour votre patience, ainsi que pour la gentillesse que vous avez manifestée à notre égard.*

*Je tiens aussi à remercier également, les membres de jurys **Professeur Djekoun Abdelhamid** et **Dr. Mourí Fouzia** d'avoir accepté de juger ce travail.*

A tous mes enseignants rencontrés lors de mon cycle universitaire qui m'ont initié aux valeurs authentiques, en signe d'un profond respect et d'un profond amour !!!

Merci à vous tous.

Liste Des abréviations

MO	Moringa Oleifera
M	Moringa
CYTO	C cytochrome c
IL-1β	L'interleukine-1
PGE-2	Prostaglandine E2
COX-2	Cyclooxygénase 2
INoS	Oxyde nitrique synthase
LC-MS	Chromatographie en phase Liquide couplée à la Spectrométrie en Masse
MCV	Maladie Cardio-Vasculaire
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
HSV-1	Virus Herpes simplex
SNC	Système nerveux central
HACCP	Système d'analyse des risques et de maîtrise des points critiques
CCB	Canal Calcique Bloquant
MDR	Résistance Multi-médicamenteuse
KRAS	V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
JNK c-	Jun N-terminal kinases
ISO	Organisation internationale de normalisation
ERK 1/ 2	Extracellular signal-regulated kinases
NFKB	nuclear factor-kappa B
TAC	capacité antioxydante totale
GK	Glucokinase regulatory
JNK	kinases c-Jun N-terminales
MAPK	Mitogen-activated protein kinases
ISC	inflammation systémique chronique
LPS	Lipopolysaccharides
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute performance
8-OHdG	: 8-hydroxy-2-déoxyguanosine.
ACE2	: Angiotensine-Converting Enzyme 2.
ADN	:

Acide désoxyribose

nucléique.

AINS : Antiinflammatoires non stéroïdiens

AG : Acide gallique.

AGMI : Acides gras mono insaturés.

AGPI : Acides gras polyinsaturés.

AGS : Acides gras saturés.

AKT : Protéine kinase B.

AMPK : Adénilate mono

phosphate kinase. **ARE :**

Eléments de repenses

antioxydants. **AT :** Acide

tannique.

A β : Bêta-amyloïdes.

BACE1 : Beta amyloid precursor protein cleaving enzyme 1.

BACE1-AS : The BACE1 antisense transcript.

CDK : Cyclin dependent Kinase.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

COX : Cyclooxygénase.

CUL3 : Cullin 3.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DPPH : Diphénylpicrylhydrazyl.

DT2 : Diabète de type 2.

E. Coli : Escherichia. Coli.

EAG : Equivalent acide

gallique. **EAT** :

Equivalent acide tannique.

EQ : Equivalent

quercétine.

ERK : Kinase régulée-signal extracellulaire

ERN : Erucine.

ESP : Epithiospécificatrices.

FeCl₃ : Chlorure ferrique.

GLS : Glucosinolates.

GPX : Glutathion peroxydase.

GR : Globule rouge.

Grn : Granuline.

GSH : glutathionne

Sulfhydryle. **GST** :

Glutathion S-

Transféras. **GSTM1** :

Glutathionne S-tranferase

M1.H₂SO₄ : Acide

sulfurique.

HCl : Acide chlorhydrique

H. pylori: Helicobacter pylori.

HK-2: Human kidney-2.

HO-1 : Hème Oxygénase 1.

IC : Inhibitrice concentration.

IKK : I-Kappa-B kinase.

IL : Interleukine.

INOS : Oxyde nitrique synthase inductible.

IRC : Insuffisance rénale chronique.

ITC : Isothiocyanates.

IZD: Diameters zone

inhibition.**I-κB:**

Inhibitor-

Kappa B. **JNK:**

kinase c-Jun

N-terminal.

KEAP1: Kelch-like ECH-associated protein 1.

LPS : Lipopolysaccharides.

MA : Maladie d'Alzheimer.

MAF : Mineurs facteurs de

transcription. **MAPK :**

Mitogen-activated protein

kinases**MCV :** Maladies

cardiovasculaires

MDA : Malon-dialdéhyde.

MeOH : Méthanol

MS : Matière sèche.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide.

NADP : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

NFκB : Facteur nucléaire- kappa B.

NH₄OH: Ammoniaque.

NLR: Nod-like receptor.

NLRP3: Nod-like receptor family, pyrin domain containing 3.

NaNO₂ : Nitrate de sodium.

NO : oxyde nitrique

NQO : Quinone Oxydoréductase.

NQR : Quinone Réductase.

NRF2: Nuclear factor erythroid-2-related factor 2

NSP : Nitrile-Specifier Protein.

P38 : Protéine 38

P75RNT : Neurotrophine p75.

PGE₂: Prostaglandine E₂.

PI: Phase I.

PI3K: Phosphatidyl-inositol 3-kinase.

PKC : Protéine kinase C

RFD : Réactif de Folin-Denis

ROS : Espèces réactives de l'oxygène.

SFN: Sulforaphane.

SOD: Superoxyde dismutase.

STAT: Signal transducers and activators of transcription.

STZ : Streptozotocine.

TFP : Protéines formant des thiocyanates.

TNF- α : Facteur nécrose tumorale-alpha.

TR : Thiorédoxine réductase.

Trx : Thiorédoxine.

TSA : Troubles du spectre autistique.

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine.

Liste des figures

Figure 01 : Moringa *oleifera* « les feuilles » et la poudre

Figure 02 : Description botanique du Moringa *oleifera* (Adapter de Osman, 2012)

Figure 03 : Comparaison de la valeur nutritionnelle de poudre de Moringa *oleifera* avec d'autres aliments (adapter de Laleye, 2015)

Figure 04 : Effet anti-inflammatoire de M. *oleifera* (Xianjuan et al., 2018)

Figure 05 : Activation de la voie extrinsèque et la voie intrinsèque de l'apoptose par M. *oleifera* (Rukayadi et al., 2016)

Figure 06 : Structure chimique du principe actif quercétine (Garcia-Mediavilla et al., 2007)

Figure 07 : Signalisation de l'activité apoptotique de la quercétine (Vadafar et al., 2020)

Figure 08: Effet de la quercétine sur l'anti-angiogénèse (Vadafar et al., 2020)

Figure 09 : Effet de quercétine sur le cycle cellulaire (Gibellini et al., 2010)

Figure 10 : Structure chimique du principe actif « kaempferol » (Garcia-Mediavilla et al., 2007)

Figure 11 : Effet anti-apoptotique du kaempferol (Imran et al., 2019)

Figure 12: Mécanismes d'action de l'activité anti-inflammatoire du kaempférol (Nabavi et al., 2015)

Figure 13 : Mécanisme d'action des flavonoïdes (Muschiatti et al., 2018)

Figure 14 : Anatomie du brocoli (*Brassica oleracea* L., var. Italique) (Ilahy et al., 2020).

Figure 15: Résumé des principes actifs analysés au cours des dix dernières années sur les pousses de brocoli (Le et al., 2020).

Figure 16 : Structure générale des Glucosinolates (Montaut et al., 2012).

Figure 17 : Trois grandes classes des Glucosinolates (Kamal et al., 2022).

Figure 18 Hydrolyse des Glucosinolates (Roman et al., 2020).

Figure 19 : Voie métabolique du sulforaphane (Li et al., 2022).

Figure 20 : Structure générale de l'acide phénolique (A : acide

Figure 21 : Les bienfaits du brocoli pour la santé (Li et al., 2022).

Figure 22 : Le mécanisme proposé par lequel le SFN inhibe l'uréase synthétisé par *H.Pylori* et réduit les risques des maladies associés à cette infection

(Houghton, 2019).

Figure 23: L'inactivation d'urée par le sulforaphane (**Fahey et al., 2013**).

Figure 24 : Effet du sulforaphane sur l'expression de l'IL-6 et de l'IL-8 dans les cellules branchiales IB3-1 induite par la protéine SARS-CoV-2 Spike (**Gasparello et al., 2021**).

Figure 25: Effets du sulforaphane sur la voie NFκB (**Santín-Márquez et al., 2019**).

Figure 26 : Mécanisme d'induction d'enzymes détoxifiants et antioxydants médiés par l'ARE et par le sulforaphane **Ruhee et Suzuki 2020**).

Figure 27 : Effets anticancérogènes du sulforaphane (**Bai et al., 2015**).

Figure 28 - Les propriétés caractéristiques des cellules tumorales

Figure 29 - Les propriétés facilitantes et émergentes des cellules tumorales

Figure 30 - Classification des thérapeutiques anticancéreuses, INCa (13)

Figure 31 - Effets indésirables généraux des chimiothérapies cytotoxiques (19, 20)

Figure 32 - Effets indésirables généraux des thérapies ciblées (19, 20)

Figure 33 - Effets indésirables de l'immunothérapie (31)

Figure 34 - Effets indésirables de l'hormonothérapie (19,20).

Figure 35 : Forme libre et réduite du DPPH (Pyrzynska et Pękal 2013).

Figure 36 : la méthode de diffusion sur disques « teste de sensibilité » (original)

Figure 37 : Diagramme d'Ishikawa

Figure 38: Chromatogramme d'HPLC

Figure 39 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes (

Figure 40 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH

en fonction de la concentration de l'acide ascorbique

Figure 41 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique du brocoli

Figure 42 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique du moringa (Originale

Liste des Tableaux

Tableau 1 : matériel non biologique utilisé

Tableau 2 : matériel végétal utilisé

Tableau 3 :

Tableau 4 :

Tableau 5 : les Résultats explicatifs du chromatogramme d'HPLC

Tableau 6 : Teneurs en flavonoïdes des extraits méthanoliques

Tableau 7 : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50% (IC50) (l'activité anti-oxydante)

Tableau 8 : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50% (IC50) (l'activité anti-inflammato

Tableau 9 : sensibilité et CMI (mg/ml) des souches bactériennes testées aux extraits méthanoliques des cinq espèces étudiées

Tableau 10 : Résultats des analyses physico-chimiques de la poudre de *Moringa oleifera*.

Tableau 11: Résultats d'analyses microbiologiques de la matière première

Tableau 12 : Résultats d'analyses microbiologiques du produit fini

Sommaire

INTRODUCTION 1

Chapitre 1 : recherche Bibliographique 3

I.1.1. Définition médicament a base des plantes

I.1.2. Définition du principe actif

I.1.3. Les origines des principes actifs

I.1.4. Les principales classes des principes actifs

Chapitre 2 aperçu sur les plantes

Partie 2 : Caractéristiques des plantes étudiées

I.1. *Moringa oleifera*..... 6

I.1.1. Composition chimique..... 8

I.1.2. Valeurs nutritionnelles 9

I.1.3. Effets thérapeutiques..... 10

I.2. *Brassica oleracea*

I.2.1. Composition chimique..... 8

I.2.2. Valeurs nutritionnelles 9

Effets thérapeutiques 10

Partie : » la pathologie cancéreuse

_ Physiologie et épidémiologie

_ Traitement et effet indésirable

L'effet synergique des principes actifs naturels avec les médicaments

Chapitre II : Matériel et méthodes..... 34

II.1. Matériel 35

II.1.1. Matériel non biologique 35

II.1.2. Matériel végétal 36

II.2. Méthodes 36

II.2.1. Préparation des poudres de plantes..... 37

II.2.2. Identification des principes actifs des plantes 38

II.2.3. Dosage des flavonoïdes..... 39

II.2.4. Evaluation des activités biologiques 40

II.2.5. Analyse physico-chimique..... 42

II.2.6. Analyse microbiologique 48

II.2.7. L'analyse des dangers 49

Chapitre III : Résultat et discussion 52

III.1. Qualité du Produit 52

III.1.1. Identification des Principes actifs 52

III.1.2. Dosage des Flavonoïdes 53

III.1.3. Evaluation des activités biologiques..... 54

III.1.4. Analyse physico-chimique..... 62

III.1.5 Formulation et Fabrication 63

III.1.6. Analyse microbiologique..... 64

III.1.7. L'analyse des dangers 65

Conclusion générale et perspectives

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Les médicaments de chimiothérapie sont utilisés depuis longtemps dans le traitement du cancer, mais les effets secondaires graves sont causés par l'incapacité du médicament à être administré uniquement à la tumeur lors du traitement du cancer par chimiothérapie. Les produits naturels ont attiré de plus en plus d'attention en raison de l'effet anti-tumoral de multiples façons, des ressources abondantes et moins d'effets secondaires. Par conséquent, la combinaison d'ingrédients actifs naturels et de médicaments de chimiothérapie peut être une stratégie anti-tumorale efficace, qui peut inhiber la croissance de la résistance tumorale et, réduire les effets secondaires des médicaments de chimiothérapie. Les travaux effectués dans le cadre de cette étude consistent à montrer et déterminer l'intérêt des principes actifs naturels existant dans les espèces *Moringa oleifera* et *Brassica oleracea* (Brocoli) ainsi que l'effet thérapeutique de ces dernières sur le cancer.

L'application de la norme 22000 permet de démontrer une aptitude à identifier et à maîtriser les dangers liés à la sécurité des compléments alimentaires, cette norme est liée à l'approche HACCP qui a pour objectif la prévention, l'élimination ou la réduction à un niveau acceptable de tout danger « biologique, chimique, et physique ».

Au cours de notre étude, plusieurs techniques d'analyses ont été réalisées : l'identification et le dosage des principes actifs, l'évaluation des activités biologiques, analyses physico-chimiques, et analyses microbiologiques. Les résultats obtenus de ces analyses confirment la présence des principes actifs dans le *Moringa oleifera* et *Brassica oleracea* (Brocoli) par une valeur très intéressante, plus précisément les molécules bioactives (katéchol et quercétine, les glucosides isochlorogénols) ; et l'évaluation des activités biologiques (activité antioxydante, anti-inflammatoire, anti-cancéreuse et antibactérienne) avec toutes les souches étudiées à l'exception *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, et *Serratia marcescens*, qui sont résistantes) dans le but de stabiliser la formule.

L'étape de fabrication est procédée en appliquant le contrôle exigé par la norme ISO 22000. Pour assurer la qualité du produit final. A la fin de ce processus on peut dire que notre produit est biostable, sain et sûr.

Mots clés : *Brassica oleracea* (Brocoli), HACCP, ISO 22000, *Moringa oleifera* phyto-médicament, principes actifs

...

Abstract

Chemotherapy drugs have been used for a long time in the treatment of cancer, but serious side effects are caused by the inability of the drug to be administered only to the tumor when cancer is treated with chemotherapy. Natural products have attracted more and more attention due to the anti-tumor effect in multiple ways, abundant resources and fewer side effects. Therefore, the combination of natural active ingredients and chemotherapy drugs can be an effective anti-tumor strategy, which can inhibit the growth of tumor resistance and, reduce the side effects of chemotherapy drugs

*The work carried out in this study consists in showing and determining the interest of natural active ingredients exist in the species *Moringa oleifera* and *Brassica oleracea* (Broccoli) and the therapeutic effect of these on cancer.*

The application of the 22000 standard makes it possible to demonstrate an ability to identify and control the hazards related to the safety of food supplements, this standard is linked to the HACCP approach which aims at prevention, the elimination or reduction to an acceptable level of any “biological, chemical, and physical” hazard. During our study, several analytical techniques were performed: identification and determination of active ingredients, evaluation of biological activities, physico-chemical analyses, and microbiological analyses.

*The results obtained from these analyses confirm the presence of the active ingredients in *Moringa oleifera* and *Brassica oleracea* (Broccoli) by a very interesting value, more precisely the bioactive molecules (kaméphnol and quecetine, isothyzing glucosintes) ; and the evaluation of biological activities (antioxidant activity of , anti-inflammatory , anti-cancer and antibacterial) with all strains studied with the exception of *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 , *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 , and *Serratia marcescens*, that are resistant) in order to stabilize the formula.*

The manufacturing step is carried out by applying the control required by ISO 22000 to ensure the quality of the final product. At the end of this process we can say that our product is biostable, healthy and safe.

Keywords: *Brassica oleracea* (Broccoli), HACCP, ISO 22000, *Moringa oleifera* phytomedicine, active ingredient

الملخص

تم استخدام أدوية العلاج الكيميائي لفترة طويلة في علاج السرطان، ولكن الآثار الجانبية الخطيرة ناتجة عن عدم قدرة الدواء على إعطاء الورم فقط عند علاج السرطان بالعلاج الكيميائي. جذبت المنتجات الطبيعية المزيد والمزيد من الاهتمام بسبب التأثير المضاد للورم بطرق متعددة والموارد الوفيرة والآثار الجانبية الأقل. لذلك، يمكن أن يكون الجمع بين المكونات النشطة الطبيعية وأدوية العلاج الكيميائي استراتيجية فعالة لمكافحة الورم، والتي يمكن أن تمنع نمو مقاومة الورم وتقلل من الآثار الجانبية لأدوية العلاج الكيميائي.

يتمثل العمل الذي تم إجراؤه في هذه الدراسة في إظهار وتحديد اهتمام المكونات النشطة الطبيعية الموجودة في أنواع *Moringa oleifera* و *Brassica oleracea* (Broccoli) والتأثير العلاجي لها على السرطان. إن تطبيق معيار 22000 يجعل من الممكن إثبات القدرة على تحديد ومراقبة المخاطر المتعلقة بسلامة المكملات الغذائية، وهذا المعيار مرتبط بنهج تحليل المخاطر ونقطة التحكم الحرجة الذي يهدف إلى الوقاية من أي خطر «بيولوجي وكيميائي وفيزيائي» أو إزالته أو خفضه إلى مستوى مقبول خلال دراستنا، تم إجراء العديد من التقنيات التحليلية: تحديد وتحديد المكونات النشطة، وتقييم الأنشطة البيولوجية، والتحليلات الفيزيائية الكيميائية، والتحليلات الميكروبيولوجية. وتؤكد النتائج التي تم الحصول عليها من هذه التحليلات وجود المكونات النشطة في مورينغا أوليفيرا وبراسيكا أوليراسيا (بروكلي) من خلال قيمة مثيرة للاهتمام للغاية، وبشكل أكثر دقة الجزيئات النشطة بيولوجياً (الكاميفنول والكيكتين، والجلوكوزينات الإيزوثيوزينج)؛ وتقييم الأنشطة البيولوجية (النشاط المضاد للأوكسدة، ومضاد للالتهابات، ومضاد للسرطان، ومضاد للبكتيريا) مع جميع السلالات التي تمت دراستها باستثناء المكوّنات المعوية البرازية ATCC 29212، و *Salmonella typhimurium* ATCC 14028، و *Serratia marcescens*، المقاومة) من أجل تثبيت التركيبة. يتم تنفيذ خطوة التصنيع من خلال تطبيق الرقابة المطلوبة بموجب ISO 22000 لضمان جودة المنتج النهائي. في نهاية هذه العملية يمكننا القول إن منتجنا قابل للحياة وصحي وآمن.

الكلمات الرئيسية: *Brassica oleracea* (Broccoli)، *Moringa oleifera*، ISO 22000، HACCP، phytomedicine، مكون نشط.

INTRODUCTION

Le cancer est un problème majeur de santé publique dans le monde entier (Siegel et al.2021). Dans près de 100 pays à travers le monde, quel que soit le niveau de développement, le cancer est l'une des maladies malignes les plus répandues qui est une cause majeure de morbidité et de mortalité. Le cancer deviendra la principale cause de décès dans tous les pays au 21e siècle et l'obstacle le plus important à l'allongement de l'espérance de vie (Sarisozen et al.,2016; Bray et coll., 2018). Les méthodes traditionnelles de traitement du cancer comprennent la résection chirurgicale, la chimiothérapie et la radiothérapie. Immunothérapie (Fu et al., 2022) et la thérapie photo thermique (Dai et coll., 2022) ont également, vu le jour ces dernières années.

Les agents chimiothérapeutiques, également connus sous le nom de médicaments cytotoxiques, sont utilisés dans la thérapie antitumorale depuis les années 1940. Ils ont joué un rôle important dans le traitement des tumeurs.

Les plantes ont toujours été considérées comme une source importante de médicaments dans le monde. A ces jours, il a été rapporté par l'Organisation mondiale de la santé (O,M,S) que plus de 80% des personnes utilisent encore la médecine traditionnelle. Parmi ces plantes, nous citons:

Ces dernières années, les produits naturels (**Bio**) sont devenus la priorité absolue de la recherche et du développement de médicaments antitumoraux en raison de leur efficacité antitumorale évidente et de la richesse des ressources candidates (Yin et al., 2019). Les médicaments naturels sont sûrs et ont peu d'effets secondaires (Liu et al., 2020b), qui peut renforcer l'immunité et améliorer la sensibilité à la chimiothérapie. Plus attrayante, la combinaison de principes actifs naturels et de médicaments de chimiothérapie peut être une stratégie anti-tumorale efficace.

Dans un cadre d'étude portant sur la formulation et la fabrication d'un phyto médicament nommé « **méta_bloc** » à base des principes actifs naturels extraits à partir des especes *Moringa oleifera* et *Brassica Oleracea*, suite à leurs valeurs thérapeutiques, nous avons pu déterminer les objectifs suivants :

- Éprouver la valeur thérapeutique de ces plantes miracles.
- Assurer de la présence des molécules bioactives dans la poudre de Moringa oleifera et brocoli
- Fabriquer un phyto médicament sein et sur selon la norme ISO 22000.
- Evaluer le marché des phytomédicament en Algérie.

Introduction

Nous avons appliqué la norme ISO 22000 et l'approche HACCP, ainsi, et apprendre à réaliser une formulation à base des plantes. Egalement, nous avons appris à manipuler dans un laboratoire de microbiologie, de physico-chimique et la manipulation par chromatographie haute performance en phase liquide

Notre étude comporte trois chapitres. Dans le premier chapitre , nous abordons une synthèse bibliographique , et décrivons le matériel et les techniques utilisés dans le deuxième chapitre. .Alors que Les résultats sont interprétés et discutés dans le troisième chapitre.

A la fin, une conclusion générale et les perspectives sont présentées.

Chapitre I :

*Recherche
Bibliographique*

Définition dun phy-médicament

En Algérie, le marché pharmaceutique est en nette progression, puisque l'Algérie compte viser le développement de la production locale et devenir une plateforme de production nationale, sachant qu'une large part du marché repose sur les importations avec un chiffre qui avoisine les 70 %. Pour cela, une planification stratégique globale est indispensable pour améliorer ce secteur, en structurant les aspects réglementaires de tous les produits pharmaceutiques. Nous citons, l'exemple des médicaments à base de plantes (MABP) qui ont une importance considérable dans le commerce international. La reconnaissance de leur valeur clinique, pharmaceutique et économique continue de croître. Les données concernant l'innocuité et l'efficacité des plantes, leurs extraits et principes actifs et les préparations qui les contiennent restent encore limitées. L'Algérie possède une réserve de remèdes à base de plantes, de savoir-faire dans la médecine traditionnelle (Bouzabata, A. 2017)

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) définit le MABP comme tout médicament étiqueté, dont les substances actives sont exclusivement une ou plusieurs substances végétales ou préparations à base de plantes ou une association d'une ou de plusieurs substances végétales

Définition d un pincipe actifs

Les origines des principes actifs :

Il existe plusieurs manières pour obtenir des principes actifs à l'échelle industrielle.

1- Ceux-ci peuvent tout d'abord être extraits de sources naturelles, une technique intéressante notamment lorsque les substances actives sont relativement complexes.

2- Les principes actifs plus simples sont généralement synthétisés par voie chimique, c'est la méthode la plus efficace dans ce cas-là.

3- L'hémi synthèse désigne une méthode de synthèse de principes actifs hybridés. Un précurseur de la substance d'intérêt est extrait d'une source naturelle puis transformé chimiquement.

4- Le génie génétique, offre une nouvelle possibilité. En insérant un gène codant à titre d'exemple une protéine dans une bactérie.

II. 2. Les principales classes de principes actifs d'origine naturelles :

On distingue classiquement plusieurs catégories de principes actifs en fonction de leur nature biochimique et de leur origine biosynthétiques. Cette classification s'est également historiquement structurée dans ses grandes lignes en fonction des techniques d'extraction et

de révélation qui permettent de caractériser chimiquement les composés.

Les principes actifs se classent en de nombreux groupes, dont trois grands groupes chez les plantes :

- *Le type polyphénols : tels que les flavonoïdes, les tanins etc.*
- *Le type azoté : tel que les alcaloïdes.*
- *Le type terpène et stéroïdes : tels que les saponosides, les huiles essentielles etc.*

Partie 2:Caractéristiques des plantes étudiées

II.1. *Moringa oleifera*

II.1.1. Définition

Moringa oleifera (Moringaceae) est un petit arbre à croissance rapide originaire des régions subhimalayennes du nord de l'Inde, qui s'est répandu dans le monde entier dans les régions tropicales et subtropicales (Rajangam, 2001), elle est largement utilisée dans la phytothérapie traditionnelle en tant que riche source des nutriments et le large spectre d'ingrédients phytochimiques qui est dans les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, et l'huile de graines (Dhakad, 2019), donc chaque partie du *Moringa oleifera* a des propriétés bénéfiques qui peuvent être utiles à l'homme.

Moringa appartient à une famille monogénérique. Il existe 14 espèces, 9 d'entre elles sont Africaines, 2 Malgaches, 2 Indiennes et 1 en Arabie. Les espèces les plus courantes sont : *Moringa oleifera*, *Moringa stenopetala*, *Moringa conxanensis*, *Moringa drouhardii*, *Moringa longituba* et *Moringa peregrina* (Malo, 2014). L'arbre porte différents noms selon les régions, Dans les pays Francophones, il est appelé « Mouroungue », « Moringa ailé », « Ben ailé », « Benzolive » et « Poisquénique », dans les pays Anglophones, il est appelé « Radish Tree », « Never die Tree », « Drumstich Tree », « Horseradish tree » (Foidl et al., 2001). Aux Philippines, il est appelé « le meilleur ami des mères » et « Malunggay » (Belkebir, 2018).

Classification (Figure 01)

- *Domaine* : **Biota**
- *Règne* : **Plantae**
- *Sous-Règne* : **Viridaeplantae**
- *Infra-Règne* : **Streptophyta**
- *Classe* : **Equisetopsida**
- *Clade* : **Tracheophyta**
- *Clade* : **Spermatophyta**
- *Sous-Classe* : **Magnoliidae**
- *Super-Ordre* : **Rosanae**
- *Ordre* : **Brassicales**
- *Famille* : **Moringaceae**
- *Genre* : **Moringa**



Figure 01 :
Moringa oleifera « les feuilles
» et la poudre »

Espèce : *Moringa oleifera* (Lam., 1785). (Roloff, 2009)

Description botanique

Moringa est un arbre pérenne, à croissance rapide, qui peut atteindre 7 à 12 mètres de hauteur et dont le tronc mesure 20 à 40 cm de diamètre.

Les feuilles de Moringa sont duveteuses et semblables à celles des fougères avec des teneurs élevées en nutriment et anti-oxydant (Figure 03). Elles sont riches en vitamine A et la vitamine C ; et représentent une bonne source de la vitamine B et une des meilleures sources végétales des minéraux ainsi leurs teneurs en calcium sont très élevées (Osman, 2012). La valeur nutritive varie selon le mode de préparation, l'âge de la feuille et la saison de la récolte.

Les gousses sont appelées baguette de tambour, les grains mûres contiennent 40% d'huile dont 70% l'acide oléique. Les fruits en capsule triangulaire sont de longue gousse qui contiennent des grains ronds, aillés, ailés, bruns et riches en huile (Figure 03) (Osman, 2012).

Les fleurs parfumées ont des sépales et pétales blancs fleurissent pendant la saison sèche (Figure 02) (Osman, 2012).

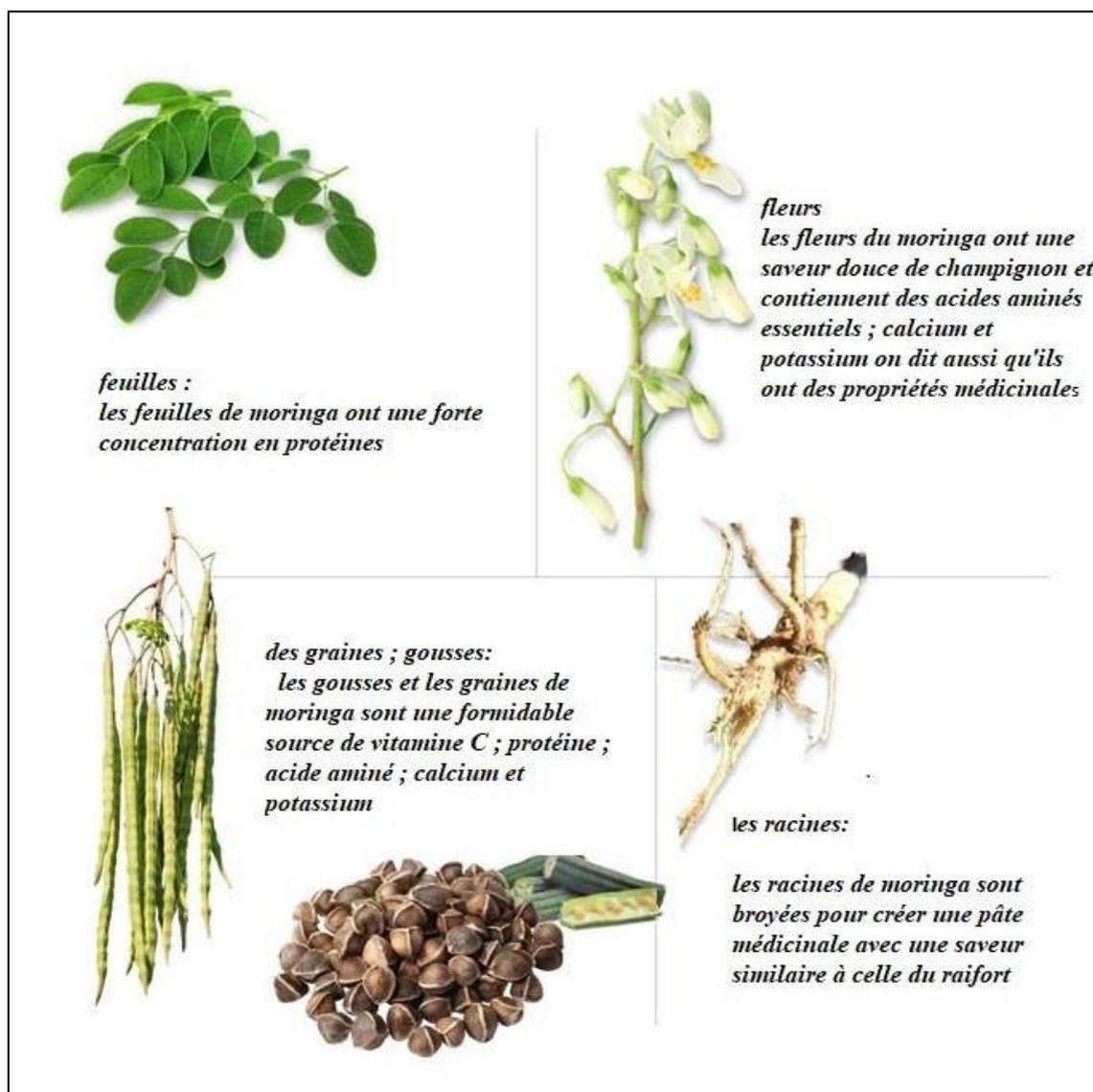


Figure 02 : Description botanique du *Moringa oleifera* (Adapter de Osman, 2012)

I. Composition chimique

Moringa oleifera (*M. oleifera*) est riche en composés contenant un sucre simple : le rhamnose et un groupe particulier de composés appelés glucosinolates et les isothiocyanates (Roloff, 2009). L'écorce de la tige contient deux alcaloïdes, à savoir la moringine et la moringinine. Des composés comme la vanilline, β -sitosterol, le β -sitostenone l'acide octacosanoïque, 4- hydroxymellin ont été isolés de la tige de *M. oleifera*. Les fleurs contiennent 9 acides aminés, le saccharose, le D-glucose, des traces d'alcaloïdes, de cire, de quercétine et de kaempferol (Maunder, 2003 ; Osman, 2012) .

La valeur nutritive des feuilles de Moringa est d'une richesse rarement observée (Laleye et *al*, 2015). En effet les feuilles contiennent certains pigments flavonoïdiques tels que le kaempferol, le rhamnetin, l'isoquercitrine et le kaempferitrin. Les composés antihypertenseurs tels que le thiocarbamate, l'isothiocyanate et les glycosides ont été isolés de la phase acétate de l'extrait éthanolique des gousses de Moringa (Henoune et *al*, 2015).

Les feuilles contiennent une concentration élevée en acide ascorbique, des flavonoïdes, des composés phénoliques, les caroténoïdes, du phosphore, du cuivre, les vitamines A, B et C, de riboflavine, l'acide nicotinique, des acides aminés comme la méthionine, la cystéine, et la lysine (Osman, 2012). Une nouvelle molécule le O-éthyl- 4-(β -L-rhamnosyloxy) carbamate de benzyle avec 7 autres composés bioactifs connus tels que : 4 (α -L- rhamnosyloxy)-isothiocyanate de benzyle, niazimicin, 3-O-(6'-O-oleoyl- β -D-glucopyranosyl)- β -sitostérol, β -sitostérol-3-O- β -D glucopyranoside, niazirin, β -sitostérol et glycerol-1-(9-octadecanoate) ont été isolés de l'extrait éthanolique de la graine de Moringa (Osman, 2012).

II.1.2. Valeurs nutritionnelles

Le Moringa *oleifera* est riche en sucres simples. 9 acides aminés, du saccharose, du D-glucose, des traces d'alcaloïdes, et de la cire et de la quercitrine sont les contenant principales de ces fleurs (Siddhuraju, 2003). Cette plante miracle contient des quantités de protéines et de micronutriments utiles pour prévenir la malnutrition (Faizi, 1998).

Les feuilles de la plante contiennent plus le fer que les épinards, plus de vitamine C que l'orange (7 fois plus de vitamine C que les oranges), plus de calcium que le lait, 4 fois plus de vitamine A que les carottes et plus de potassium que les bananes et contiennent une grande quantité d'acides aminés et de protéines (Figure 03) (Laleye, 2015).

Dans les pays en développement, des arbres de Moringa *oleifera* ont été utilisés pour lutter contre la malnutrition en particulier pour les mères allaitantes et les nourrissons. Moringa *oleifera* a été utilisé comme anti-inflammatoire, anti-cancéreux, anti-fertilité, antibactérien, anti- hyperlipidémique, anti-dépresseur, et anti-hépatotoxique (Dhakar, 2011).



Figure 03 : Comparaison de la valeur nutritionnelle de poudre de *Moringa oleifera* avec d'autres aliments (adapter de Laleye, 2015)

II.1.3. Effets thérapeutiques

- *Effet anti-inflammatoire*

L'inflammation est une réponse physiologique visant à protéger le corps contre les infections et à restaurer les lésions tissulaires (Moyol, 2011). Cependant, une inflammation chronique à long terme peut conduire au développement de maladies et de troubles associés à l'inflammation chronique tels que le diabète, le cancer, les maladies auto-immunes, les maladies cardiovasculaires, la septicémie, la colite et l'arthrite.

Les cytokines inflammatoires telles que l'interleukine-1 bêta (IL-1 β) et le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) peuvent réguler à la hausse la production d'oxyde nitrique (NO \bullet) et de prostaglandine E2 (PGE-2), stimulant ainsi l'expression ou améliorant l'activité de la NO synthase inducible (iNOS), de la cyclooxygénase-2 (COX-2) et de la PGE synthase-1 microsomale (mPGES-1) dans les cellules cibles (Council, 2008).

Des études mesurées dans un premier temps les activités antioxydantes des trois organes (feuilles, graines et racines) de *M. oleifera* et de leurs flavonoïdes totaux contenus, en outre déterminé leurs activités anti-inflammatoires, puis a évalué leurs profils phytochimiques par LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) en attendant de fournir des informations précieuses sur *M. oleifera* en tant que source naturelle d'antioxydants et d'anti-inflammatoires pour favoriser leurs applications en alimentation

fonctionnelle ou valeurs médicinales dans un proche avenir (Nair, 2006).

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires courants dans les plantes qui sont considérés comme bioactifs relativement non toxiques et jouent un large éventail d'effets biologiques ; l'action des flavonoïdes sur une variété des processus inflammatoires et les fonctions immunitaires ont été largement revu (Nair, 2006), et il a été démontré qu'ils pouvaient inhiber plusieurs enzymes activés dans certaines conditions inflammatoires.

Les extraits de plantes *M. oleifera*, les poudres de plantes et les huiles essentielles ont montré qu'ils possèdent des activités anti-inflammatoires et beaucoup de ces produits naturels végétaux ont des polyphénols comme composé principal (Khalil, 2010; Azab, 2016).

Cependant, les effets protecteurs des flavonoïdes dans les maladies cardio-vasculaires (MCV) par exemple via l'inhibition de NFκB n'ont pas encore été étudiés. Par conséquent, des études ont été concentrées sur les actions anti-inflammatoires des flavonoïdes via l'inhibition du NFκB (Figure 04).

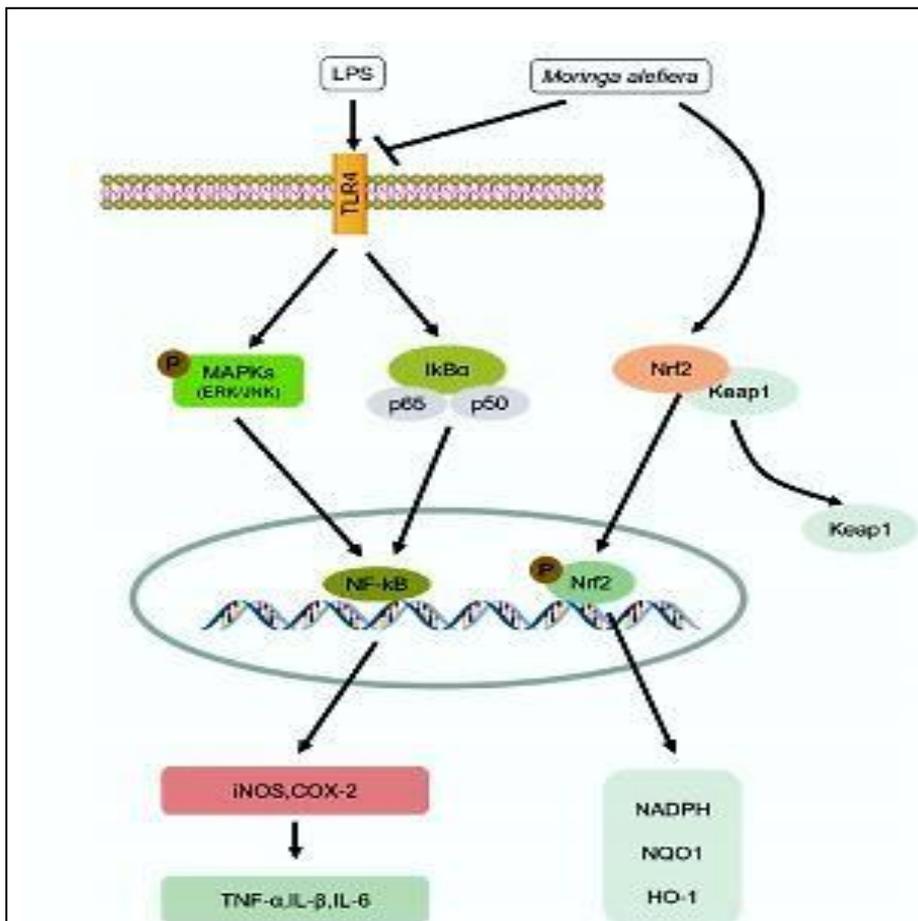


Figure 04 : Effet anti-inflammatoire de *M. oleifera* (Xianjuan et al., 2018)

▪ **Effet anti-Cancer**

Le *Moringa oleifera* a été étudié pour ses propriétés anticancéreuses pour inhiber la croissance de plusieurs cellules cancéreuses humaines (Khalafalla, 2010).

Les feuilles de *Moringa oleifera* peuvent lutter contre les dommages oxydatifs de l'ADN, associés au cancer et aux maladies dégénératives, (Khalafalla, 2010). Des études que l'extrait des feuilles de *Moringa oleifera* a inhibé la viabilité de la leucémie myéloïde aiguë, leucémie lymphoblastique aiguë et cellules hépatocellulaires de carcinome (Khalafalla, 2010). Plusieurs composés bioactifs présent dans cette plante, peut être responsable de son propriétés anticancer. L'extrait de feuilles de *Moringa oleifera* s'est également avéré efficace pour réduire les cellules cancéreuses du pancréas et du sein.

Des études se sont concentrées sur l'apoptose pour comprendre les voies et mécanismes impliqués dans cet agent désigné peut être découvert pour cibler l'apoptose en inhibant le cancer et d'autres maladies apparentées. Fondamentalement dans la voie intrinsèque (Figure 06), lorsqu'un agent anticancéreux est introduit dans la cellule dont il est perméable aux mitochondries, Bcl-2 et Bax seront exprimés (Rukayadi et al., 2016).

Bcl-2 et Bax sont des protéines régulatrices dans la voie intrinsèque qui libèrent le cytochrome c ou facteur d'induction de l'apoptose (AIF) alors l'apoptose se produira ; Cependant, les voies extrinsèques et intrinsèques sont interconnectées. L'induction des deux voies ont donné des valeurs bénéficiaires importantes (Rukayadi et al., 2016).

Dans l'étude d'extraits de feuilles de *M. oleifera* sur une lignée cellulaire tumorale humaine, l'extrait a pu provoquer une série des changements morphologiques tels que la formation de bulles membranaires des cellules, le rétrécissement de la membrane cytoplasmique, la perte de contact avec les cellules voisines et la formation de corps apoptotiques qui sont les caractéristiques indiquant la mort des cellules apoptotiques (Sreelatha et al., 2011). Les changements morphologiques sont causés par le clivage du substrat des caspases qui est impliqué dans les voies de l'apoptose. Il a été déterminé que l'apoptose induite par les extraits de feuilles de *M. oleifera* impliquait des voies intrinsèques (Figure 05).

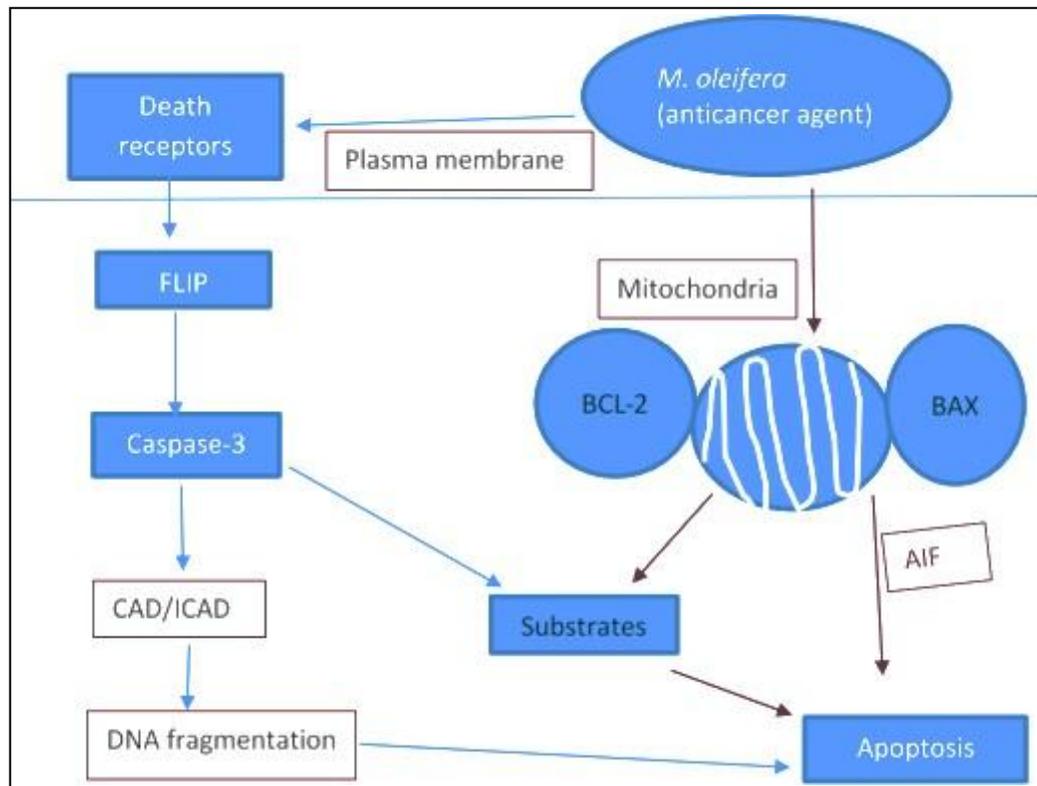


Figure 05 : Activation de la voie extrinsèques et la voie intrinsèque de l'apoptose par *M. oleifera* (Rukayadi et al., 2016)

- **Effet antimicrobien**

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des espèces de *Moringa* avec les rapports que les extraits de différentes parties de la plante *M. oleifera* - y compris graines, écorce de tige, feuilles et écorce de racine peuvent exercer un potentiel antimicrobien (Elgamily et al., 2018).

La lectine hydrosoluble isolée de l'extrait de graines de *M. oleifera* a des effets inhibiteurs sur la croissance, survie et perméabilité cellulaire de plusieurs espèces de bactéries pathologiques (Mehta et al., 2003).

De plus, l'extrait de racines de *M. oleifera* contiendrait un antibiotique actif ptérygospermine qui a puissants effets antibactériens et fongicides. L'aglycone de désoxyniazimicine isolée de la fraction chloroforme d'un extrait éthanolique d'écorce de racine de *M. oleifera* est responsable des activités antibactériennes et antifongiques (Nikkon et al., 2003), tandis que le jus de l'écorce de tige présente un effet antibactérien contre *Staphylococcus aureus* (Mehta et al., 2003).

Les extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de *M. oleifera* ont des propriétés antibactériennes prometteuses, avec de forts effets inhibiteurs sur les espèces à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*) sur les espèces à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus* et *Aeromonas caviae*) (Peixoto et al., 2011). De plus, l'extrait éthanolique de feuilles de *M. oleifera* a démontré la zone inhibitrice moyenne la plus élevée contre la croissance des mutants de *S. aureus* et de *Streptococcus* lors de la comparaison entre le dentifrice expérimental contenant l'extrait de différentes parties de la plante

M. oleifera et les solutions de bain de bouche (Nikkon et al., 2003).

II.1.4. L'effet des flavonoïdes sur certaines maladies

Les phytochimiques sont un groupe de produits chimiques produits par des plantes Par le métabolisme primaire ou secondaire qui protège contre des menaces temporaires ou continues et a joué un rôle dans la croissance et la reproduction des plantes (Samanta, 2017). Basé sur leur structure chimique, Les phytochimiques peuvent être classés en trois catégories principales : azote

/composés contenant du soufre, terpènes et phénols, qui comprennent flavonoïdes, acides

phénoliques et ligniers ou stilbènes (Heneman, 2008).

Les flavonoïdes sont un groupe de composés de diphenyl propane (C6-C3-C6) qui ne sont pas synthétisés par les humains, mais sont plutôt consommés régulièrement dans le régime alimentaire humain via des agrumes, légumes, Noix, Herbes épices.

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones, les anthocyanes et les tanins.

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (Benguerba, 2008).

➤ Quercétine

La quercétine ou 3, 3', 4', 5, 7-pentahydroxyflvanone qui entre dans la catégorie des flavonols est largement présente également dans des plantes comme le Ginkgo biloba, *Hypericum perforatum*, ainsi que dans des légumes comme les pommes, les baies, les raisins, les oignons, les échalotes et les tomates (Li et al., 2016) (Figure 06).

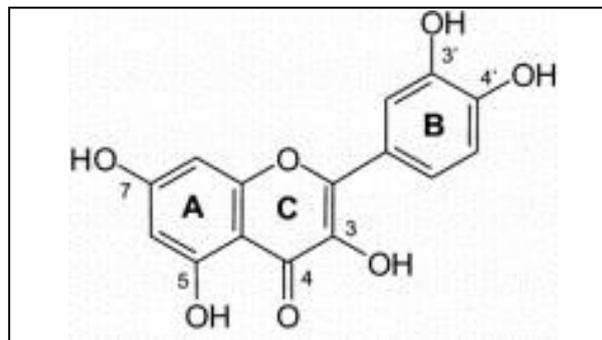


Figure 06 : Structure chimique du principe actif quercétine (Garcia-Mediavilla et al., 2007)

▪ L'effet de quercétine sur le cancer

La quercétine a montré des effets bénéfiques significatifs sur de nombreuses maladies. En raison de doses raisonnables de quercétine n'ont pas d'effets secondaires toxiques évidents sur les cellules normales, de plus en plus des chercheurs prêtent

attention à l'effet thérapeutique de la quercétine sur les tumeurs. De nombreuses études ont montré que la quercétine peut exercer des fonctions antitumorales dans une variété de mécanismes et a été confirmé dans des modèles *in vitro* et *in vivo* de diverses tumeurs, avec des résultats encourageants. La quercétine empêche significativement le cycle cellulaire, favorise l'apoptose, et inhibe l'angiogenèse et métastase *in vitro* (Vadafar et *al.*, 2020).

▪ Effet apoptotique

Les effets de la quercétine sur les cellules de cancer colorectal portant le gène mutant KRAS a révélé que la quercétine pourrait diminuer la viabilité cellulaire et augmenter l'apoptose dans les cellules cancéreuses sur la base du test MTT et de la formation de colonies. Les mécanismes sous-jacents possibles sont la répression de la voie AKT et l'activation du c-Jun voie de la kinase N- terminale (JNK) dans les cellules mutantes KRAS (Yang, 2019) (Figure 07).

Selon les données de littérature, cette construction contenant de la quercétine peut augmenter l'apoptose via amélioration de la caspase-3, caspase-9 et provoqué plus libération du cytochrome c (cyto-c). Nanoparticule de quercétine également la voie de signalisation Akt / ERK1 / 2 est réprimée, la télomérase transcriptase inverse (hTERT) via imminente AP-2 β / hTERT et cyclooxygénase 2 (COX-2) à inactivé le NF- κ B / COX-2 (Ren, 2017).

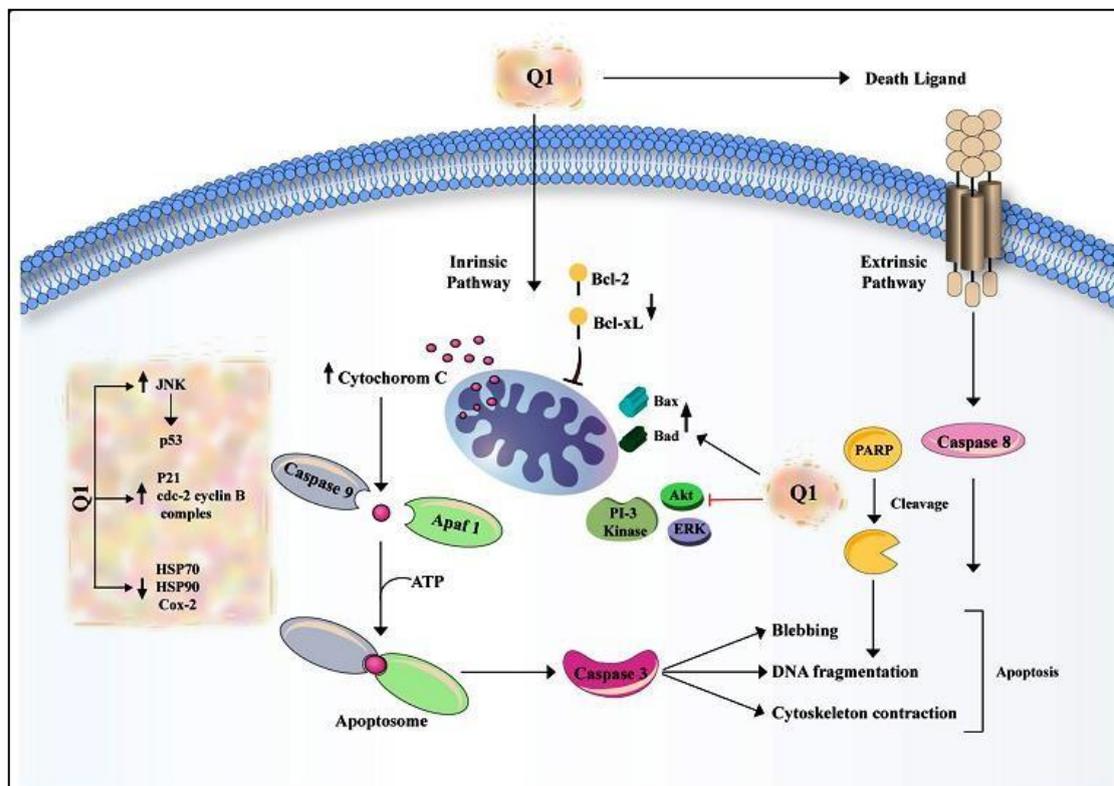


Figure 07 : Signalisation de l'activité apoptotique de la quercétine (Vadafar et *al.*, 2020)

▪ **Effet de la quercétine sur l'anti-angiogénèse**

L'angiogénèse est l'un des processus très importants liés au cancer. Il a été démontré que la quercétine exerce ses effets anti-angiogéniques dans divers cancers (Figure 08). De plus, la quercétine est capable de protéger contre les radicaux libres, y compris le tabagisme. Les radicaux libres provenant du goudron de cigarette peuvent causer des dommages irréparables aux membranes érythrocytaires. De plus, il a été rapporté que la quercétine et ses métabolites conjugués possèdent le potentiel de protéger les érythrocytes contre les dommages de la membrane résultant du tabagisme (Begum, 2002).

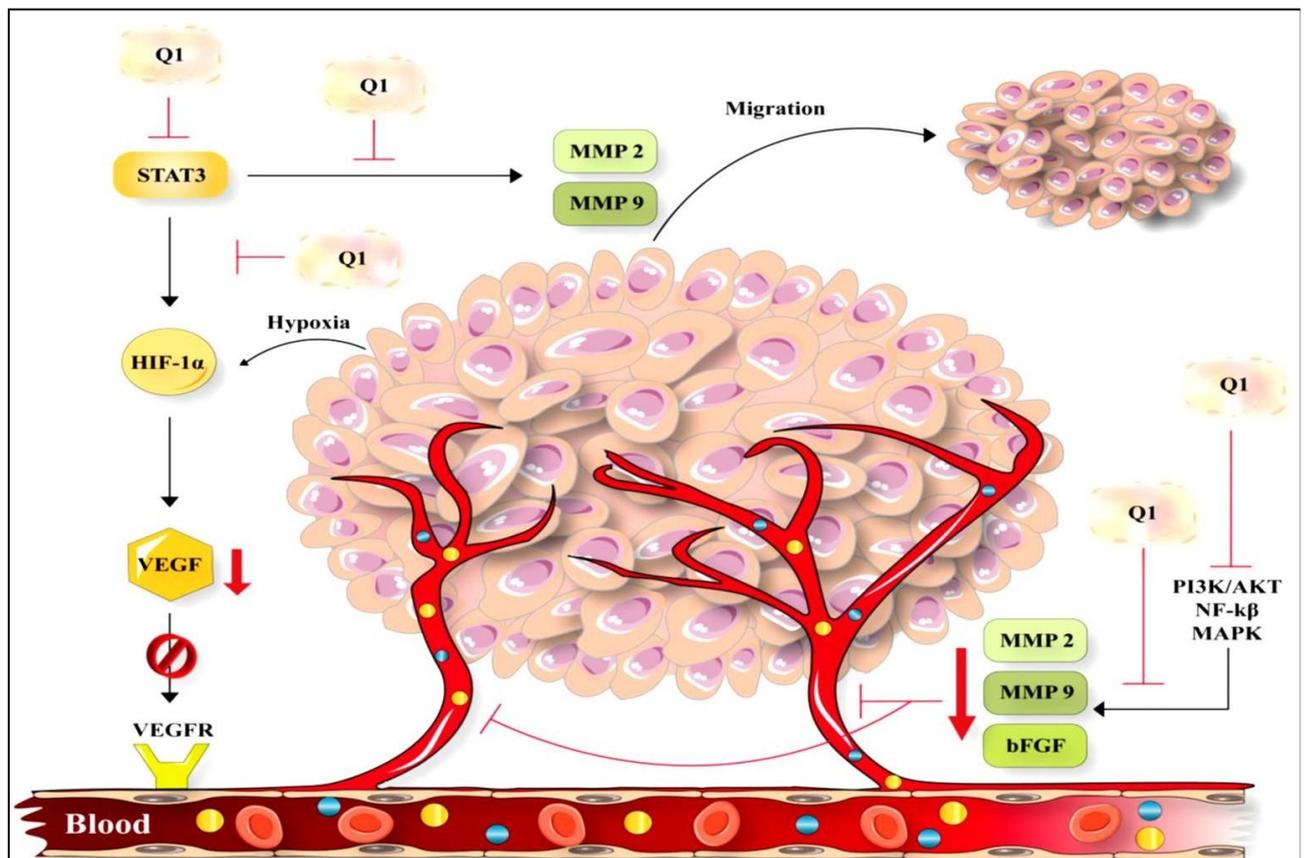


Figure 08: Effet de la quercétine sur l'anti-angiogénèse (Vadafar et *al.*, 2020)

▪ **Effet de la quercétine sur le cycle cellulaire**

La quercétine peut réguler le cycle cellulaire en contraignant directement plusieurs cibles moléculaires et, en fonction de type et l'origine de cellule tumorale, il bloque le

cycle de cellule à la transition G2/M ou à la transition G1/S. La quercétine bloque le cycle de la cellule en progression par la régulation ultérieure de P21 et P27 et P53. Sachant que P21 exerce une activité inhibitrice sur plusieurs CDK (Gibellini, 2011).

En particulier, P21 inhibe CDK2-Cycline E, avec l'inhibition résultant de CDK2-phosphorylation dépendante de la PRB et de la séquestration de E2F1 inhibant ainsi la transcription génique induite par E2F1 et la progression et à travers la phase S. P21 inhibe également CDK2- Cycline A et CDK1-Cycline B, qui sont essentiels à la progression de la phase S et G2, respectivement (Gibellini, 2011). P27 exerce plusieurs effets sur le cycle cellulaire, mais seulement dans certaines conditions, il peut inhiber les complexes CDK4-Cycline D et CDK6- Cycline D. Le suppresseur tumoral P53, une fois activé, peut induire plusieurs réponses cellulaires différentes, y compris la croissance arrestation et apoptose (Figure 09). L'arrestation de croissance est essentiellement suscitée à travers la régulation ultérieure des gènes qui codent pour les inhibiteurs de la progression du cycle cellulaire, y compris p21 et p27. Dans différents modèles cellulaires, la quercétine stabilise P53 à la fois chez l'ARNm et les niveaux de protéines. En dehors de blocage de la croissance des cellules à travers l'action directe sur les modulateurs clés de cycle cellulaire, la quercétine est capable d'induire la voie de l'apoptose Mitochondrial (Figure 09). En effet, elle peut perturber le potentiel de la membrane mitochondrial qui provoque à son tour la libération du cytochrome c dans le cytoplasme, un phénomène qui active plusieurs caspases, tels que la caspase-3 et -7 (Gibellini, 2011).

L'effet de la quercétine sur l'inflammation

Dans une étude clinique portant sur des patients souffrant d'inflammation

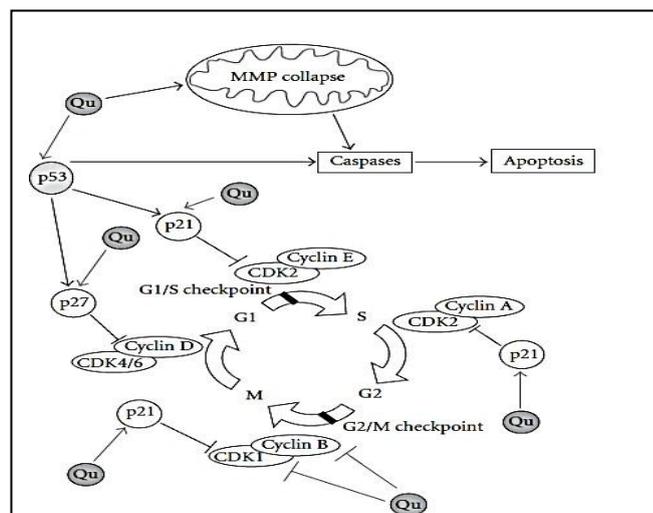


Figure 09 : Effet de quercétine sur le cycle cellulaire (Gibellini et al.,

2010)

systémique chronique (ISC) dans une maladie coronarienne stable, la quercétine a montré des effets anti- inflammatoires avec une réduction des indicateurs de l'ISC (Chekalina, 2018). La quercétine a diminué les niveaux d'IL-1 β et de TNF- α dans le sérum sanguin, en plus de diminuer l'activité transcriptionnelle de NF κ B dans les cellules mononucléaires sanguines (Chekalina, 2018).

Dans le modèle d'inflammation induite par la leptine utilisant des cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine, la quercétine a significativement supprimé la régulation à la hausse de l'expression d'Ob-Ra (récepteur de la leptine), la phosphorylation ERK1/2, NF κ B et TNF- α (Indra,2013).

➤ Kaempferol

Le kaempférol (3,4',5,7-tétrahydroxyflavone) est un flavonol qui est largement présent dans les fruits, les légumes et les herbes, y compris le raisin. (Smail, 2016) (Figure 10).

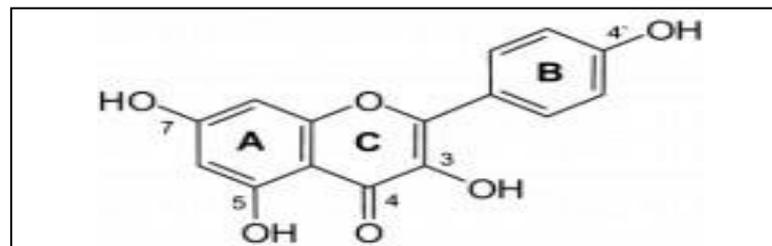


Figure 10 : Structure chimique du principe actif « kaempferol » (Garcia-Mediavilla et al., 2007)

▪ L'effet de Kaempferol sur le cancer

Kaempferol augmente les niveaux d'enzymes et de protéines pro-apoptotiques, tels que caspase-9, -7, -3, P21, P53, BAX, PARP et P-ATM (Diantini, 2012) et diminuent les niveaux des protéines anti-apoptotiques BCL2, Kinase à la forme de polo 1 (PLK-1), PAKT, récepteur d'insuline phosphorylée substrat 1 (PIRS-1), protéine kinase activée par mitogène phosphorylé (PMEK) 1/2, dépendant de la cycline Kinase 1 (CDK1), cyclines

A, B, D1 et E, et cathepsine D (Azevedo, 2015).

De plus, le kaempférol active de manière significative les cascades de la protéine Kinase (MAPK) activée par des mitogènes, qui sont des voies de signalisation clés impliquées dans la régulation de la prolifération cellulaire normale, de la survie et de la différenciation. En effet, Kaempférol active kinase (Erk) réglementée de signal extracellulaire, concomitante avec MEK1 et Elk; Bien qu'il réduit Emt et métastase. La voie de signalisation MAPK, lorsqu'elle est activée, conduit à la transcription de facteur activateur protein-1 (AP-1), cathepsine B et D, activation de MMP-2 et -9, et par conséquent réduit l'adhésion, la migration et l'invasion cellulaire.

En outre, le kaempférol abaisse également la glycémie transporter 1 (GLUT1) au niveau d'ARNm et empêche l'absorption de (3) H-désoxy-d-glucose ((3)H-DG) et transporte le

monocarboxylate 1 (MCT1) de lactate cellulaire médicinée menant au lactate extracellulaire provoquant une accumulation (Figure 11) (Azevedo, 2015)

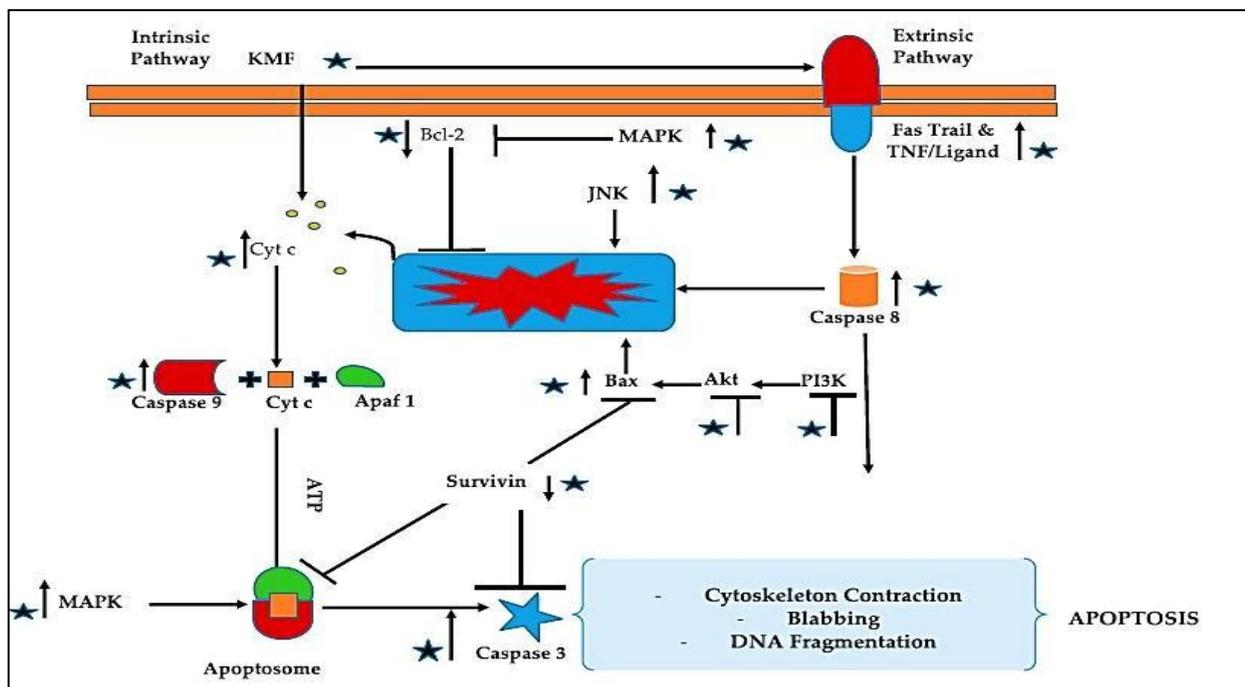


Figure 11 : Effet anti-apoptotique du kaempférol (Imran et *al.*, 2019)

▪ L'effet de kaempférol sur l'inflammation

Le kaempférol peut diminuer la libération de cytokines pro-inflammatoires en inhibant la phosphorylation de l'AKT et l'activation du NFκB (Liu et *al.*, 2015). Dans les lésions cardiaques induites par l'isoprénaline, le kaempférol peut améliorer les fonctions

hémodynamiques et ventriculaire gauche chez les rats mâles. Ce qui a permis de réduire la concentration sérique accrue de la CK-MB et de LDH, par conséquent, la morphologie du myocarde est préservée, et les niveaux de cytokines pro-inflammatoires sont réduits (Suchal, 2016). De même, le kaempférol peut empêcher les dommages cardiaques en inhibant l'expression protéique de NF κ B, p38 et JNK (Suchal, 2016), suggérant que l'action cardioprotectrice et anti-inflammatoire du kaempférol est associée à la voie de signalisation NF κ B.

Sachant que la protéine C réactive (CRP) est une protéine de phase aiguë produite par les hépatocytes dont l'élévation sérique est considérée comme un indicateur d'inflammation chronique et dont l'interaction avec les cellules endothéliales peut être le lien mécaniste entre la CRP et l'athérosclérose (Liang, 2006).

Il est connu que les flavonoïdes varient selon le type et le nombre de modèles de substitution qui présentent des activités anti-inflammatoires et anti-radicalaires (Odontuya, 2005). Les flavones quercétine et kaempférol ont des capacités légèrement différentes pour moduler les voies de signalisation intracellulaires (Wang, 2003). Ce qui a permis d'analyser l'efficacité des deux flavonoïdes en tant que composés anti-inflammatoires, en évaluant leurs effets en termes de capacité à moduler l'expression d'iNOS, de COX-2 et de CRP, et à induire des changements dans la NF- κ voie B dans les cellules hépatiques (Figure 13) (Wang, 2003).

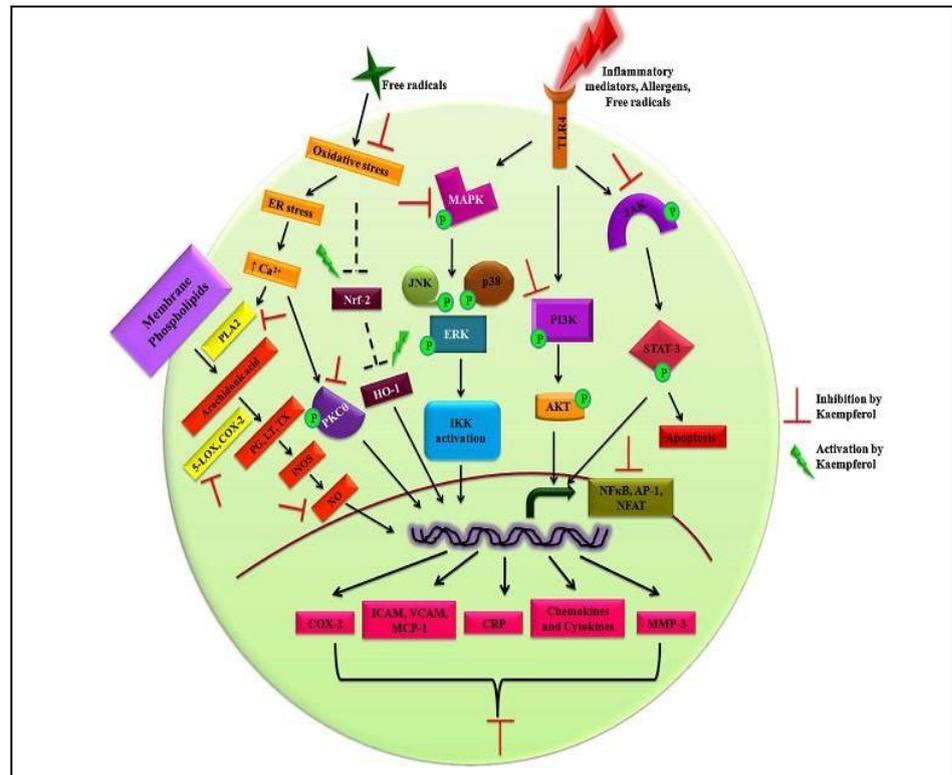


Figure 12: Mécanismes d'action de l'activité anti-inflammatoire du kaempférol (Nabavi et al., 2015)

▪ La dynamique entre quercétine et kaempférol

Les activités anti-inflammatoires de la quercétine et du kaempférol ont été partiellement décrites dans la littérature, avec des différences qui pourraient être dues à des effets dépendants des tissus et de la concentration. Ils ont donc examiné les effets de ces derniers de manière dépendante de la concentration. Il a été rapporté que les flavonoïdes agissent sur les cascades de signalisation des protéines kinases et lipides kinases telles que PI3K, Akt / PKB, tyrosine kinases, protéine kinase C (PKC) et MAPK (Spencer, 2010), inhibant la transcription de facteurs comme AP-1 ou NF- κ B. L'activité inhibitrice exercée sur les kinases est due à la compétition avec l'ATP pour la liaison aux sites catalytiques de ces enzymes, bloquant ainsi les processus de transduction du signal et d'activation cellulaire dans les cellules du système immunitaire (Freitas et al., 2015). Les effets inhibiteurs ou stimulants exercés sur ces voies sont susceptibles d'affecter le fonctionnement cellulaire en modifiant l'état de phosphorylation des molécules cibles et en modulant l'expression des gènes (Williams,

2004).

En tant qu'agents anti-inflammatoires, les flavonoïdes ont un mécanisme d'action similaire aux AINS, car ils inhibent les COX responsables de la synthèse des PG, qui sont également impliqués dans les processus physiologiques. L'activité *in vitro* des flavonoïdes dans la réponse inflammatoire implique également d'autres médiateurs inflammatoires tels que les cytokines, les molécules d'adhésion et les chimiokines (Agati G, 2012). Ils ont été décrits comme de bons modulateurs de la production de cytokines. Les exigences structurales pour qu'un flavonoïde exerce une bonne inhibition du TNF stimulé par le LPS α la libération sont la présence d'une double liaison en position C2-C3, avec une fonction « oxo » en position C4 et la présence de groupes OH en positions 3'; Effet inhibiteur des flavonoïdes sur ROS, NO et PG. Le LPS se lie au TLR4 et déclenche la génération de ROS qui activent la translocation nucléaire de NF- κ B. Le NF- κ B médie l'expression d'iNOS et de COX. Ces enzymes synthétisent respectivement NO et PG. le symbole en forme de T représente l'activité inhibitrice (Leyva-López, 2016).

Les activités moléculaires des flavonoïdes comprennent l'inhibition de facteurs de transcription tels que NF- κ B et AP-1, ainsi que l'activation du facteur nucléaire érythroïde 2 lié au facteur 2 (Nrf2) (Tuñón, 2009) (Figure 15).

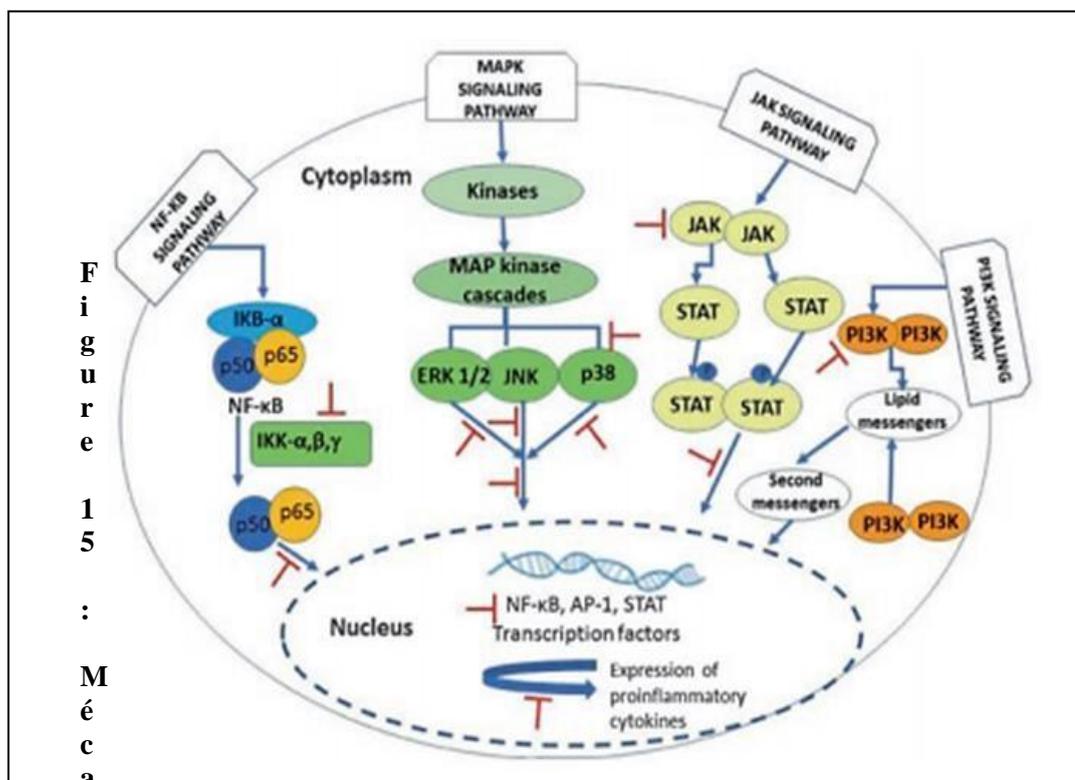


Figure 13 Mécanisme d'action des flavonoïdes (Muschiatti *et al.*, 2018)

I.1. *Brassica oleracea* (Brocoli)

I.1.1. Description botanique

Le brocoli est originaire de la région méditerranéenne orientale et de l'Asie Mineur (Petkowicz et Williams 2020), il a été introduit en Amérique et en Angleterre au 17ème siècle et en Chine à la fin des années 1900 (Li et al., 2019). Le Brocoli atteint une hauteur de 60 à 90 cm et forme une tige verte épaisse et ramifiée avec des feuilles inférieures en forme de coriace et des oblongues gris-bleu en forme de rosette. Le brocoli a des grappes vertes comestibles densément remplies de boutons fleuris (fleurons) qui s'ils ne sont pas récoltés, fleurissent en fleurs jaunes à quatre pétales et produisent des fruits siliques. L'inflorescence (tête) du brocoli est formée par ses fleurons et ses tiges supérieures (Figure 16) (Ilahy et al., 2020). Le Brocoli (*Brassica oleracea* var. Italica) est une culture herbacé annuelle de saison fraîche, se caractérise par un cycle de culture et de vie de quelques mois seulement, au cours d'une même année. Le brocoli pousse mieux à des températures comprises entre 13 et 20°C (Figure 2) (Ilahy et al., 2020).

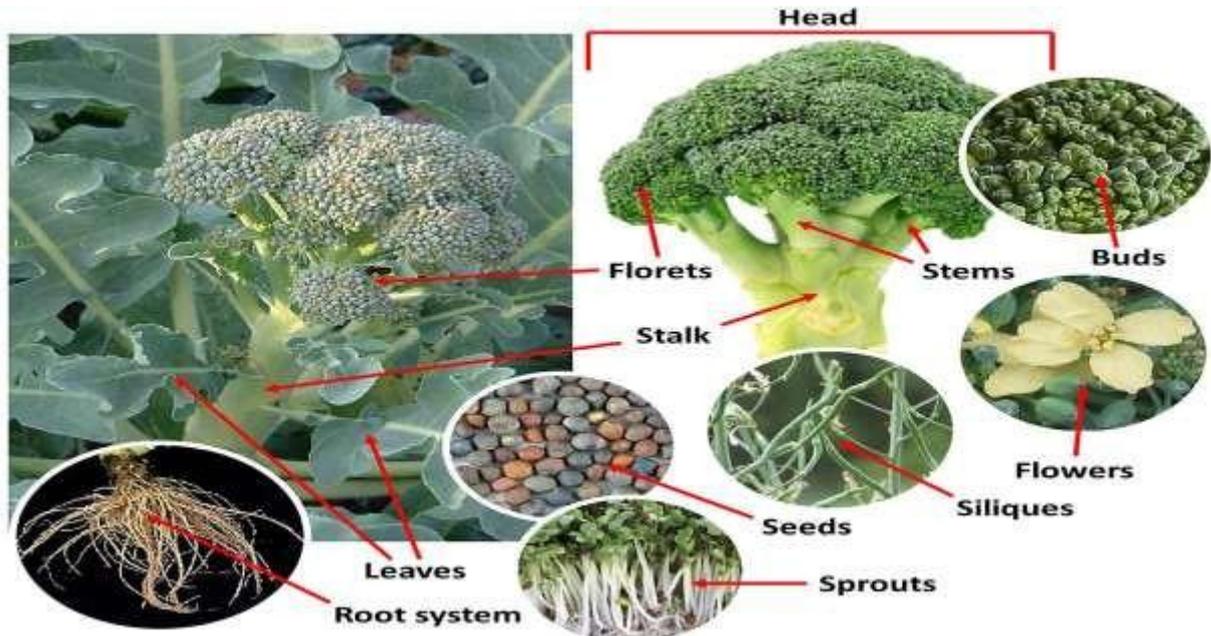


Figure 14: Anatomie du brocoli (*Brassica oleracea* L., var. Italique) (Ilahy et al., 2020).

I.1.2. Classification

Le Brocoli appartient à la famille des crucifères (Brassicacées) et est un parent des choux

de Bruxelles, du chou, du chou-fleur et du chou frisé (Ilahy et al., 2020).

(Classification hiérarchique de brocoli, 2022)

Règne : Plantae

Haeckel **Sous-**

Règne : Viridiae

Plantae **Classe :**

Equisetopsida C.

Clade :

Permatophyta

Sous-Classe :

Magnoliidae

Ordre : Brassicales

Famille : Brassicaceae

Genre : Brassica L.

Espèce : *Brassica Oleracea* L.

Sous-Espèce : *Brassica Oleracea* subsp. Botrytis (L.)

Variété : *Brassica Oleracea* Var. Italica Plenck

Le brocoli est originaire de la région méditerranéenne orientale et de l'Asie Mineur (Petkowicz et Williams 2020), il a été introduit en Amérique et en Angleterre au 17ème siècle et en Chine à la fin des années 1900 (Li et al., 2019).

I.2. Effet nutritif de brocoli

Il existe une grande variation dans les nutriments et les composés phytochimiques des différentes parties botaniques du brocoli (Figure 16).

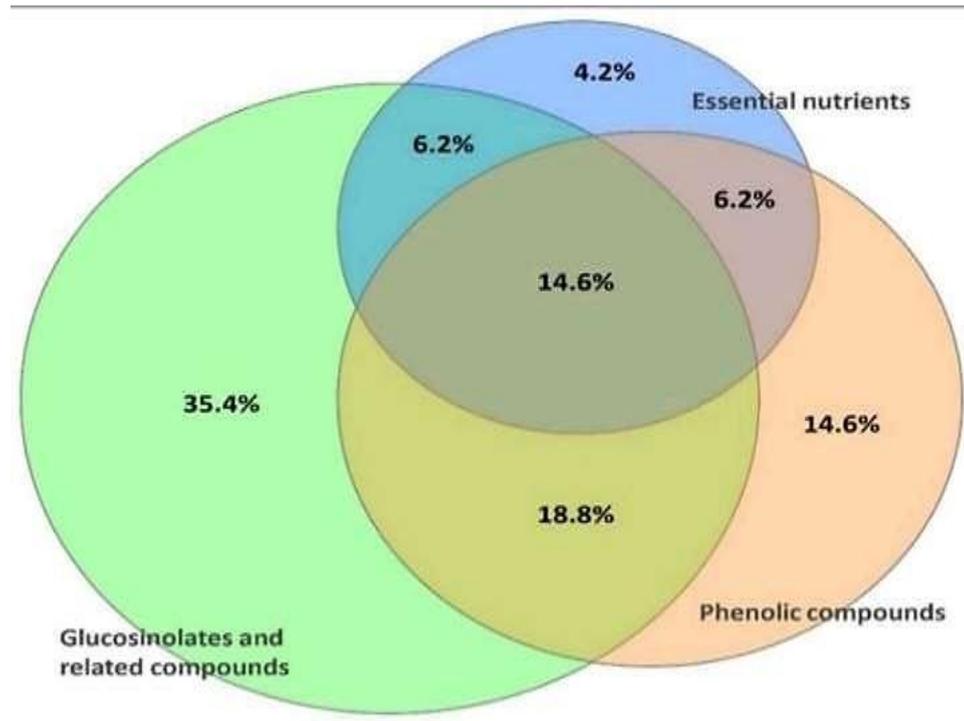


Figure 15 : Résumé des principe actifs analysés au cours des dix dernières années sur les pousses de brocoli (Le et al., 2020).

I.2.1. Glucides

Il est démontré que les tiges de brocoli contiennent 62,67 à 68,32 g/100 de poids sec de glucides totaux, plus que les fleurons (51,85 à 56,89 g/100 poids sec) et les feuilles (46,16 à 56,44 g/100 poids sec) Y' compris l'amidon, les fibres alimentaires et le sucre (Dufoo-Hurtado et al., 2020).

Les processus de germination pourraient diminuer les glucides totaux des graines de brocoli (López-Chillón et al., 2019), probablement en raison de l'hydrolyse de l'amidon lors de la germination, pour cela les graines sont les parties utilisées en thérapie.

I.2.2. Protéines

Le brocoli est une bonne source de protéines végétales (Dufoo-Hurtado et al. 2020). Les grains de brocoli (âgés de 10 jours) contenaient environ 43,88 mg /g de protéines (Samec et al., 2018). La tyrosine était l'acide aminé le plus abondant dans les fleurons de brocoli (70,0 mg/ g poids frais), les tiges (32,0 mg/g poids frais) et les feuilles (35,0 mg/g poids frais)(Campas-Baypoli et al., 2009).

I.2.3. Lipides

Les lipides sont des constituants mineurs des fleurons, des tiges, des feuilles et des pousses de brocoli, tandis que les graines de brocoli contiennent comparativement plus de lipides (**Dufoo-Hurtado et al., 2020**).

Les acides gras polyinsaturés (AGPI) étaient les principaux acides gras des graines de brocoli (71,39 %), avec la présence de proportions plus faibles d'acides gras mono insaturés (AGMI) (20,08 %) et d'acides gras saturés (AGS) (8,53 %) (**López-Chillón et al., 2019**).

I.2.4. Minéraux

Le brocoli est une bonne source de certains minéraux, tels que le calcium, le zinc et le fer (**Liu et al., 2018**).

I.2.5. Vitamines

Le brocoli est une source de vitamines diverses tel que vitamine A, vitamine C, vitamine E. Les feuilles de brocoli semblaient accumuler plus de vitamine C (2,92 mg d'acide ascorbique/g poids sec) que ses fleurons (2,54 mg d'acide ascorbique/g poids sec) et ses graines (2,69 mg d'acide ascorbique/g poids sec) (**Le et al., 2020**).

I.3. La composition chimique du brocoli

Les glucosinolates, les polyphénols, les vitamines, les minéraux et les fibres alimentaires sont les principales molécules présentes dans le brocoli.

I.3.1. Glucosinolates

Les Glucosinolates (GLS) sont des métabolites végétaux secondaires solubles dans l'eau, sont les composés caractéristiques des légumes Brassica (**Almushayti et al., 2021**).

La structure générale des GLS possède une unité β -D-glucopyranose connectée à une fonction Z-thiohydroximate anomérique dont l'oxygène est sulfaté et a une chaîne latérale R qui est la seule variable structurale (**Fahey et al., 2001**) ; (**Rollin et Tatibouët 2011**)(Figure 17).

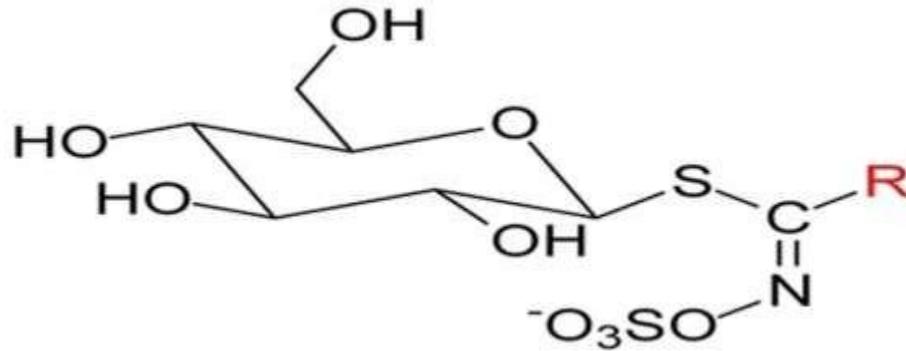


Figure 16 : Structure générale des Glucosinolates (Montaut *et al.*, 2012).

Les Glucosinolates (GLS) sont classés en groupes aliphatiques (dérivés de la méthionine, de l'isoleucine, de la leucine ou de la valine), Aromatiques (dérivés de la phénylalanine ou de la tyrosine) ou indole (dérivés du tryptophane) Source spécifiée non valide..

Parmi ces composés, les GLS les plus abondants sont la glucoraphanine, la glucoibérine, la glucoérucine, la glucobrassicine et la néoglucobrassicine. En particulier, la glucoraphanine représentait plus de 50 % de la teneur totale en GLS (Pérez-Balibre *et al.*, 2008) ;(Yang *et al.*, 2016) ;(Guo *et al.*, 2014). Les GLS prédominants dans les graines de brocoli sont la glucoraphanine, la glucoérucine et la glucobrassicine, qui sont enzymatiquement convertis en sulforaphane (SFN), érucine (ERN) et ibérine, respectivement (Clarke *et al.*, 2011). Les 3 classes des glucosinolates sont montrées dans la **figure 18**.

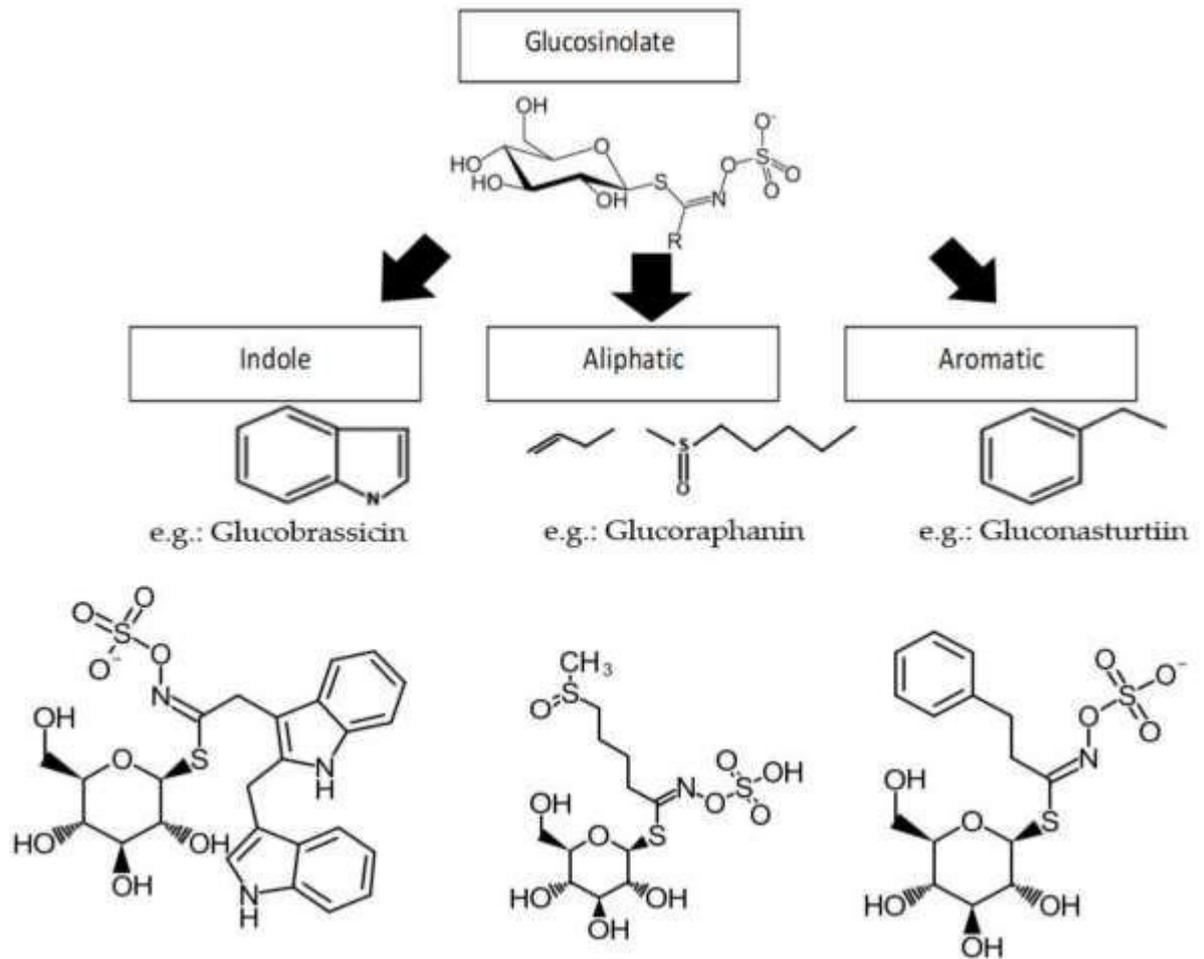


Figure 17 : Trois grandes classes des Glucosinolates (Kamal et al., 2022).

Lorsque les tissus végétaux sont mécaniquement endommagés, les GLS pourraient être hydrolysés par l'enzyme myrosinase en une variété de produits de dégradation, y compris les isothiocyanates (ITC), les Thiocyanates, les nitriles, les épithionitriles et les oxazolidines (Guo et al., 2014) (Figure 18). Notamment, les GLS ne sont pas les composants fonctionnels des légumes crucifères, mais plutôt leurs produits d'hydrolyse sont les composés bioactifs putatifs (Clarke et al., 2011)

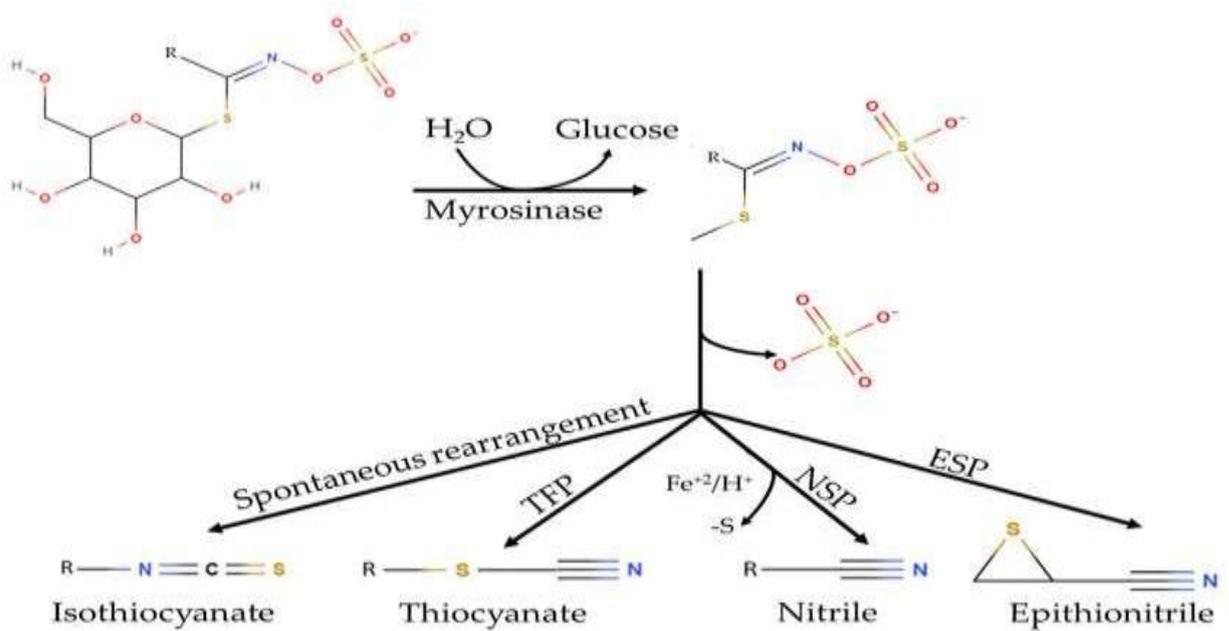


Figure 18: Hydrolyse des Glucosinolates (Roman et al., 2020).

I.3.2. Isothiocyanates

Les isothiocyanates sont les produits d'hydrolyse des glucosinolates. Ils sont plus actifs que les Glucosinolates (Almushayti et al., 2021) ; (Yuanfeng et al., 2021). L'isothiocyanate le plus étudié est le sulforaphane (SFN), qui est le produit de dégradation de la lucoraphanine (Almushayti et al., 2021) ; (Villaño et al., 2019).

I.3.3. Sulforaphane (SFN)

Le *R*-sulforaphane (*R*-4-méthylsulfinylbutyl ITC) est l'ITC naturel résultant de dégradation enzymatique de la glucoraphanine dans les graines de brocoli (Montaut et al., 2012) (Figure 20). Le sulforaphane (SFN) a été analysé comme un composé majeur parmi le total de 17 *R*-sulforaphane (ITC) identifiés à partir des graines et des pousses de brocoli (Guo et al., 2013); (Baenas et al., 2017).

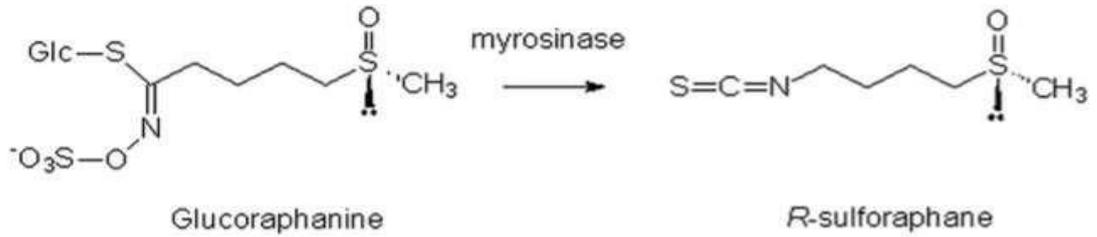


Figure 19 : Formation du R-sulforaphane à partir de la glucoraphanine (Montaut et al.,2012).

Une fois que le sulforaphane est entré dans le système circulatoire, il peut être métabolisé en sulforaphane-glutathion, sulforaphane-cystéine et sulforaphane-N-acétyl- cystéine dans la voie de l'acide mercapturique, qui peuvent tous être utilisés comme biomarqueurs pour mesurer l'absorption du sulforaphane (Figure 21) (Villaño et al., 2019 ; Almushayti et al., 2021).

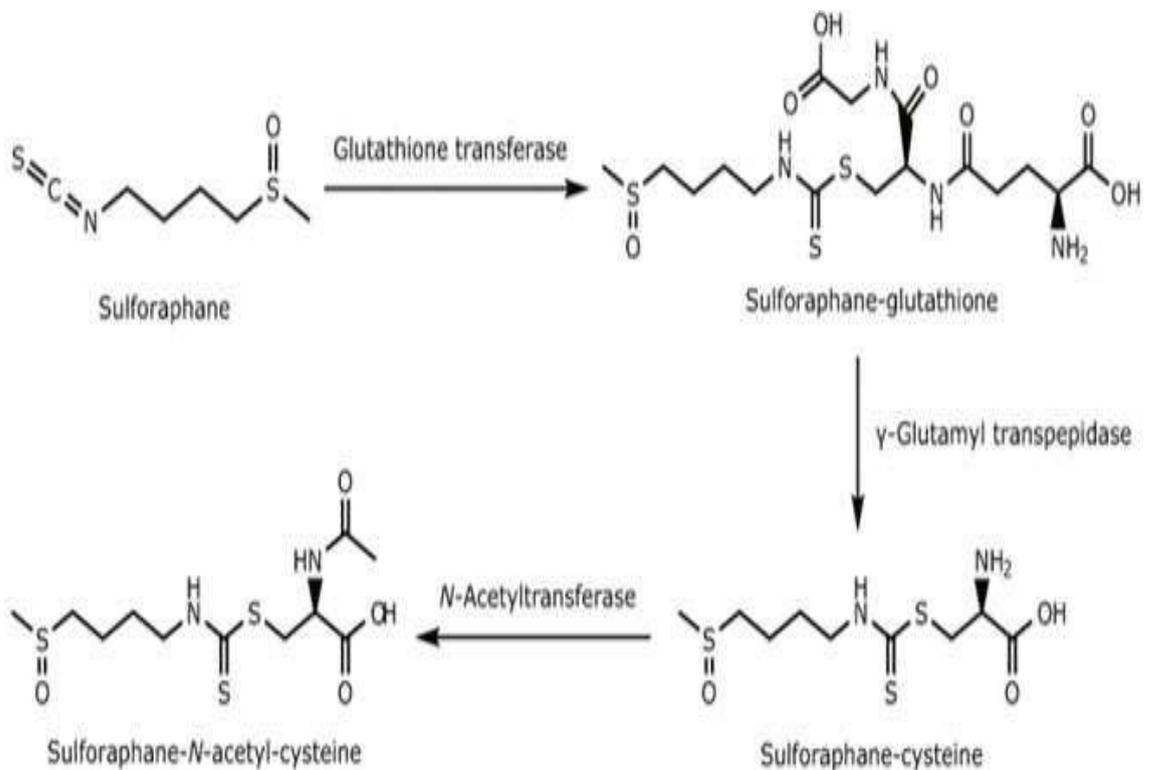


Figure 20 : Voie métabolique du sulforaphane (Li et al., 2022).

I.3.4. Composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires produits dans les plantes par les voies phénylpropanoïde et shikimate (Abellán et al., 2019). Sur la base de leur structure, qui comprend un ou plusieurs cycles aromatiques avec des substituants hydroxyle attachés (Figure 22), les composés phénoliques totaux peuvent être classés en différents sous-groupes, tels que « les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les lignanes, les quinones, les stilbènes et les curcuminoïdes » (Kumar et Goel 2019).

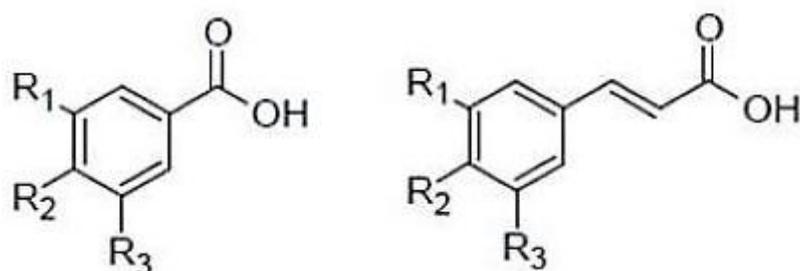


Figure 21: Structure générale de l'acide phénolique (A : acide hydroxybenzoïc ; B : acidehydroxycinnamic dans lequel (R1, R2, R3 = H, OH or OCH3) (Crozier et al., 2007).

I.4. Effets thérapeutiques

Les graines de brocoli et leurs composants bioactifs ont un large éventail de propriétés bénéfiques potentielles pour la santé. Les effets bénéfiques, tels que les antioxydants, les anticancérigènes, les antimicrobiennes, les anti-inflammatoires, et bien d'autres, ont été largement étudiés in vitro et in vivo au cours de la dernière décennie (Bahadoran et al., 2013) ; (Yang et al., 2016) (Figure 23).

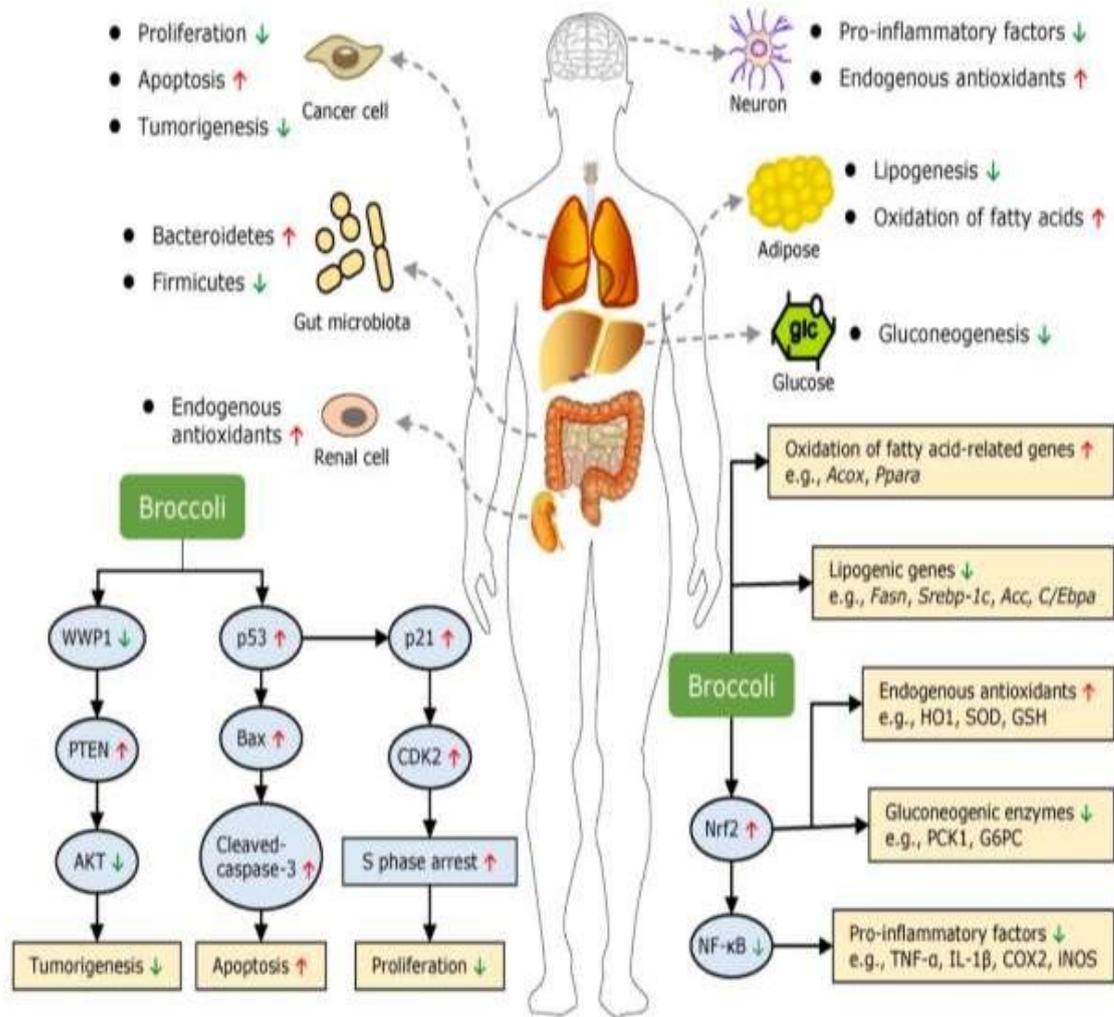


Figure 22 : Les bienfaits du brocoli pour la santé (Li et al., 2022).

1.4.1.1. L'effet antibactérienne

Le brocoli et ses composés dérivés exercent des activités antibactériennes, ces derniers ont été testées in vitro sur différents agents pathogènes d'origine alimentaire, tels que *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, et *Salmonelle typhimurium* (Le et al.,2020).

- Exemple : l'infection bactérienne à Helicobacter Pylori

L'*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) est une bactérie, bacille spiralé et flagellé à Gram-négatif (Mignon 2005). Cette bactérie est cancérigène, peut survivre et se multiplier dans l'estomac grâce à une enzyme (uréase) très active qui transforme l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone, augmentant ainsi le pH et neutralisant l'acidité gastrique (Mégraud et Lamouliatte 1992) ; (Rokkas et al., 2010). Des études récentes montre que l'isothiocyanate sulforaphane (SFN) est un antibiotique très puissant et sélectif contre *H. pylori*, il

est sous enquête intense pour ses effets protecteurs contre une variété de maladies chroniques (Fahey et al., 2015) (Figure 24). Le SFN a également été signalé comme un efficace inhibiteur de l'uréase (Figure 25), il réduit la colonisation de *H. Pylori* et l'inflammation (Fahey et al., 2013).

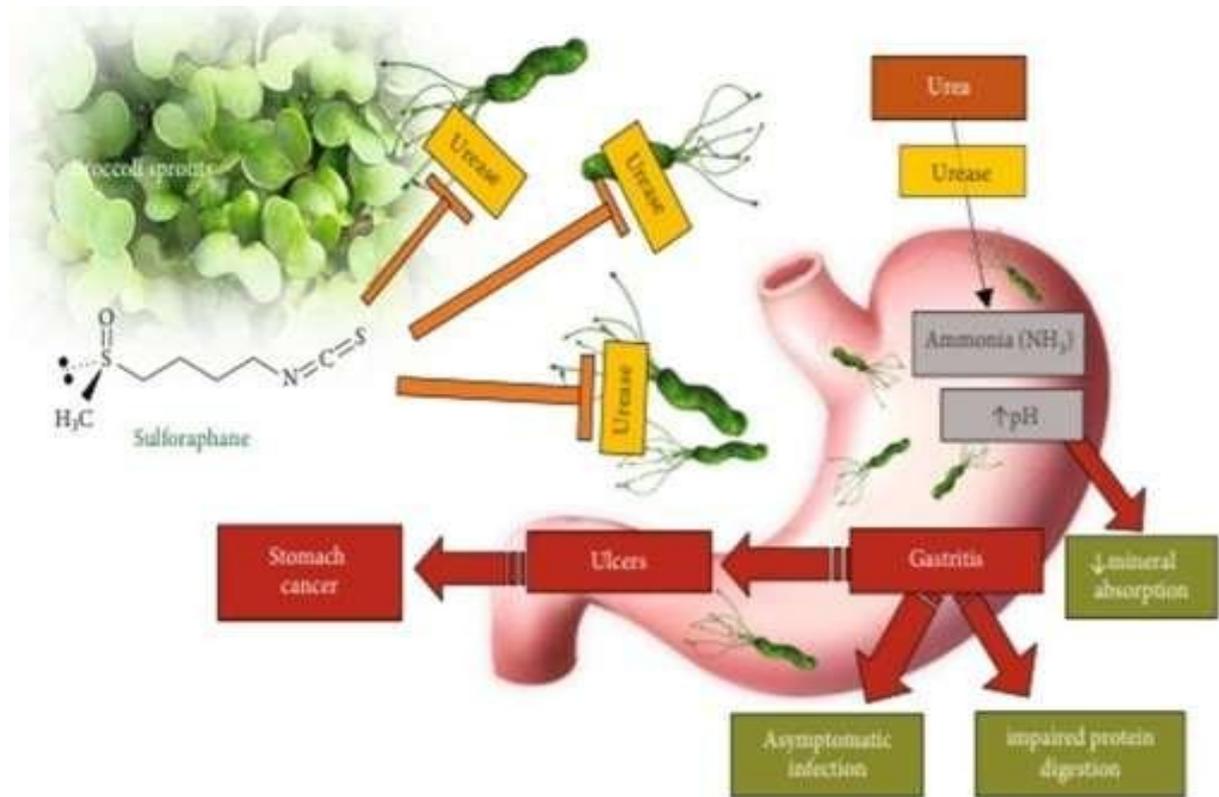


Figure 23 : Le mécanisme proposé par lequel le SFN inhibe l'uréase synthétisé par *H.Pylori* et réduit les risques des maladies associés à cette infection (Houghton, 2019).

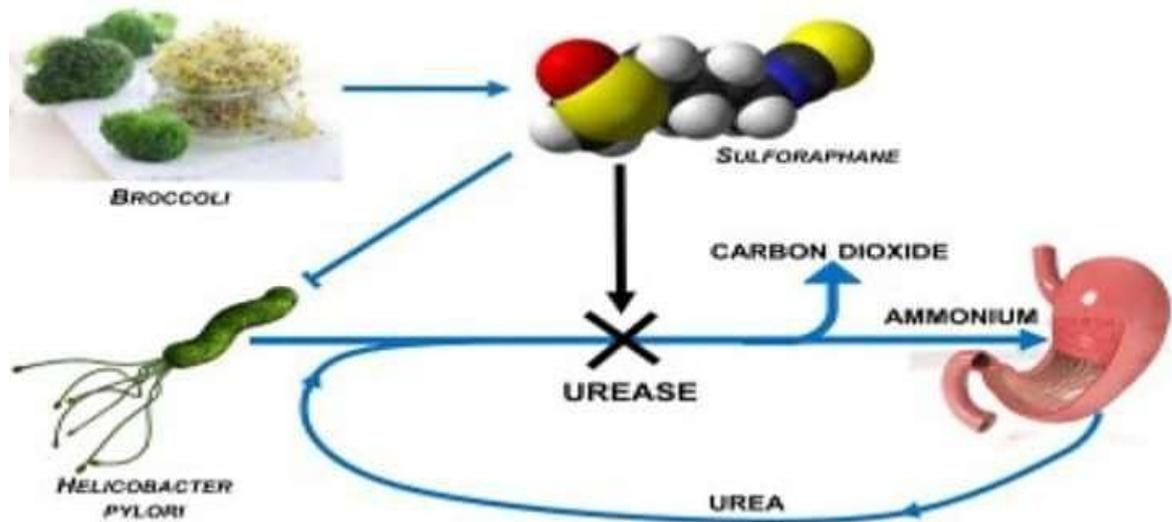


Figure 24 : L'inactivation d'uréase par le sulforaphane (Fahey *et al.*, 2013).

I.4.1.2. L effet antivirale

Des études ont montré que le SFN peut aider un organisme à combattre certains virus, notamment le VIH, la grippe, l'hépatite C et, plus récemment, le Sars-Cov2. Ces résultats suggèrent que le SFN protège le système immunitaire tout en régulant la formation de radicaux libres par le contrôle de l'expression des gènes antioxydants par le facteur de transcription Nrf2 (Mahn et Castillo 2021).

- **Exemple : l'infection virale SARS-CoV-2**

Le SFN présente dans le brocoli augmente la défenses antioxydante, anti-inflammatoire et antivirale principalement via l'activation du facteur de transcription Nrf2 (nuclear factor erythroid-2-related factor 2). Le Nrf2 contrôle l'expression des gènes antioxydants et cytoprotecteurs (Dinkova-Kostova *et al.*, 2002).

le ciblage de la voie Nrf2 a été considéré comme une approche prometteuse pour développer des traitements contre le COVID-19 (Olagnier *et al.*, 2020) (Figure 14)

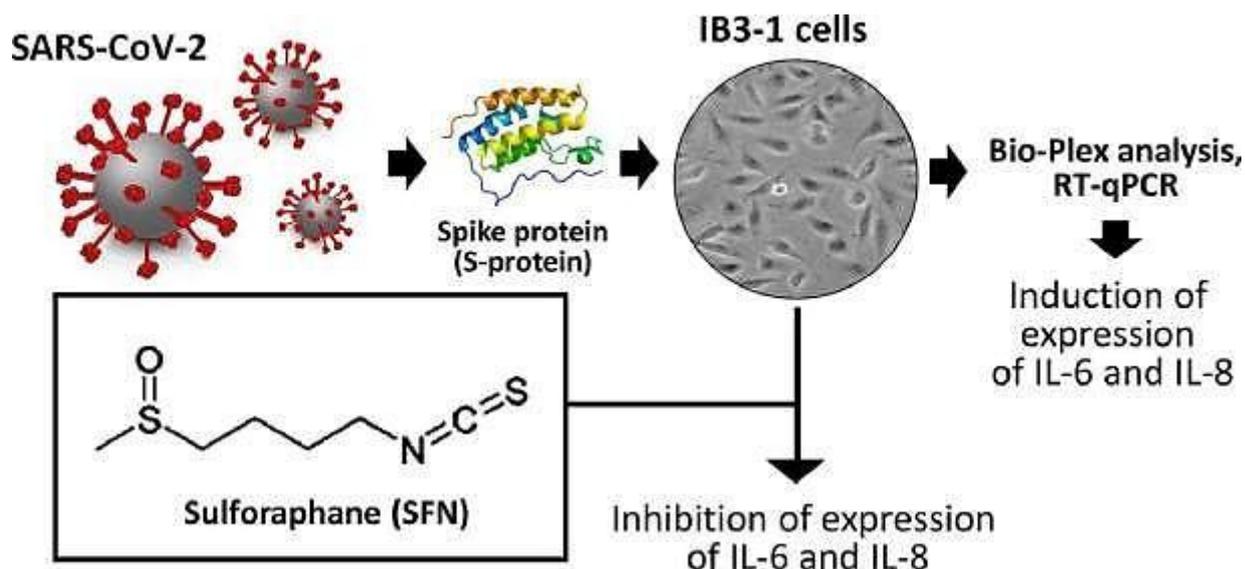


Figure 25 : Effet du sulforaphane sur l'expression de l'IL-6 et de l'IL-8 dans les cellules branchiales IB3-1 induite par la protéine SARS-CoV-2 Spike (Gasparello *et al.*, 2021).

I.4.2. L effet anti-inflammatoire

Une réponse inflammatoire appropriée protège non seulement le corps humain de l'invasion microbienne, mais augmente également la capacité des tissus et des cellules à restaurer la stabilité et à renforcer le système immunitaire (Medzhitov 2008) ;(Tung *et al.*, 2008). Au cours des processus de réponse inflammatoire, les facteurs liés à l'inflammation sont activés pour favoriser la production de médiateurs inflammatoires (Baluk *et al.*, 2009). Le Facteur nucléaire κ B (NF κ B) est incontestablement l'un des régulateurs les plus essentiels de l'expression des gènes pro-inflammatoires et a longtemps été considéré comme un modèle de signalisation pro-inflammatoire. C'est un facteur de transcription qui joue un rôle crucial dans l'inflammation (Dinkova-Kostova *et Talalay* 2008) ; (Wei *et al.*,2020). Il contrôle la transcription des gènes liés à des biomarqueurs pro-inflammatoires, dont la NO synthase inducible (iNOS), le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α) et l'interleukine1 β (IL1 β) (Silverman *et Maniatis* 2001) ; (Wei *et al.*, 2020). Au repos, le complexe NF κ B « un hétérodimères p50–p65 » est généralement séquestré dans le cytoplasme lié aux membres de la famille des I κ B kinases inhibitrices (Cette interaction avec la

protéine kinase I κ B retarde l'activité de liaison à l'ADN et masque les séquences de localisation nucléaire de NF κ B) (Ghosh *et al.*, 1998) ;

(Silverman et Maniatis 2001) ; (Wei et al., 2020) . Après stimulation cellulaire liée au stress, aux bactéries, aux virus et aux cytokines pro-inflammatoires, la kinase IκB est phosphorylée, suivie d'une dégradation des kinases, ce qui laisse le dimère de NFκB libre .il est transloquer dans le noyau et induire la transcription des cytokines pro-inflammatoires (IL- 6, IL-10, TNF-α) (Ruhee et al., 2020).

Le SFN inhibe la phosphorylation de IκB et la translocation de NFκB, réduisant ainsi l'inflammation (Qin et al., 2017) ;(Heiss et al., 2001) (Figure 15). Le SFN peut également prévenir l'inflammation en empêchant la liaison de NFκB à l'ADN (Heiss et al., 2001).

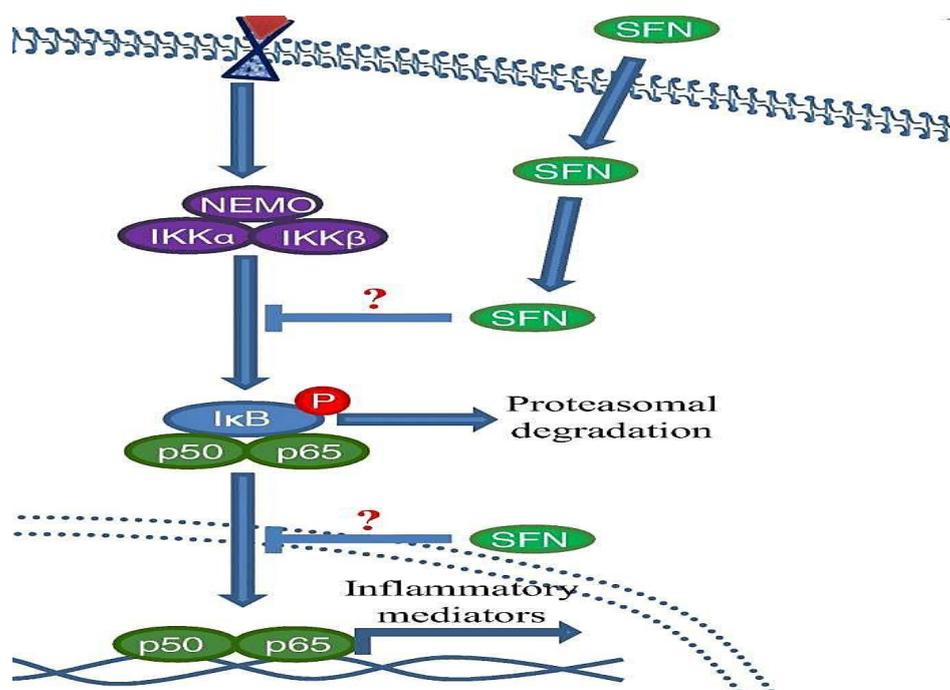


Figure 26: Effets du sulforaphane sur la voie NFκB (Santín-Márquez et al., 2019).

Le sulforaphane est capable d'inhiber la phosphorylation IκB et la translocation nucléaire NFκB, bien que le mécanisme d'action exact ne soit pas entièrement connu ainsi NFκB est capable de se transloquer dans le noyau et de transcrire plusieurs médiateurs inflammatoires (Santín-Márquez et al., 2019).

I.4.3. L effet anti-oxydant

Le terme stress oxydant désigne une inadéquation entre le système oxydatif et antioxydant d'un organisme, ainsi que les capacités antioxydantes d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (**Barouki 2006**). Le brocoli est surtout connu pour sa large gamme de composés bioactifs et sa teneur élevée en antioxydants nutritionnels et non nutritionnels, tels que les vitamines, caroténoïdes, les composés phénoliques (**Fuente et al., 2019**) ; (**Le et al., 2019**) ; (**DiBella et al., 2020**) ; et les Glucosinolates, et ont à la fois des activités anticancéreuse et antioxydante (**Shiva et Jung-Ho 2014**). Ces activités sont en raison de la capacité des Glucosinolates à accumuler les espèces réactives de l'oxygène et à prévenir le stress oxydatif (**Shiva et Jung-Ho 2014**). La **glucoraphanine** dans le brocoli est hydrolysée en sulforaphane par l'enzyme myrosinase ou par le microbiote intestinal. Le sulforaphane inhibe la dégradation de Nrf2 médiée par KEAP-1, permettant à Nrf2 de migrer du cytoplasme cellulaire vers le noyau où il se lie à l'élément réactif antioxydant (ARE) dans les régions promotrices des gènes cibles de Nrf2, augmentant ainsi leur transcription, et donc leurs activités. Il en résulte une diminution des ROS et des facteurs impliqués dans l'inflammation et la fibrose (**Liebman et Le 2021**).

Le **Nrf2** est un facteur de transcription critique dans la réponse au stress antioxydant. L'activation de ce gène par le SFN a entraîné la production d'une batterie de gènes cytoprotecteurs aux propriétés anti-carcinogène, Antioxydantes, et les enzymes de phase II, tels que NAD(P)H, quinone oxydoréductase-1, hème oxygénase1 (HO-1) (**Kensler et al., 2013** ; **Liu et al., 2015**). Le **SFN** contenu dans le brocoli semble atténuer certains des effets des espèces réactives de l'oxygène et d'autres inducteurs endommageant les cellules, en inhibant les enzymes d'activation de phase I (PI), comme les cytochromes P450, et l'induction d'enzymes antioxydantes et de détoxification PII, comme la quinone réductase, la thiorédoxine

réductase 1 et l'hème oxygénase 1 (HO-1) (**Zhang et Tang 2007**) ; (**Juge et al., Traka 2007**) ; (**Gasper et al., 2007**).

Les enzymes PII régulent l'état redox dans les cellules de mammifères en maintenant un équilibre précis entre le niveau d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les endogènes thiols présents dans la cellule, en particulier le GSH et la thiorédoxine (Trx), qui protègent les cellules des dommages oxydatifs. Les enzymes PII sont également essentielles au maintien de l'équilibre du NAD⁺/NADH et NADP⁺/NADPH (**Dinkova-Kostova et Talalay 2008**).

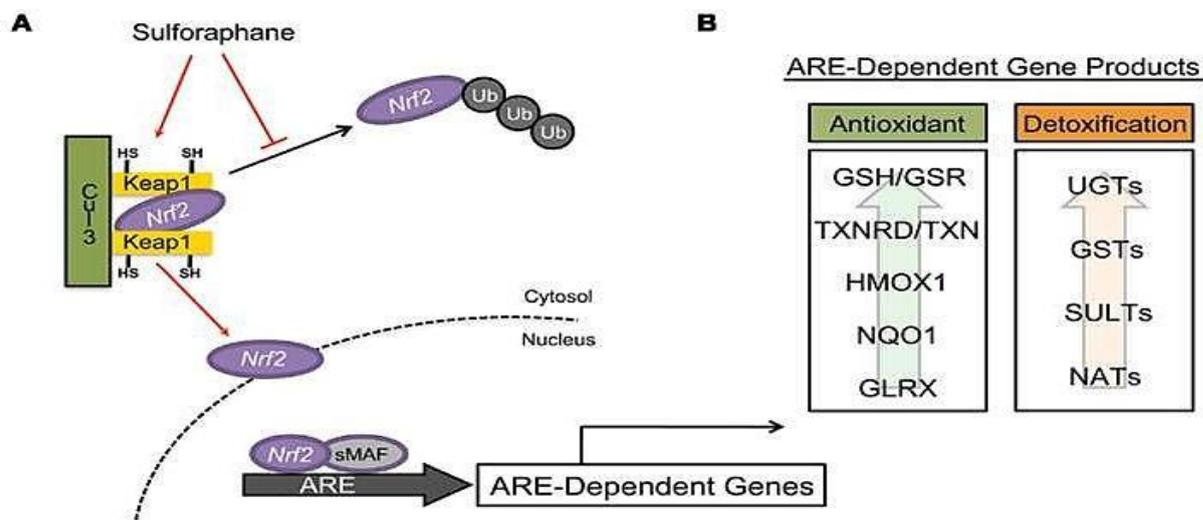


Figure 27 : Mécanisme d'induction d'enzyme détoxifiants et antioxydantes médiés par l'ARE et par le sulforaphane (Ruhee et Suzuki 2020).

Dans les conditions basales, le facteur de transcription NRF2 est séquestré dans le cytosol par les protéines répresseurs Keap1 et cullin3 (CUL3), le présentant pour la dégradation protéasome via l'ubiquitination. Le sulforaphane, par modification des résidus cystéine hautement redox sensible de Keap1, facilite la dissociation du complexe KEAP1/CUL3/NRF2, libérant NRF2 qui se transloque dans le noyau. Une fois dans le noyau, NRF2 s'apparie de manière hétéromérique avec des petits facteurs de transcription MAF se liant aux éléments de réponse antioxydante ARE contenus dans la région promotrice de nombreuses enzymes, initiant leur transcription. Ensuite, il provoque la transcription de divers enzymes de détoxification de phase 2 et des enzymes de défense antioxydante telles que la glutathion S-transférase (GST), hème oxygénase 1 (HO-1), la NADPH quinone oxydoréductase (NQO) et la thiorédoxine réductase (TR) pour réduire l'oxydation (Ruhee et Suzuki 2020).

Les produits géniques médiés par ARE sont généralement classés comme des enzymes de détoxification ou des antioxydantes (Santín-Márquez et al., 2019).

I.5.1. Effet Anti Cancer

Ce dernier améliore la signalisation proliférative, évite les suppresseurs de croissance, résiste à la mort cellulaire, permet l'immortalité répliquative, induit l'angiogenèse et

active l'invasion et les métastases. Deux nouvelles caractéristiques ont été ajoutées récemment pour, elles reprogramment le métabolisme énergétique et évitent la destruction immunitaire, appelées caractéristiques émergentes « l'instabilité et la mutation génomiques, et l'inflammation favorisant la tumeur **Figure28** : Effets anticancérigènes du sulforaphane (Bai et al., 2015).

(Hanahan et Weinberg 2011).

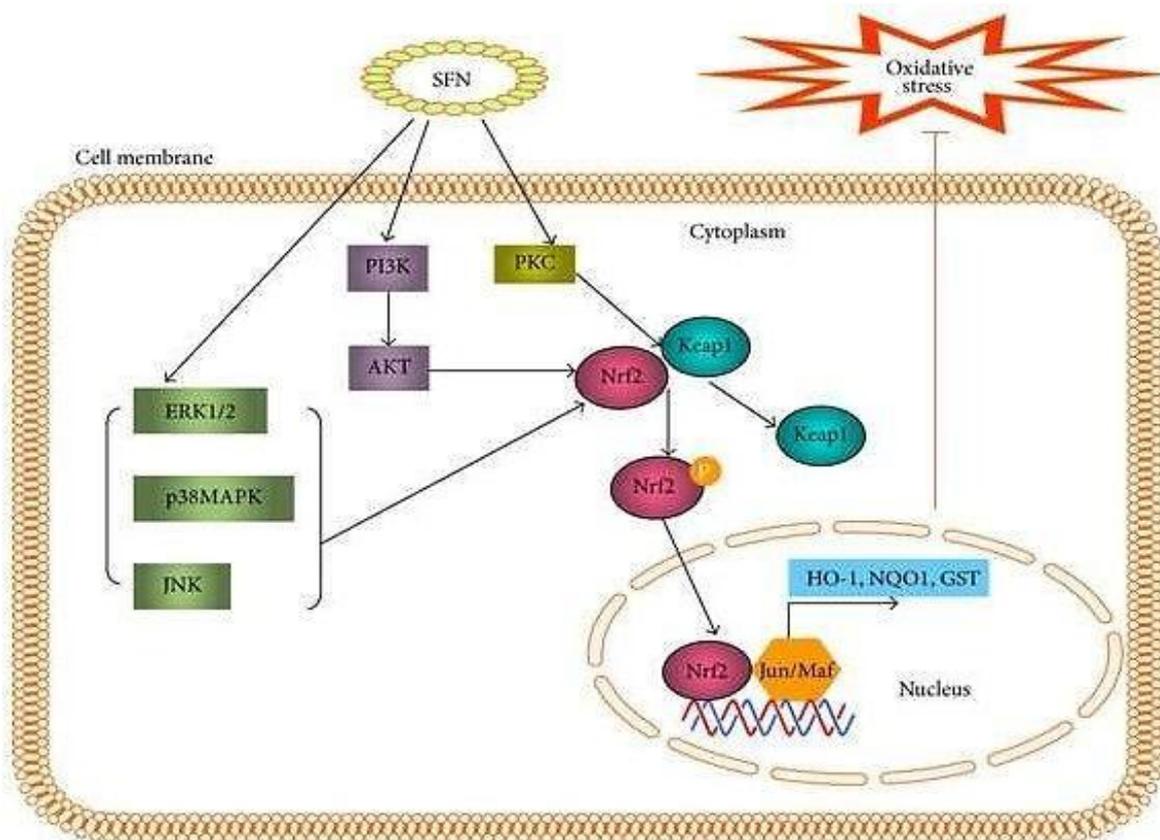


Figure28: Effets anticancérigènes du sulforaphane (Bai et al., 2015).

L'activation du Nrf2 par le sulforaphane (SFN). Le SFN active trois protéines kinases activées par les mitogènes (MAPK) : la protéine kinase régulée par le signal extracellulaire (ERK), la kinase N-terminale c-Jun (JNK) et p38 ; ceux-ci peuvent stimuler l'activation de Nrf2. Le SFN peut également activer la protéine kinase C (PKC), qui phosphoryle directement Nrf2. Alternativement, le SFN active Nrf2 via le phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) et la protéine kinase B (AKT). En fin de compte, la phosphorylation de Nrf2 déclenche la translocation nucléaire et l'induction de la transcription génique médiée par l'élément de réponse antioxydant (ARE), réduisant ainsi le stress oxydatif (Bai et al., 2015)(Figure30).

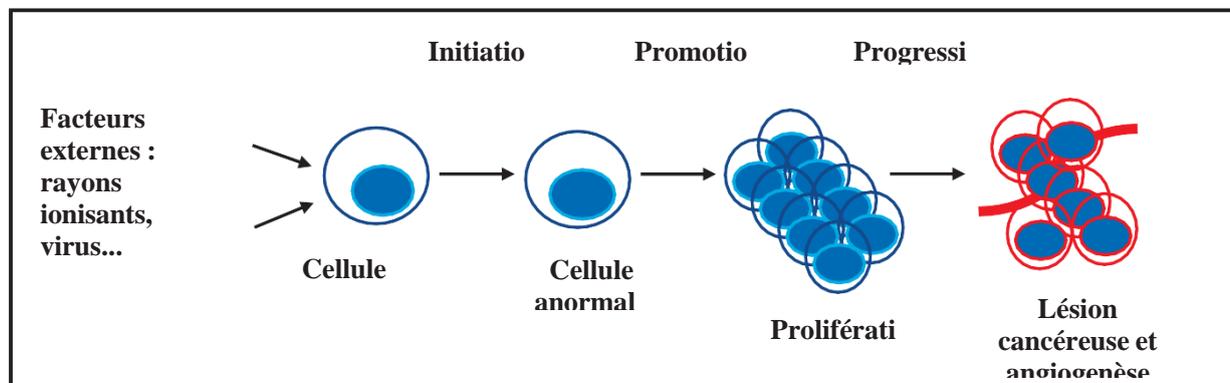
Partie 3 : Les pathologies cancéreuses

Physiologie, épidémiologie

La cellule est l'unité fondamentale fonctionnelle de tous les organismes vivants. C'est la plus petite unité pouvant fonctionner et se reproduire de manière autonome. Le corps humain est composé de milliard de cellules. Cependant, ces cellules peuvent présenter des perturbations de leur fonctionnement physiologique à la suite d'une grande variété de phénomènes, conduisant à la formation de cellules anormales cancéreuses, qui, par divers mécanismes de multiplication non contrôlées, de contournement des voies de signalisation et d'échappement au système immunitaire, vont être à l'origine de pathologies cancéreuses.

Ces cellules deviennent anormales par un phénomène de cancérogenèse ou oncogénèse correspondant à la transformation d'une cellule saine en une cellule cancéreuse. Il est constitué de trois phases, l'initiation, la promotion et la progression.

Figure 29 - Mécanisme du développement tumoral



Des facteurs externes (virus, radiations, agents génotoxiques, consommation d'alcool, tabac...) ou internes (âge, prédispositions génétiques...) vont être à l'origine de dommages aux acides nucléiques, de mutations ponctuelles ou d'autres anomalies cytogénétiques (déséquilibre chromosomique, gains, pertes ou translocations de séquences d'ADN...). L'accumulation de ces anomalies génétiques va altérer le fonctionnement de trois types de gènes :

- *Les « proto-oncogènes » qui, à l'état physiologique, exercent une fonction normale dans la cellule, mais, en cas d'altérations deviennent « oncogènes », et seront à l'origine d'une*

stimulation anormale de la division cellulaire. C'est par exemple le cas d'Her2, impliqué dans le cancer du sein, qui lorsqu'il est amplifié en grande quantité va induire une prolifération anormale de la cellule (3).

-

- *Les « anti-oncogènes » ou « suppresseur de tumeur » qui, une fois mutés, ne peuvent plus assurer leurs rôles qui sont multiples : régulation du cycle cellulaire, induction de l'apoptose en cas de dommage*

-

Trop importants... Une perte de fonction au niveau des protéines synthétisées par ces gènes sera donc en faveur d'un développement tumoral (exemple : p53 muté dans un grand nombre de cancers (4))

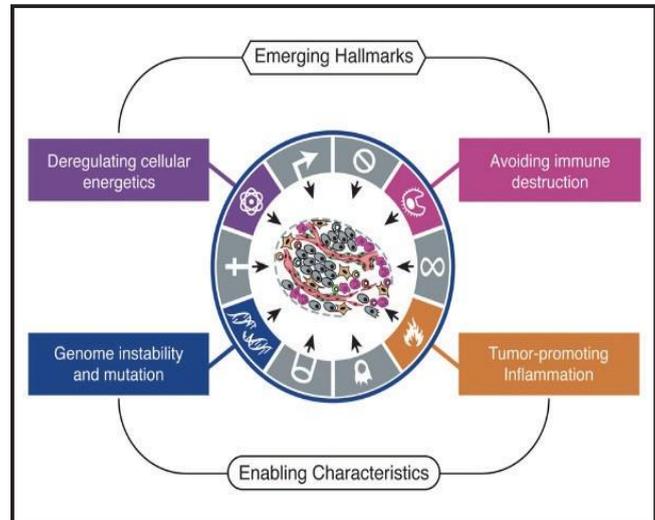
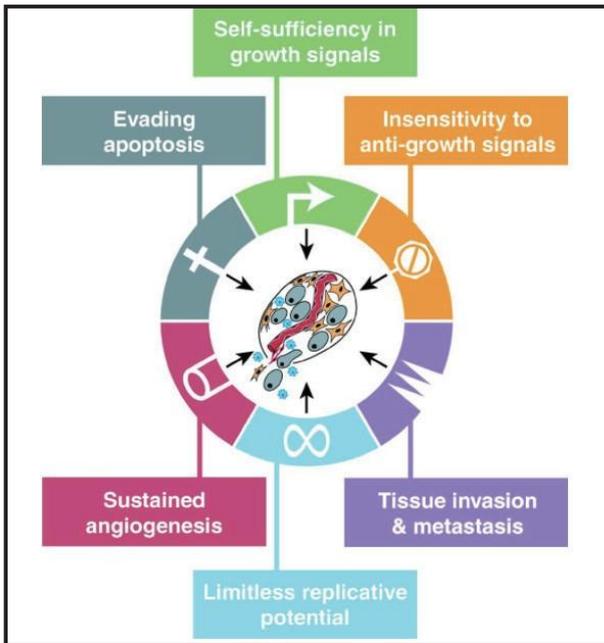
- *Les gènes de réparation de l'ADN qui, s'ils sont mutés, ne peuvent plus assurer leur rôle de maintien de l'intégrité cellulaire en réparant les lésions de l'ADN, secondaires à une agression interne ou externe, ou en corrigeant les erreurs commises lors de l'étape de réplication de l'ADN. C'est le cas de la protéine MSH2, qui va être associé au cancer de la prostate en cas d'instabilité au niveau de ses microsatellites (5).*

-

La cellule cancéreuse possède 6 caractéristiques acquises importantes : une activation constitutionnelle des voies de la prolifération cellulaire, une résistance aux signaux inhibiteurs de la croissance cellulaire, une évvasion face aux signaux d'apoptose, une capacité de réplication illimitée, une production de molécules favorisant l'angiogenèse, et la faculté de migrer et d'envahir d'autres organes (processus métastatique) (7). Ces mécanismes sont résumés dans la figure 2.

Figure 30- Les propriétés facilitantes et émergentes des cellules tumorales(8)

Figure 29 - Les propriétés caractéristiques des cellules tumorales (7)



L'acquisition de ces 6 caractéristiques acquises propres aux cellules tumorales découle en réalité de plusieurs mécanismes, classés en caractéristiques favorisantes et en caractéristiques émergentes (figure 3).

a) **Traitements et effets indésirables**

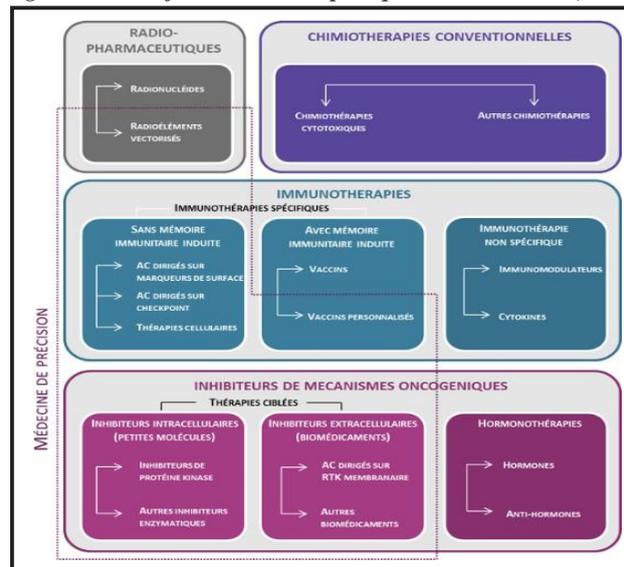
On peut définir trois classes de traitements anticancéreux : le traitement chirurgical, la radiothérapie et le traitement médicamenteux.

Le traitement chirurgical consiste en une exérèse partielle ou totale de la tumeur. Il peut également être utilisé à des fins de diagnostic (biopsie), de prophylaxie (exemple : mastectomie prophylactique et cancer du sein) ou de reconstruction.

La radiothérapie consiste à irradier les cellules cancéreuses afin de modifier leur appareil génétique et bloquer leur multiplication, permettant ainsi leur destruction. Ce traitement peut être employé par voie interne (administration ou implantation) ou externe (rayonnements ionisants ciblant les tissus à détruire).

Le traitement médicamenteux regroupe plusieurs classes d'anticancéreux : la chimiothérapie conventionnelle cytotoxique, l'hormonothérapie, les thérapies ciblées, l'immunothérapie et la biothérapie (figure 5, (13)).

Figure 31- Classification des thérapeutiques anticancéreuses, INCa (13)



Les traitements anticancéreux sont donc à l'origine de nombreux effets indésirables pouvant être d'une grande gravité. L'apparition de ces évènements

indésirables graves sont fonctions de plusieurs paramètres : type d'anticancéreux, dose administrée, association de molécules réalisée au sein d'un protocole, mais dépend aussi de certains paramètres propres au patient et de son état hysiopathologique, de sa génétique, et de ses autres traitements.

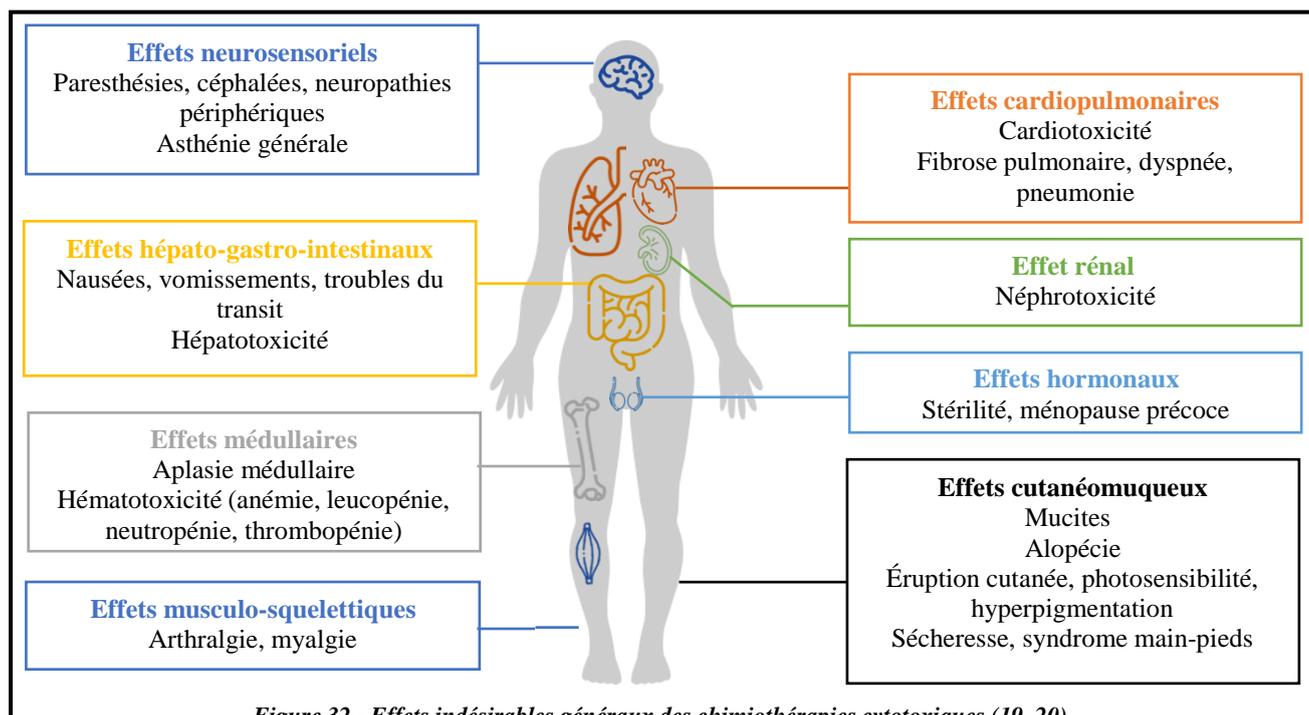


Figure 32 - Effets indésirables généraux des chimiothérapies cytotoxiques (19, 20)

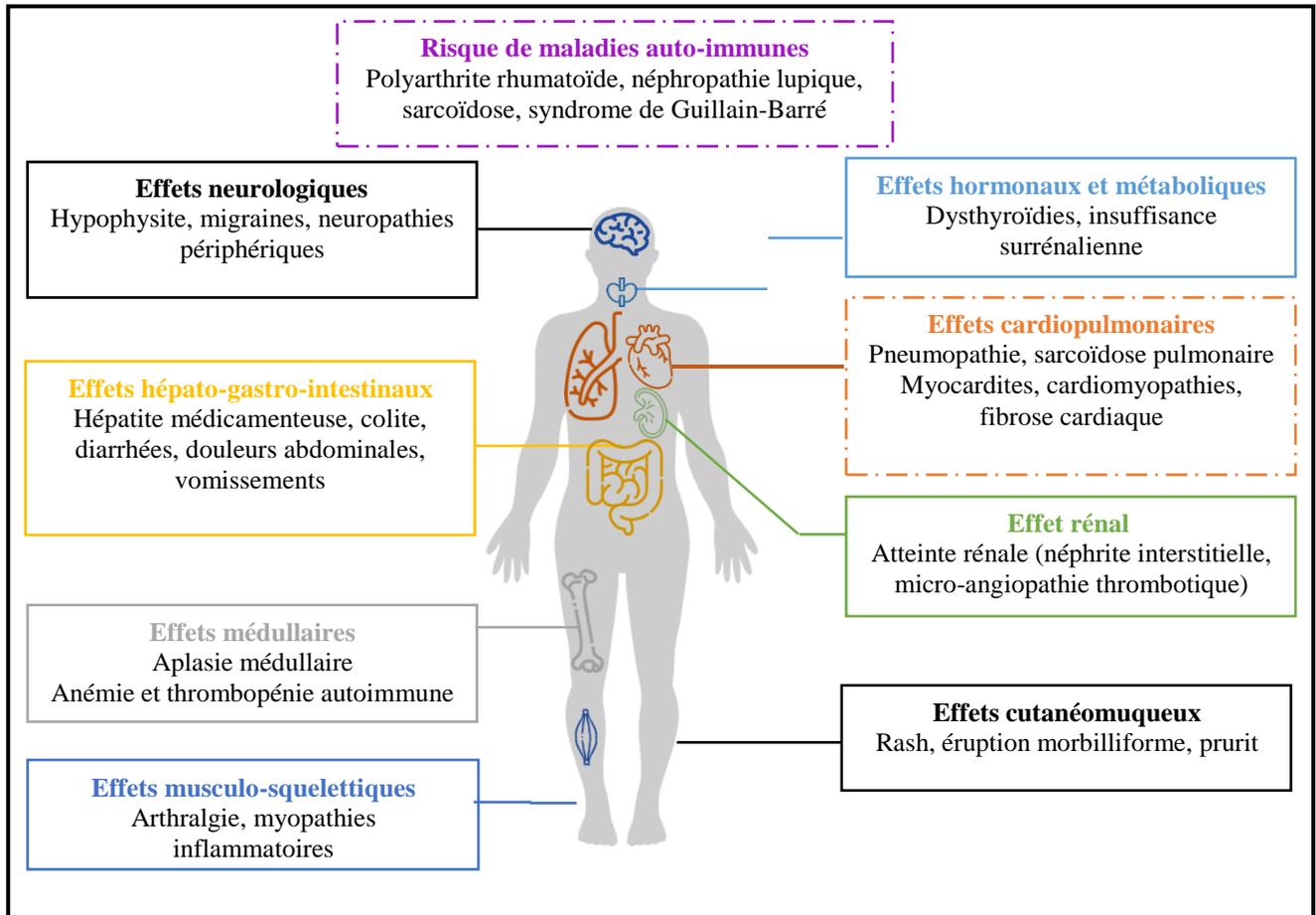


Figure 33 - Effets indésirables généraux des thérapies cibées (19, 20)

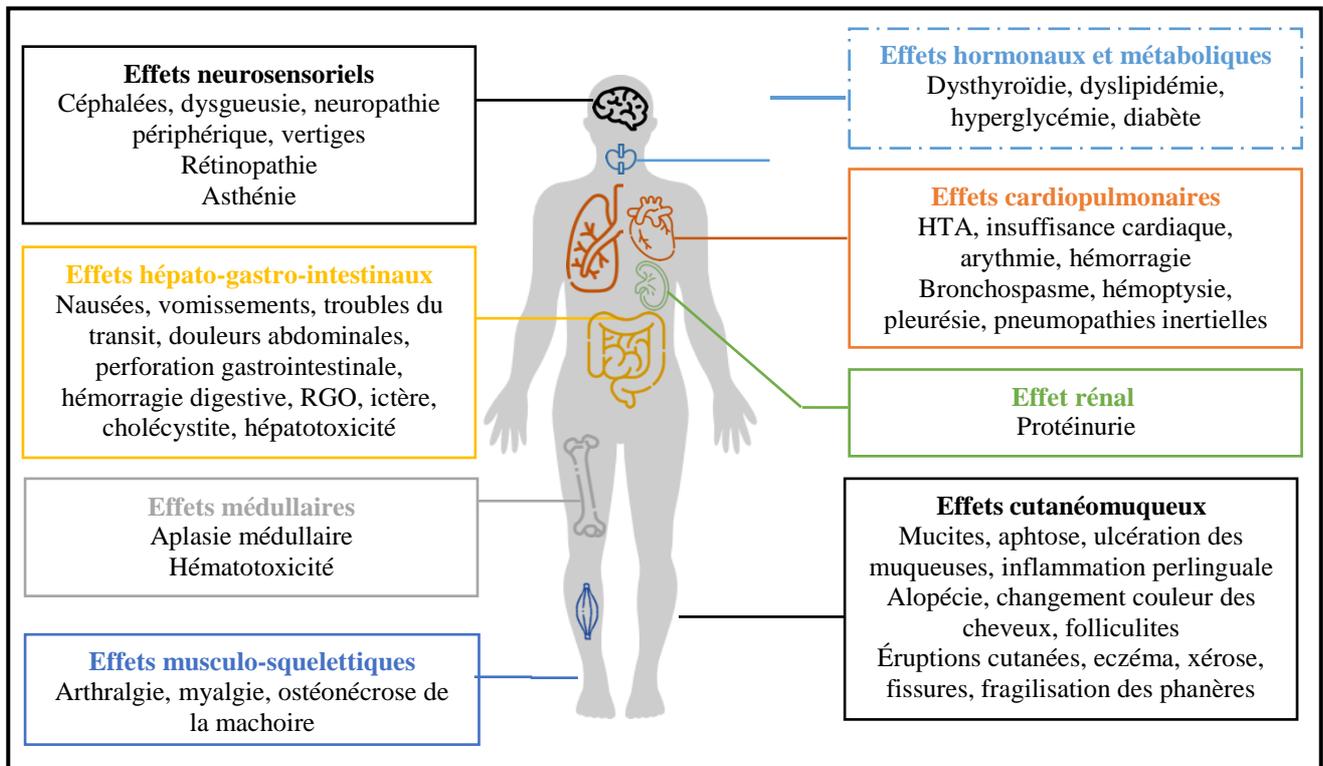


Figure 34 - Effets indésirables de l'immunothérapie (31)

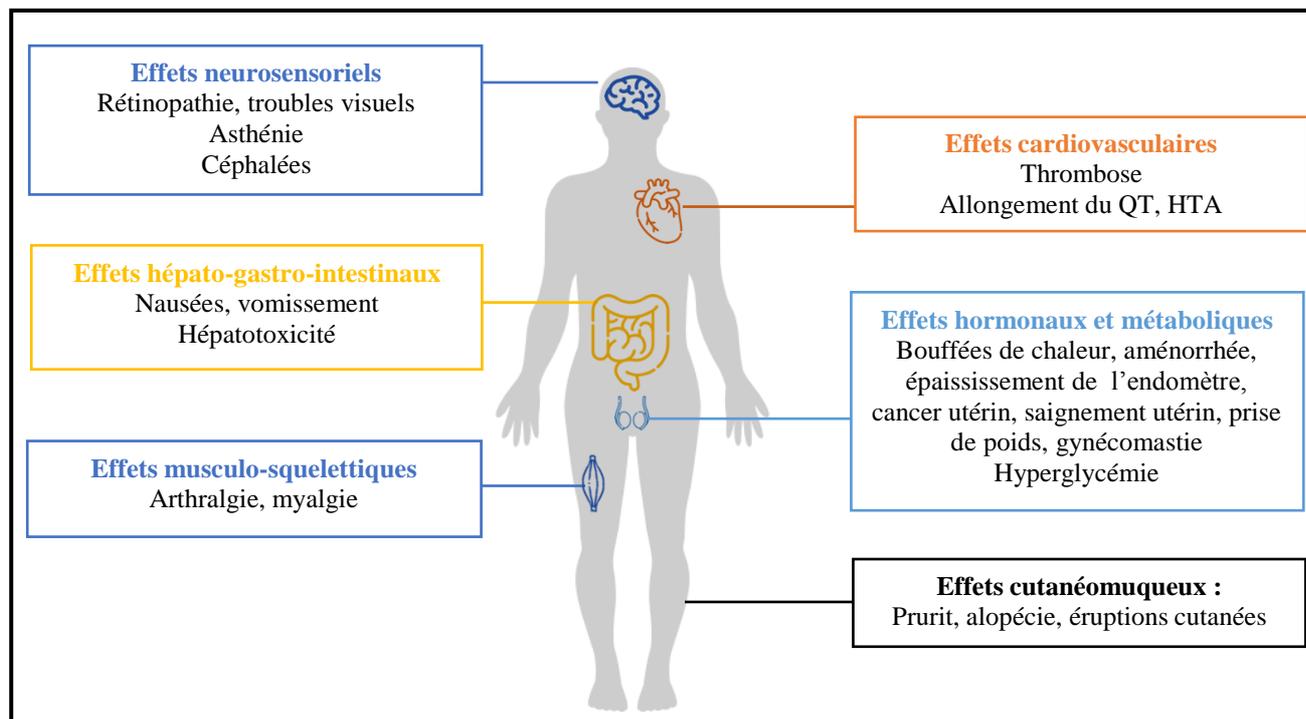


Figure 35 - Effets indésirables de l'hormonothérapie (19,20).

L'effet des principes actifs naturels combinés aux agents chimiothérapeutiques

Des études ont confirmé que la combinaison d'ingrédients actifs naturels et de médicaments de chimiothérapie exerce un effet antitumoral synergique par le biais de divers mécanismes. Outre l'effet antitumoral direct, les ingrédients actifs naturels peuvent également inhiber la multirésistance tumorale (MDR), diminuer les effets secondaires des médicaments de chimiothérapie et moduler la fonction immunitaire.

2.1. Induire l'apoptose des cellules tumorales et inhiber la prolifération des cellules tumorales

Certains ingrédients actifs naturels, tels que la schisandrine B (Sch B), le β -élémane (β -ELE), l'acide bétulinique (BA), la quercétine (Que) et la curcumine (CUR), peuvent exercer directement un effet antitumoral en induisant l'apoptose des cellules tumorales et en inhibant la prolifération des cellules tumorales lorsqu'ils sont combinés avec des médicaments de chimiothérapie. Sch B pourrait inhiber l'invasion et les métastases des cellules cancéreuses du poumon en inhibant le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire. Dans le même temps, il pourrait également améliorer la cytotoxicité de la doxorubicine (DOX) et favoriser davantage l'apoptose cellulaire (Cai et al., 2020). β -ELE pourrait inhiber la prolifération cellulaire, arrêter le cycle cellulaire et induire l'apoptose (Zhai et al., 2019). BA a eu un effet antitumoral efficace sur les cellules cancéreuses pulmonaires humaines résistantes au paclitaxel (PTX) (H460) par l'arrêt du cycle cellulaire G2 / M et l'apoptose mitochondriale induite (Zhan et al., 2018). L'AB peut également inhiber la prolifération, la migration, l'invasion et la tumorigenèse des cellules cancéreuses du pancréas en activant le signal AMPK, et il combiné à la gemcitabine (GEM) a eu un effet antitumoral sur les cellules cancéreuses du pancréas (Sun et al., 2019). Que combiné avec PTX inhibait significativement la prolifération cellulaire et augmentait l'apoptose cellulaire, bloquait le cycle cellulaire à la phase G2/M, inhibait la migration cellulaire, induisait un stress du réticulum endoplasmique et augmentait la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Zhang et al., 2020b). CUR pourrait améliorer l'apoptose induite par PTX des cellules cancéreuses du col de l'utérus humaines HPV-positives par la voie NF- κ B-p53-caspase-3, et il combiné avec PTX pourrait avoir un meilleur effet thérapeutique dans le traitement du cancer du col de l'utérus humain (Dang et al., 2015). Cheng et coll. 2018) a révélé que CUR pouvait améliorer l'effet antitumoral du cisplatine (CDDP). Le mécanisme était lié aux ROS, et la teneur en ROS était positivement corrélée avec l'inhibition de la prolifération cellulaire. Le traitement combiné des RES et du 5-fluorouracile (5-FU) pourrait renforcer l'effet anti-prolifération sur les cellules cancéreuses

colorectales (HCT116 et DLD1), induire l'arrêt du cycle cellulaire et augmenter l'apoptose en phase S, inhiber la transduction du signal pAkt et pSTAT3 et réduire l'activité de la télomérase (Chung et al., 2018). RES pourrait activer les canaux TRPM2 dans les cellules de glioblastome DBTRG pour améliorer l'apoptose et l'oxydation PTX en augmentant les niveaux intracellulaires de ROS à l'état d'équilibre et le dysfonctionnement mitochondrial (Ozturk et al., 2019). De plus, β -ELE a favorisé l'anti-prolifération et l'apoptose de la CDDP dans le carcinome épidermoïde gingival (GSCC) *in vitro* et *in vivo* en inhibant STAT3 et en bloquant la voie de signalisation JAK2-STAT3 (Huang & Yu, 2017). β -ELE a inhibé la prolifération des cellules cancéreuses de la vessie *in vitro* par la voie de signalisation de la protéine kinase activée par ROS-5'AMP (AMPK) et l'apoptose mitochondriale dépendante induite par la CDDP améliorée (Gan et al., 2020). La rhéine et le DOX ont joué un effet antitumoral synergique en réduisant le métabolisme énergétique mitochondrial dans les cellules de carcinome hépatocellulaire (Wu et al., 2020a). La BCL combinée au DTX a inhibé la croissance tumorale, augmenté l'apoptose cellulaire et réduit l'angiogenèse tumorale *in vivo*, et a amélioré l'effet antitumoral du DTX sur le cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC) d'une manière β -caténine dépendante (Lu et al., 2020a). L'oridonine et le DOX ont présenté un effet cytotoxique synergique dans les cellules d'ostéosarcome. L'oridonine a augmenté l'accumulation de DOX intracellulaire et le taux d'apoptose (Kazantseva et al., 2022). Par rapport au brusatol (BR) ou au CDDP seuls, le CDDP et le BR pourraient exercer un effet antitumoral synergique en augmentant la

libération de cytochrome c dans les cellules CT-26, en diminuant l'expression de la caspase-3 et de la caspase-9 et en augmentant le rapport entre la protéine X associée au lymphome B 2 (Bcl-2)/Bcl-2 Le traitement combiné CDDP et triptolide (TPL) pourrait induire l'apoptose en augmentant l'expression de la caspase-3, 8 et 9, PARP et cytochrome c (Ho et al., 2015).

2.2. Inhiber la multirésistance tumorale

La multirésistance tumorale (MDR) fait référence au phénomène selon lequel les cellules tumorales sont résistantes (Chen et al., 2018). s à une série de médicaments de chimiothérapie ayant des structures et des mécanismes différents lorsqu'elles sont résistantes à un type de médicament chimiothérapeutique, ce qui est une raison importante de l'échec de la chimiothérapie en clinique (Kunjachan et al., 2013; Cao et al., 2018). Les mécanismes de la MDR comprennent un métabolisme élevé des xénobiotiques, un écoulement accru de

médicaments, des facteurs de croissance, une capacité accrue de réparation de l'ADN et des facteurs génétiques (mutations génétiques, amplifications et altérations épigénétiques) (Bukowski et al., 2020). Plusieurs facteurs pourraient être associés à la résistance aux médicaments dans le cancer, tels que la surexpression de la glycoprotéine P (P-gp), des cellules souches cancéreuses (CSC), un défaut d'apoptose, une mutation et une altération des voies de réparation de l'ADN, l'angiogenèse, l'autophagie et la modulation des enzymes métaboliques (Mohammad et al., 2020). L'un des avantages de la co-charge d'ingrédients actifs naturels avec des médicaments de chimiothérapie est d'inverser la MDR. De nombreux composants naturels, tels que le resvératrol (RES) (Zhang et al., 2016b), la tétrandrine (TET) (Liao et coll., 2019; Li et al., 2020e), le gallate d'épigallocatechine (EGCG) (Cheng et coll., 2016), l'acide pachymarique et l'acide déshydrotudouique (PT) (Li et coll., 2020f), chlorhydrate de quinine (QN) (Shen & Qiu, 2017), β -ELE (Zhang & Guo, 2021), l'acide férulique (FA) (Muthusamy et coll., 2016), la naringine (Jabri et coll., 2019), la baicaléine (BCL) (Li et coll., 2018b), Que (Lu et al., 2020b) et Sch B (Wang et al., 2017), pourrait inhiber la MDR en inhibant le transport ABC, y compris P-gp, BCRP, ABCB1, etc. En outre, les composants naturels peuvent également inhiber les effets MDR en inhibant la transition épithéliale-mésenchymateuse par d'autres voies, telles que les SERs (Buhrmann et al.,; Xu et al., 2017b), EGCG (Yuan et al., 2017) et BCL (Yu et al., 2017). Dans le même temps, certains composants naturels peuvent inhiber les effets MDR en agissant sur des facteurs génétiques, tels que Que (Sang et al., 2014), CUR (Lu et al., 2017a; Xu et al., 2020), RES (Vinod et al., 2015), cinnamaldéhyde (CA) (Abbasi et coll., Citation2020) et la chryisine (Lee et coll., 2021).

La rhéine pourrait augmenter l'accumulation de DOX dans les cellules SMMC-7721/DOX en inhibant le métabolisme énergétique et en induisant l'ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondriale (mPTP), et inverser la résistance aux médicaments des cellules SMMC-7721/DOX (Wu et al., 2019a).

Chapitre II

Materiel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel non biologique

Tableau 01 : Matériels non biologique utilisés

Tableau 1uzuzuzuz

Préparation de la poudre	Extraction Et Identification	Analyses physico-chimique	Des activités Biologiques	Analyses microbiologique
Sécheuse	Balanc e analytique	Dessiccateur	Spectromètre	Boite pétrie
Broyeur	Eprouvette graduée	Etuve	Bain marie	Tubes
Tamis de laboratoire	Bécher	Bain marie		Bec Benzène
Sous-vide	Filtre	PH- Mètre		Etuve
	Evaporateur	Spectrophotométre		Spatule
		Photométre aflemme		Incubateur

II.1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal est le premier maillon essentiel de la chaîne de la production agricole qui conduit vers un circuit commercial est constitué des plantes suivantes

Tableau 01 : Les especes utilisées

Feuilles de	Grains
Moringa oleifera	Brocoli

II.2. Méthodes

L'ensemble des informations listées dans le cahier des charges, ainsi que les recherches réalisées avant la pratique permettent alors de rédiger une formule théorique qui détaille les informations qualitatives et quantitatives du futur produit qui est notre PHYTO médicament

II.2.1. Préparation des poudres des plantes

La transformation des feuilles et des graine de plantes en poudre consiste en différentes étapes qui sont « l'effeuillage, lavage, égouttage, séchage, broyage et enfin le tamisage » concernant les trois premières étapes, elles étaient dépourvues car le centre « Ishak Ibn Hounain » importe directement des feuilles sèches de leurs pépinières situées à El Menia, donc notre travail est le suivant :

- **Deuxième Séchage**

Les feuilles de Moringa et les graines de brocoli importés nécessitent un séchage naturel/ traditionnel dans une pièce bien sombre et fraîche qui n'es pas humide et qui doit être protégée des insectes, rongeurs et de la poussière, puis les feuilles sèches obtenues sont mises dans des sacs a tissus de 10 kg à 100 kg. Si l'humidité est élevée, le séchage électronique est exigé par les normes ISO à l'aide d'un déshydrateur alimentaire

- **Broyage**

Les feuilles sont broyées par un broyeur qui est un moulin à grain électronique contenant deux lames de six pages : couteau à poudre, couteau rotatif, couteau à dépoussiérer, écrasement de la lame en acier inoxydable, aucune compression, bonne pulvérisation avec une lame amovible et nettoyable

Chapitre II : Matériel et méthodes

La molécule	Plante	Solvant d'extraction		Exigence		Temps d'analyse							
		Type	Volume	N		Préparation	Instrumental	Instrument	Gamme linéaire	LOD/LOQ	Réf.		
						description de l'extraction							
I3C, I3A	Moringa	Acétate d'éthyle	1 ml	Oui		Extraction par	4 h	60 minutes	HPLC-FL	I3C : 0.015-1,0 µg/mL	LOD (µg/mL)	8	
						solvant en				1,0 µg/mL	I3C : 0.005		
						plusieurs étapes				I3A 0,015-	I3A : 0,003		
						avec un temps d'attente important							
						l'évaporation de l'extrait aqueux, et l'acétate d'éthyle				1,0 µg/mL			
I3C,	Brocoli	Dichlorométhane	150 ml	Oui		Extraction avec un grand	45 minutes	6 min	UPLC-	1-10 mg/mL	LOQ (mg/L)	9	
sulforaphane						volume de dichlorométhane (solvant toxique)			SGRH/MS		Sulforaphane : 2.35		
											I3C : 1.29		
I3C, I3A, IAA,	Chou-fleur blanc,	Dichlorométhane	60 ml	Oui		Extraction avec un grand	45 minutes	10 min	UHPLC-	0.1-10.0 µg/mL	LOQ (µg/mL)	7	
I3CHO, et ABG	le chou blanc, le chou rouge, le brocoli violet, le brocoli vert, le navet, et Radis					volume de dichlorométhane (solvant toxique)			SGRH/MS		I3CHO : 1,34 IAN : 2,94 I3C : 1.72 ABG : 1,76 IAA : 0,49		
Allyl I TC,	Brocoli, chou blanc, chou rouge,	Dichlorométhane chloroform	NA	Oui		DLLME en plusieurs étapes (liquide)	15 min	30	HPLC-UV	5-100 µg/mL	Entre	23	
											0,3 et		
I3C, I3A, IAA,	Brocoli,	DMF-méthanol,	1,0 ml	Non		1 ml de solvant binaire	10 min	4 min	CE-UV	0,75-25 µg/mL	LOD (µg/mL)	:	Le présent
DIM	chou-fleur,	1:4 (v/v)				(DMF-méthanol,					(µg/g)		trava

La poudre des plantes utilisées est réalisée par une pulvérisation de 10 secondes répéter de 3à 5 fois.

- **Tamisage**

Il faut tamiser la poudre des plantes si nécessaire avec un tamis de laboratoire ou tamiseuse qui est généralement requis afin d'assurer une action uniforme pour avoir une poudre bien homogène

- **Conditionnement de la poudre :**

Une fois la poudre est bien tamisée on doit la mettre dans des sacs est les sous-vidés de cette manière que l'aire ne se diffuse pas dans le sac.

II.1.1. Extraction et Identification des principes actifs des plantes

Le Tableau 2 représente toutes les procédures concernant l'extraction et identification et dosage des principe actifs

Chapitre II : Materiel et méthodes

II.1. Evaluation De Quelques Activites Biologiques

II.1.1. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de piégeage du radical Diphénylpicrylhydrazyl (DPPH), selon les recommandations de (Boulila *et al.*, 2015).

- **Principe**

La méthode du DPPH• est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire, le DPPH-H.

La réduction du DPPH• en DPPH-H induit une perte de sa couleur violette qui devient jaune pâle après transfert d'électron par les composés antioxydants (Figure 27).

Cette réduction est suivie par spectrophotométrie à 515nm par rapport à un standard, qui est l'acide ascorbique.

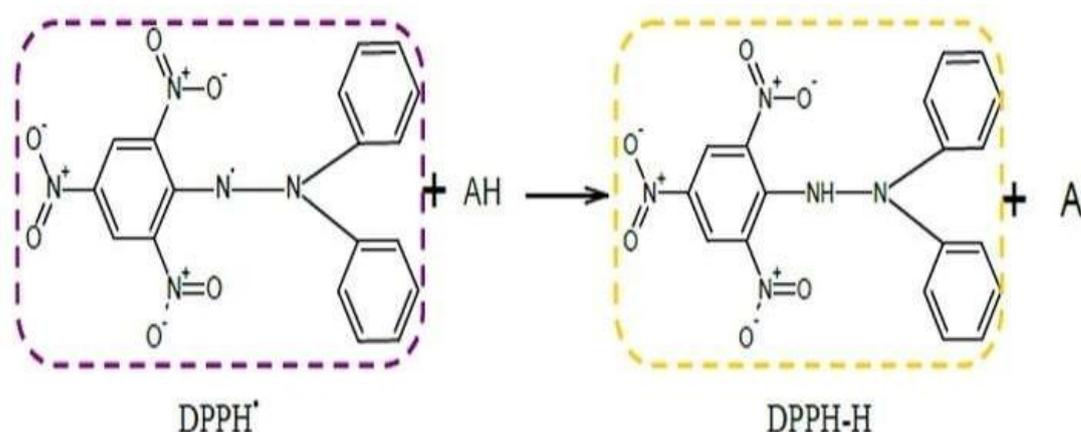


Figure 36 : Forme libre et réduite du DPPH(Pyrzynska et Pękal 2013).

- **Mode opératoire**

- 2mL d'une solution méthanolique de DPPH, préparée à 0,04 g /l, sont ajoutés à 1mL de chacune des dilutions de l'extrait méthanolique et de l'acide ascorbique.
- Après 60min d'incubation à l'abri de la lumière, les absorbances sont lues à 515nm.

Chapitre II : Matériel et méthodes

Les courbes exprimant le pourcentage de piégeage du DPPH en fonction de la concentration, en mg/ml, de l'extrait méthanolique et celle de l'acide ascorbique sont tracées.

II.1.2. Evaluation De L'activité Anti-Inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par la méthode de dénaturation des protéines, selon les recommandations d'**Alhakmani, Kumar, et Khan (2013)**.

- **Mode opératoire**

- Le mélange réactionnel est constitué de 2ml d'extrait méthanolique des graines de brocoli à différentes concentrations (100-500µg/ml) et 2,8ml d'eau distillée ajustée à pH= 6,4 (tampon PBS), auquel est ajouté 2ml d'albumine d'œuf (source des protéines).
- Le tout est incubé à 37°C pendant 15 minutes.
- La même expérience est répétée avec l'acide acétylsalicylique, utilisé comme standard.
- La dénaturation est induite en mettant le mélange réactionnel dans un bain-marie chauffé à 72°C pendant 10 minutes.
- Après refroidissement, l'absorbance est mesurée à 660nm en utilisant l'eau distillée comme blanc.

II.1.3. Evaluation de l'activité antibactérienne :

- **Principe**

L'activité antibactérienne a été évaluée en deux étapes :

La sensibilité des souches bactériennes aux différents extraits a été recherchée par la méthode de diffusion sur disques.

- *La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été réalisée par la méthode des micro-dilutions.*

- **Mode opératoire**

A- Test de sensibilité

- *Des suspensions bactériennes ont été préparées dans une solution physiologique à partir de colonies jeunes (18-24H), en ajustant la turbidité à 0,5 Mc Farland.*

- À l'aide d'un écouvillon stérile, les bactéries en suspension ont été ensemencées sur une surface gélosée sèche (gélose Mueller-Hinton liquéfiée, coulée et refroidie dans des boîtes de Pétri).
- Des disques stériles de papier (6 mm de diamètre) ont ensuite été placés puis imprégnés de 10 μ L d'extrait méthanolique.
- Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24H.

La souche est considérée comme résistante pour un diamètre inférieur à 8mm, modérément sensible entre 8 et 14mm, sensible pour un diamètre d'inhibition entre 14 et 20mm et très sensible si le diamètre est supérieur à 20mm.



Figure 37 : la méthode de diffusion sur disques « teste de sensibilité » (original)

B- Détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait méthanolique

- Des suspensions bactériennes des cellules bactériennes jeunes ont été préparées dans des tubes stériles, contenant de l'eau physiologique à une valeur de 0,5 McFarland.
- Ces derniers, doivent être utilisés dans les 30min suivantes pour éviter le changement du nombre de cellules bactériennes.

Dans les puits des plaques de micro-tubes

- On mélange 50 μ l de la solution diluée d'extrait méthanolique des graines de brocoli, préparées dans le diméthylsulfoxyde « DMSO » (un solvant polaire organosulfuré), avec 100 μ l de Mueller Hinton liquide (MH liquide + rouge de phénol 20mg/ml et du glucose 20g/ml).
 - On ajoute dans chaque puits, 50 μ l de chaque suspension bactérienne.
 - Pour vérifier que les résultats de sensibilité sont exacts, il faut inclure un témoin positif et un autre négatif pour chaque souche.
- Les plaques ont été incubées à 37°C pendant 24H.

▪ Détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits méthanoliques

Des suspensions bactériennes des cellules bactériennes jeunes ont été préparées dans des tubes stériles, contenant de l'eau physiologique à une valeur de 0,5 McFarland. Ces derniers, doivent être utilisés dans les 30min suivantes pour éviter le changement du nombre de cellules bactériennes. Dans les puits des plaques de micro-tubes, on mélange 50µl des différentes dilutions des extraits méthanoliques, préparées dans le DMSO, avec 100µl de Mueller Hinton liquide (MHliquide + rouge de phénol 20mg/ml et du glucose 20g/ml).

On ajoute dans chaque puits, 50µl de chaque suspension bactérienne. Pour vérifier que les résultats de sensibilité sont exacts, il faut inclure un témoin positif et un autre négatif pour chaque souche. Les plaques ont été incubées à 37°C pendant 24H.

II.2.2. Analyse physico chimique

- *Teneur de la matière sèche et humidité – NA 1213 (étuvage) -*

➤ Principe

La connaissance de l'extrait sec du produit est très importante dans la mesure où elle peut expliquer le comportement de la matière et son interaction avec le milieu externe. La détermination de la matière sèche est basée sur la perte d'eau suite à une dessiccation.

➤ Mode opératoire

On sèche les capsules avec leurs couvercles dans l'étuve pendant 30 minutes à 105°C puis les refroidir dans un dessiccateur (Annexe III.2).

On met 2g d'échantillon dans les capsules puis les étuvés à 105°C jusqu'à poids

constant. Formule et calcul :

M : Matière sèche.

$$M_{\text{sèche}} = \left[\frac{m_1 - m_0}{Pe} \right] \times 100$$

Pe : Masse de la prise d'essai.

m₀ : masse de la capsule vide et couvercle.

m₁ : masse de la prise d'essai et capsule avec couvercle sortie d'étuve.

W : teneur en eau.

$$W = 100 - M_{\text{sèche}}$$

- **Détermination des cendres brutes -NA 650 (calcination)-**

- *Mode opératoire*

Chauffer les capsules dans le four pendant 30 minutes à 550°C, puis on pèse.

Mettre 2g de l'échantillon dans les capsules refroidi puis incinérer dans le four à 550°C jusqu'à poids constant (Annexe III.4).

- *Formule et calcule*

- *C : cendre.*

$$C = (m_2 - m_0) \times 100 / m_1$$

m_0 : poids des capsules vide.

m_1 : poids de la prise d'essai.

m_2 : poids de la prise d'essai après four.

- **Teneur en matière grasse – Extraction au Soxhlet-**

- *Réactifs*

Ether de pétrole température d'ébullition entre 60°C et 80°C.

- **Mode opératoire**

- Extraction : on met 2g d'échantillon dans un volume d'éther de pétrole, on le laisse pendant quelques heures ou une nuit.

- Distillation : Distillation l'éther de pétrole à l'aide d'un rota vapeur.

- Étuvage : étuvé le ballon avec son résidu pendant 1 heure, puis peser à chaque fois jusqu'à poids constant (Annexe III.7).

- *Fo*

rmule et

calcule MG :

*Matière grasse
exprimé en %.*

$$MG = (m - m_0) / P_e \times 100$$

Chapitre II : Matériel et méthodes

m : masse du ballon avec résidu.

m₀ : masse du ballon vide.

Pe : masse de la prise d'essai.

- **Teneur en protéine brute – méthode de Kjeldahl –**

- *Réactifs*

- ❖ *Sulfate de potassium*
 - ❖ *Sulfate de cuivre II penta Hydrate.*
 - ❖ *Acide sulfurique pure.*
 - ❖ *Solution de NaOH 40% (m/V).*
 - ❖ *Solution de NaOH : 0.1mol/L.*
 - ❖ *Solution de H₂SO₄ : 0.1mol/L.*

- **Mode opératoire**

- *Minéralisation :*
1g d'échantillon + 15g de sulfate de potassium + 1g sulfate de cuivre+ 25mlH₂SO₄ chauffer, après apparition de couleur verte compter 2 heures, et on ajoute 50ml eau.
 - **Distillation :**
L'ajout de 100 ml de NaOH 40% , puis distillé complètement.
 - **Tirage :**
Plonger l'extrémité de réfrigérant dans 25ml de H₂SO₄ + rouge de méthyl. Titré avec le NaOH: 0.1N
Virage du rose au jaune

- *Formule et calculeP :*

protéine exprimée en %

$$P = [(v-v_0) \times C \times 0.014 \times 100 \times 6.25] / m$$

v₀ : volume de l'essai à blanc.

v : volume titré.

C : concentration du NaOH :0.1 mol/L.

m : prise d'essai.

Chapitre II : Matériel et méthodes

- **Détermination du pH - Afnor, 1986-**

- *Principe*

Détermination en unité pH de la différence de potentiel existant entre deux (02) électrodes plongées dans le produit à analysées.

- **Mode opératoire**

On plonger l'électrode dans le produit (poudre de feuille du *M.oleifera* et en notant la valeur enregistrée bien sur après étalonnage du pH-mètre avec l'utilisation des solutions tampons(Annexe III.1).

- **Expression des résultats**

La valeur du pH prise en considération correspond à la moyenne arithmétique des différentes valeurs enregistrées.

NB : Avant chaque nouvelle mesure, on rince soigneusement l'électrode avec l'eau distillée et sécher à l'aide de papier joseph ou papier filtre.

- *Glucides* Extraits secs
$$100 - (\text{humidité} + \text{protéine} + \text{matière grasse} + \text{minéraux})$$

- **Valeurs énergétiques**

Kcal : la somme (matière grasse×9 +
proteine×4 + glucides×4) Kj : la somme
(matière grasse×37 + proteine×17 +
glucides×17)

- **Sel (Nacl)**

- **Mode opératoire**

Peser 2g dans 50ml notre indicateur est le dichromate de potassium puis titrer avec le nitrated'argent 0.1N (Annexe III.8).

On remarque le virage des couleurs vers le rouge brique

- **Formule et calcule**

Chapitre II : Matériel et méthodes

(V de la chute × la concentration de AgNO₃ × la masse molaire du sel (NaCl)
5.85) / (la prise d'essais)

- **Teneur en fibre (cellulose)**

➤ *Réactifs*

Solution de H₂SO₄ : 0.13 mol/l.

Solution de NaOH: 0.23 mol/l.

➤ **Mode opératoire**

- Peser le creuset vide. Noter la masse.

- Digestion acide : Bouillir 2g d'échantillon dans 150ml H₂SO₄ : 0.13mol/l pendant 30 minutes puis filtrer et laver avec l'eau chaude 3 fois.

- Digestion basique : Bouillir le résidu filtré dans 150ml NaOH : 0.23mol/l pendant 30 minutes puis filtrer et laver avec l'eau chaude 3 fois.

- Etuvage : Etuvé le résidu filtré de la digestion pendant 1 heure à 130°C, puis peser.

-Incinération : Mettre dans le four à 550°C pendant 1 heure, puis peser.

➤ **Formule et calcul**

C : cellulose exprimée en %

$$C = (b - c) / m \times 100$$

b : prise d'essai en g

c : perte de masse à l'étuvage.

m : perte de masse à la calcination.

- **Calcium**

Incinération de la prise d'essai dans un four à moufle à 550°C puis traitement des cendres obtenues par l'acide chlorhydrique 6N, filtration sur papier filtre. Précipitation du calcium sous forme d'oxalate de calcium par l'oxalate d'ammonium (pH de précipitation 4.4-4.6), dissolution du précipité par l'acide sulfurique et titrage de l'acide oxalique formé par le permanganate de potassium (0.1 mol/l).

La teneur en calcium exprimée en grammes par 100 grammes d'échantillon, est égale :

$$\frac{2,004 \times V_1 \times C}{m} \times \frac{V}{V_2}$$

V₁ : volume en ml de la solution de permanganate de

potassium V : volume en ml de la fiole jaugée (250ml)

V₂ : volume en ml de la partie aliquote

Chapitre II : Matériel et méthodes

M : est la masse de la prise d'essai de l'échantillon.

La spectroscopie de flamme est une technique analytique utilisée pour la détermination qualitative et quantitative d'un élément dans un échantillon. Dans cette méthode l'échantillon, sous la forme d'un liquide homogène, est introduit dans une flamme où des réactions thermiques et chimiques créent un atome "libre" capable d'absorber, émettant ou fluorescent à des longueurs d'onde caractéristiques.

L'absorbance est proportionnelle à la concentration des atomes libres dans la flamme, donnée par la loi de Lambert Beer :

$$\text{Absorbance} = \log \frac{I_0}{I_1} = K \cdot C \cdot L$$

I_0 : intensité du rayonnement incident émis par la source

I_1 : intensité du rayonnement émis (quantité non absorbée)

K : constante (peut être déterminée expérimentalement)
C : concentration de l'échantillon

L : longueur du trajet

optique En pratique :

Pour la détermination des concentrations des échantillons la loi de Lambert Beer est simplifiée à : $A = f(c)$

A : absorbance de

l'échantillon C :

concentration de

l'échantillon

Minéralisation par voie sèche de l'échantillon et voie humide des minéraux et Oligo-éléments et

- *Métaux lourds :*

Incineration de la prise d'essai dans un four à moufle à 550°C puis traitement des cendres obtenues par l'acide chlorhydrique 6N, filtration sur papier filtre.

Chapitre II : Matériel et méthodes

Analyses	Longueur d'ondes
magnésium	285.2 nm gamme d'étalon : 0,1-0,4 mg/l
Potassium	766.5 nm gamme d'étalon : 0,4-1,5 mg/l
Sodium	589 nm gamme d'étalon : 0,4-1,5 mg/l
Fer	248.3 nm gamme d'étalon : 2-9mg/l
Plomb	217 nm gamme d'étalon : 2.5-20 mg/l
Cadmium	228.8 nm gamme d'étalon : 0.2-1.8 mg/l
Chrome	357.9 nm gamme d'étalon : 2-15 mg/l
Mercuré	253.7 nm gamme d'étalon : 20-100 mg/l

mercure étant un élément volatil, l'échantillon est traité directement par voie humide à l'aide de l'acide chlorhydrique, puis injection de l'échantillon dans le spectromètre d'absorption atomique équipé d'un système de réduction par le tétrahydroborate.

II.2.3. Analyse microbiologique

- *Détermination des coliformes*
Ils ont été déterminés selon la méthode ISO 4832. La recherche repose sur l'utilisation du Nombre le Plus Probable (NPP). Le Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant (BLBVB ; OxoidCM31) a été utilisé comme milieu d'incubation et l'ensemencement a été réalisé dans la masse de la gélose à raison de 1 ml des dilutions 10⁻¹ et 10⁻². L'incubation a été faite à 30 °C ± 1 °C dans une étuve de marque Memmert pendant 24 à 48 heures.

Détermination des levures et des moisissures

Elles ont été déterminées selon la méthode ISO 7957. Le milieu de culture utilisé est la gélose glucosée à l'oxytétracycline et l'ensemencement a été fait à raison de 0,1 ml de la suspension-mère en surface de la gélose et étalée. L'incubation a été faite à 25 °C ± 1 °C dans une étuve de marque Memmert pendant 5 jours et la lecture a été faite tous les jours. Les levures, colonies muqueuses et brillantes ont été reprises et réisolées sur la gélose Sabouraud, puis soumises à une identification complète à l'aide de la galerie ID 32 C. Quant aux moisissures elles ont été identifiées après purification et culture en couche à l'aide des clés.

- **Détermination des spores de Clostridium sulfito-réducteurs**

Chapitre II : Matériel et méthodes

Elles ont été recherchées selon la norme ISO 7954. Cinq millilitres du milieu Bacto-Sulfite Agar et 1 ml de la suspension mère ont été pasteurisés à 80 °C dans un autoclave de marque Bosch pendant 10 mn. Les colonies caractéristiques de *Clostridium* sont de couleur noire (formation du sulfure de fer) et restent le long ou au fond du tube.

• Détermination des *Salmonella sp*

La méthode utilisée est celle de la norme ISO 6579. Elle a consisté à ajouter à la PFMo de l'EPT. Ainsi, le mélange obtenu a été considéré comme le pré-enrichissement qui a été incubé à 37 °C ± 1 °C dans une étuve de marque Memmert pendant 24 h. Ensuite, un millilitre du mélange pré-enrichi a été incubé dans 9 ml de Rapaport-Vassiladis et incubé à 37 °C ± 1 °C dans une étuve de marque Memmert pendant 24 h. Le mélange ainsi obtenu a été incubé à 37 °C ± 1 °C pendant 24 h sur la gélose HEKTOEN. Les colonies suspectes (incolores ou incolores centre noir) ont été isolées à nouveau sur la gélose KLIGER (Hajna). L'identification a été réalisée à l'aide de la Xylose Lysine Décarboxylase (XLD) et de la gélose Triple Sugar Iron (TSI). Le test de l'uréase a été fait pour confirmer les *Salmonella*, sachant que *Salmonella* est uréase négative.

• Détermination de *Staphylococcus aureus*

Ces bactéries ont été dénombrées selon la norme NF EN ISO 6888-1 (1999). 0,1 ml de la suspension mère a été étalé sur la gélose Baird-Parker (BP OXOID CM0275) supplémenté avec 50 ml d'émulsion de jaune d'œuf dans 1000 ml de milieu de culture. L'incubation a été faite à 37 °C ± 1 °C pendant 24 h. *S. aureus* donne des colonies noires, brillantes, convexes, de 1,5 mm de diamètre, entourées d'un halo clair (protéolyse) de 2 mm à 5 mm.

II.2.4. L'analyse des dangers

Nous avons réalisé une analyse des dangers pour déterminer quels sont les dangers à maîtriser, le degré de maîtrise requis pour garantir la sécurité des aliments ainsi que les combinaisons de mesure de maîtrise correspondantes requises et la détermination des niveaux acceptables et en fin d'établir un plan de surveillance convenable (Figure 26).

Chapitre II : Matériel et méthodes

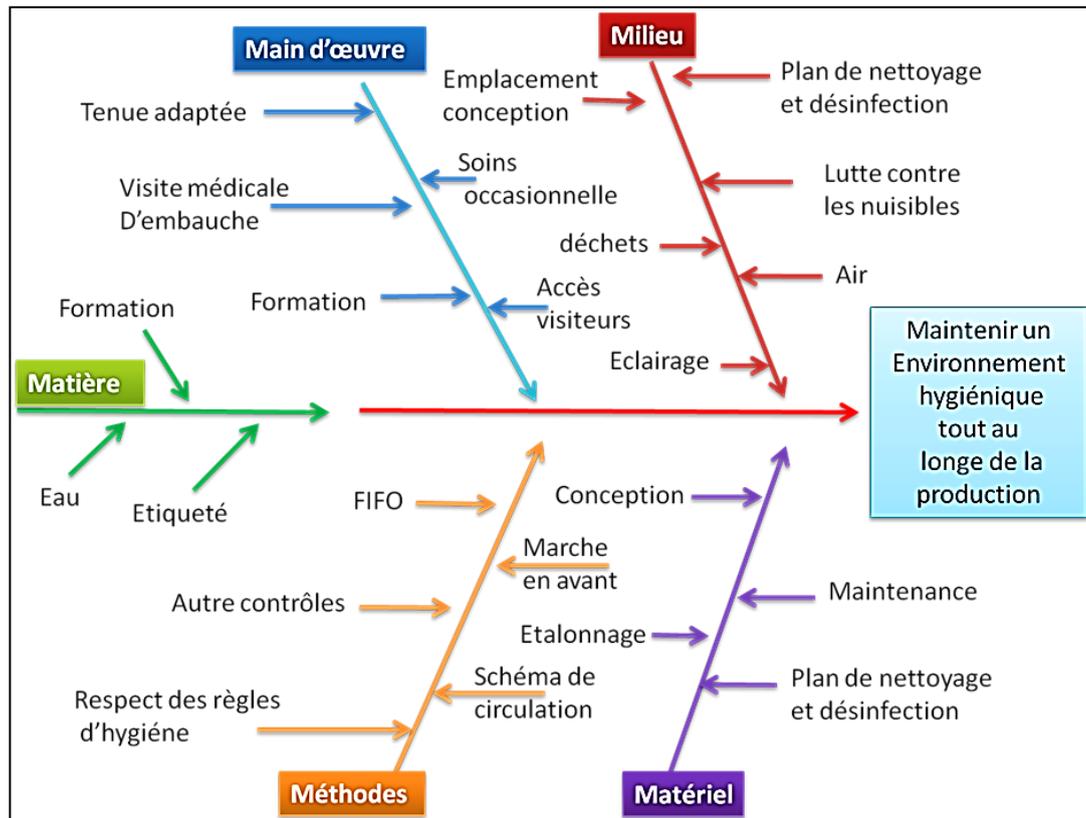


Figure38 : Diagramme d'Ishikawa

Cette étape se caractérise par l'identification : De la nature des dangers : physique, chimique Ou biologique, Le niveau de risque de chaque danger, Les différentes causes de ces dangers et les mesures préventives afin de les bien contrôler , L'évaluation de ces dangers, se fait suite à la détermination de l'indice de criticité selon la formule suivante et le tableau en

Criticité = Gravité x Fréquence d'apparition

La détermination des (PRP PRPO) ou (CCP) dépend de cette criticité (Annexe 4) :

- PRP : Programme Pré requis ou les dangers peuvent être régler avec une bonne hygiène
- PRPo : Programme Pré requis Opérationnelle : C'est une étape de la chaine alimentaire où il est possible de mettre en place une mesure de maitrise.
- CCP : Point Critique de Contrôle : C'est une étape de la chaine alimentaire où il est nécessaire de mettre en place une mesure de maitrise avec une limite critique dans ce cas le produit vas être annulé

Chapitre III : Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultats

III.1.1 Qualité du Produit

1.1.1 Identification des Principes actifs

Les résultats obtenus de L'identification des flavonoïdes et leurs molécules bio-actives « **quercétine et kaempferol** » du *Moringa oleifera* sont présentés, ci-dessous :

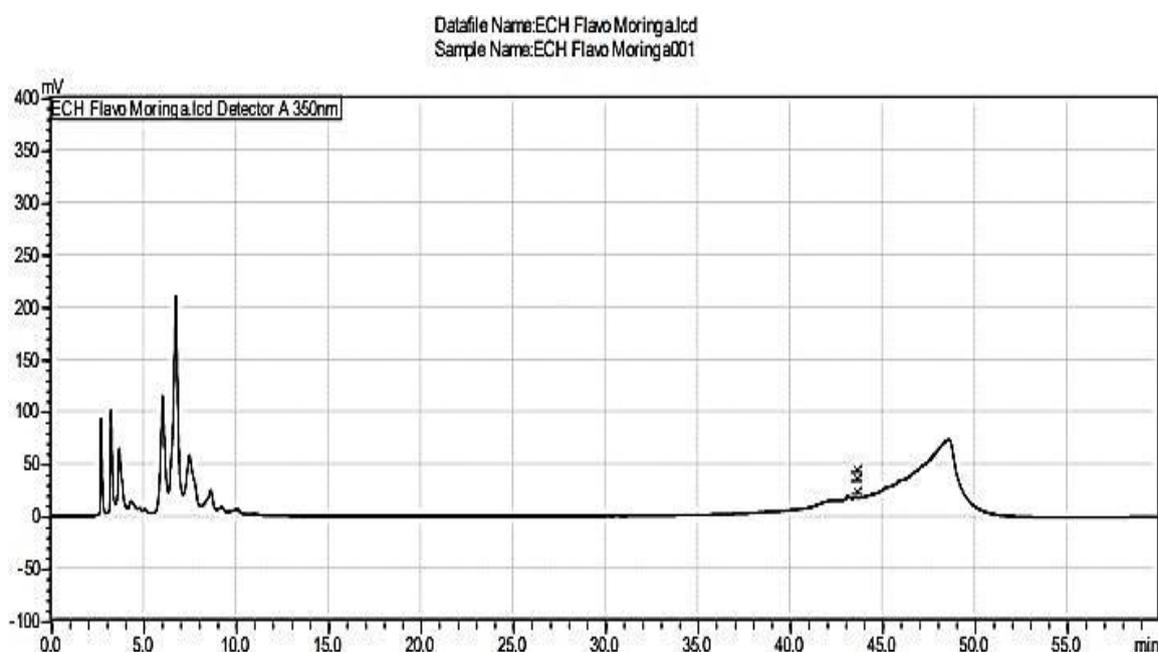


Figure 39: Chromatogramme d'HPLC

Les résultats obtenus par l'analyse qualitative d'HPLC (tableau 5) peuvent confirmer la présence des molécules bioactives **acide chlorogénique et l'isoquercétine**.. Cette dernière est une dérivée de la quercétine dans le *Moringa oleifera* auquel le TR 6.046 min est proche du TR standard 5.885 min.

Tableau 5 : Les résultats explicatifs du chromatogramme d'HPLC (Original)

T_R (min)	$T_{R \text{ standard}}$ (min)	Identification
2,720	/	Non identifié
3,260	3.338	Acide chlorogénique
3,704	/	Non identifié
6,046	5.885	Isoquercétine
6,757	/	Non identifié
7,497	/	Non identifié

III.1.1. Dosage des Flavonoïdes

Les taux des flavonoïdes des extraits des plantes étudiées sont calculés à partir de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant la **quercétine comme standard** (Figure 36). Ils sont exprimés en termes de mg EQ/gr MS (Tableau 6). Les résultats de dosage des flavonoïdes effectués sur les plantes étudiées sont présentés ci-après :

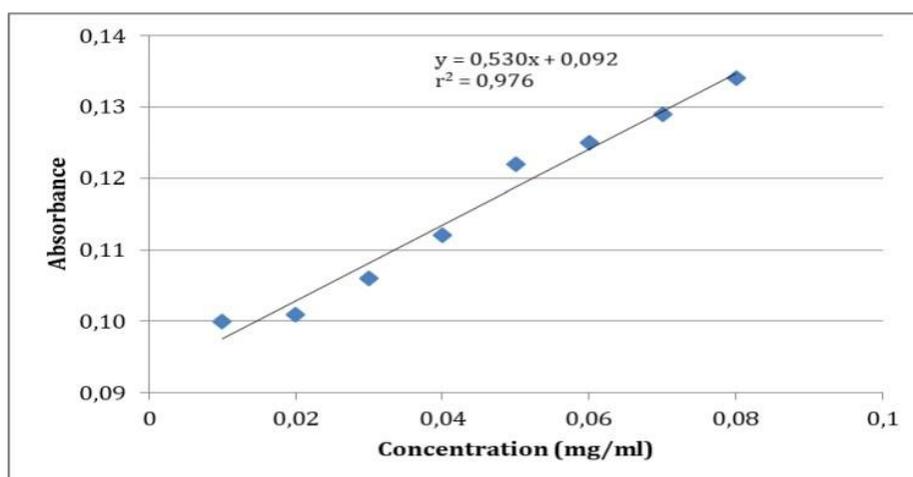


Figure 40 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes (

III.1.2. Evaluation des activités biologiques

Chapitre III : Résultats et discussion

Nous avons évalué les activités biologiques (anti-oxydante, anti-inflammatoire et anti-bactérienne , anti cancéreuse) pour chaque plante étudiée afin de valoriser les effets des plantes. Les résultats obtenus sont les suivants :

- **Activité antioxydante**

Afin de quantifier les molécules antioxydantes présentes dans les extraits des plantes étudiées, nous avons utilisé l'acide ascorbique (Vitamine C) comme standard connu pour son excellente activité antioxydante. Nous avons tracé les courbes de piégeage antioxydantes tracées en utilisant l'acide ascorbique (Figure 23) et la méthode de piégeage du radical DPPH comme étalon en fonction de la concentration de l'extrait de chaque plante (Figure 24, 25, 26, et 27), et sont exprimés en mg/ml (Tableau VII).

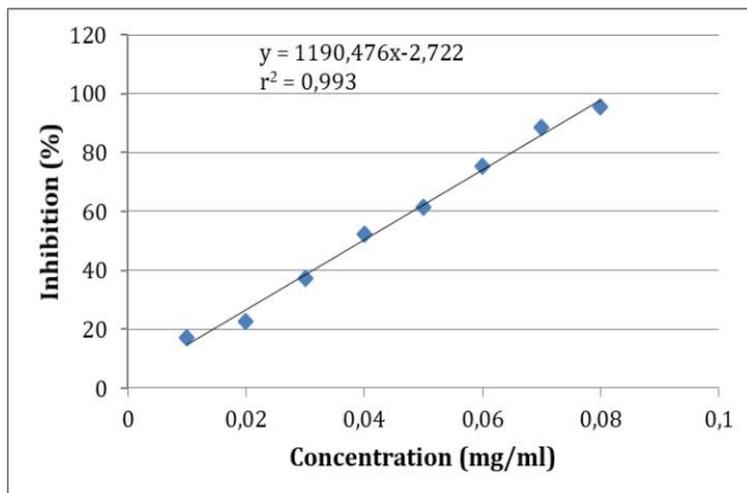
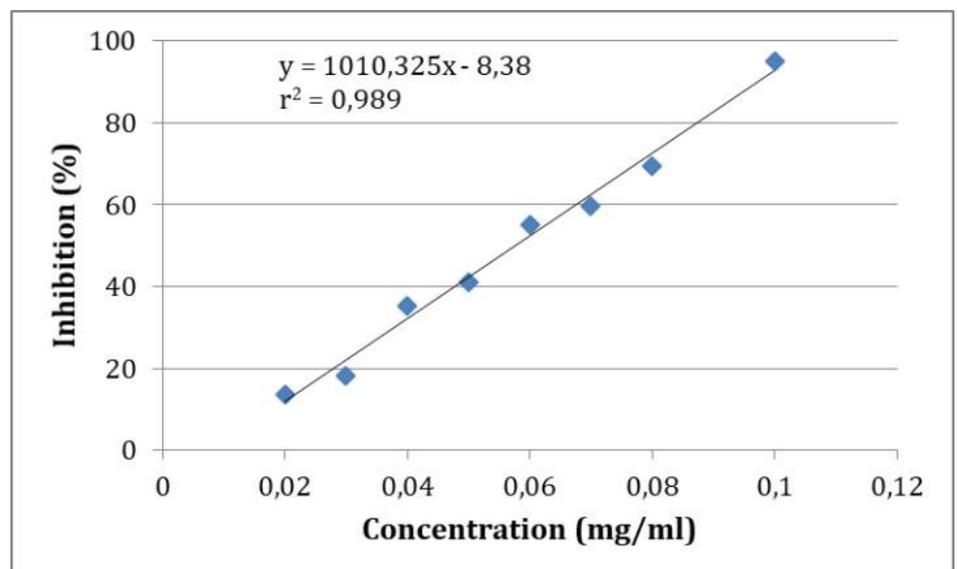


Figure 40 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique

Figure 42 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la



Chapitre III : Résultats et discussion

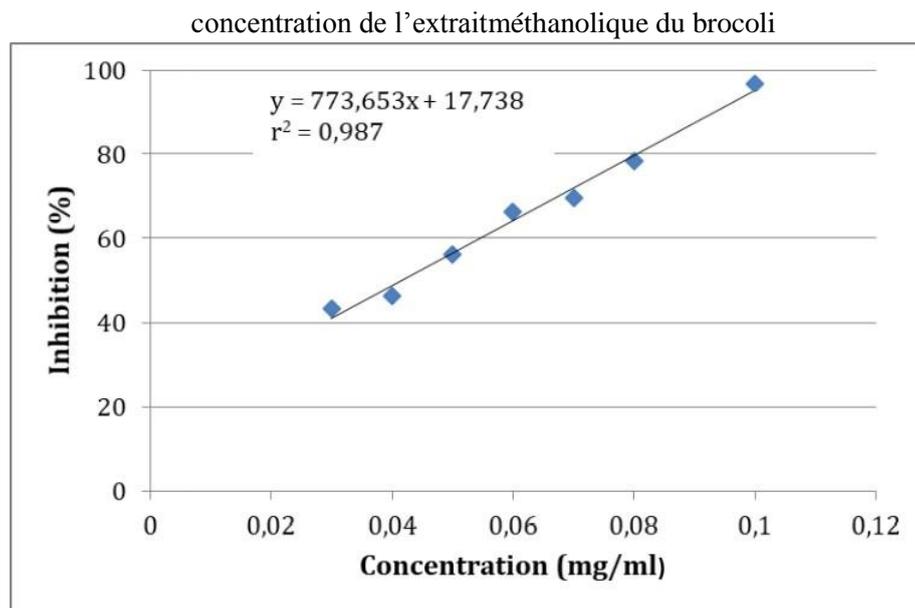


Figure 43 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique du moringa(Originale)

Chapitre III : Résultats et discussion

Tableau 8 : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50% (IC50) (Activité antioxydante) (Original)

éspec	Acideou (vit C) ascorbique	Moringa	Brocoli
IC50	0 ,040	0 ,042	0,058

- **Activité anti-inflammatoire**

- L'étude de l'activité anti-inflammatoire a pour objectif la vérification in vitro de l'effet anti-dénaturation induit par l'extrait méthanolique de *Brassica oleracea* dans l'albumine d'œuf ;
- Les deux plantes constituent une source potentielle de molécules bioactives qui empêche la dénaturation des protéines tissulaires. L'aspirine est utilisée comme standard (Figure 28). Les résultats de l'activité anti-inflammatoire de ces plantes sont représentés dans les figures et le tableau 8.

- **Activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne avec les extraits des plantes (Brocoli, Moringa,) a été réalisée, en mesurant la concentration minimale inhibitrice (CMI) (Tableau).

Chapitre III : Résultats et discussion

Tableau 9 : Sensibilité et CMI (mg/ml) des souches bactériennes testées aux extraits méthanoïques des cinq espèces étudiées (Original)

Espèce Végétale Espèce Bactérienne	Brocoli	Moringa
ACINETOBACTER BAUMANNII NDM-1	2,2	2,2
ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212	2,2	R
ESCHERICHIA COLI ATCC25922	5	3,33
ESCHERICHIA COLI ATCC 8739	2,9	2,9
KLEBSIELLA PNEUMONIAE	6,25	2,5
SALMONELLA TYPHIMURIUM ATCC 14028	R	R
SERRATIA MARCESCENS	5	R
STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATCC 25923	R	4
STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATTCC 6538	2,9	6,25

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1.1. Analyse physico chimique

pour confirmer la valeur nutritionnelle de *notre produits* , nous avons réalisé des analyses physico-chimiques. Le tableau ci-dessous résume les résultats de notre étude.

Tableau10 : Résultats des analyses physico-chimiques de produits.

Paramètre	Unité	Résultat	Référence
Glucide	g/100g	49.73	-
Fibre alimentaire	g/100g	6.34	Méthode de Weend
Protéine	g/100g	15.95	Méthode de Kjeldah
Matière grasse	g/100g	11.66	Extraction Soxhlet
Sel (Nacl)	g/100g	0.59	Méthode de Mohr
Valeur énergétique	Kcal/100g Kj/100g	367.66 1547.98	- -
PH a 10 % (20 ° C)	-	5.32	PH-mètre
Extrait sec	g/100g	90.73	Etuvage
Humidité	g/100g	9.27	
Cendre	g/100g	13.39	Calcination
Métaux lourds			
Teneur en Fer	g/100g	0.026	
Teneur en Plomb	g/100g	Non détectable	
Teneur en Chrome	g/100g	Non détectable	
Teneur en Cadmium	g/100g	Non détectable	
Teneur en Mercure	g/100g	Non détectable	
Sodium	g/100g	2	Spectrophotomètre a flamme
Potassium	g/100g	1.96	Spectrophotomètre a flamme
Calcium	g/100g	0.55	Spectrophotométrie
Magnésium	g/100g	0.37	Spectrophotométrie

Nos résultats obtenus montrent que, les valeurs nutritionnelles et énergétique du notre produits et sont élevés par rapport a ceux de l'étude de Diagne et *al.*, (2005), dont le Moringa Nigérien est très connu mondialement par ses propriétés qualitatives ; concernant le calcium et le magnésium, ainsi que, le fer, ils sont dans les normes ; avec une zéro détection de métaux lourds qui veut dire que cette plante ne provoque aucune toxicité (Diagne et *al.*, 2005).

III.2 Discussion

2.1 *Moringa oleifera*

L'étude de Margareth et *al.*, (2015) consiste à identifier qualitativement les molécules bioactives **l'isoquercétine et le Kaempferol**, ainsi, l'acide chlorogénique (Margareth et *al.*, 2015), il a identifié les flavonoïdes dans le *Moringa oleifera* et quantitativement en valeur de :

- **Acide chlorogénique (79.31 mg/g)**
- **Quercétine (137.81 mg/g)**
- **Isoquercitrine (75.65 mg/g)**
- **Kaempferol (106.75 mg/g)**

Ces résultats Margareth et *al.*, (2015) montrent la présence de la molécule bioactive kaempferol dans les feuilles de *Moringa oleifera*, dans notre cas on n'a pas pu identifier cette molécule en raison de manque de l'étalon (kaempferol) (Margareth et *al.*, 2015).

D'après les résultats obtenus, on déduit que le *Moringa oleifera* présente le taux le plus élevée de teneurs en flavonoïdes qui enregistrent 12.547 mg EQ/g par rapport aux autres plantes (Armoise 3.725 mg EQ/gr, Brocoli 2.586 mg EQ/gr, Ortie 4.882 mg EQ/gr).

Nos résultats rejoignent les résultats de Fachriyah et *al.*, (2020) qui montrent que l'extrait de *Moringa oleifera* Indonésien représente 10.77 mg EQ/gr des flavonoïdes qui ont enregistré un teneur élevé par rapport aux autres plantes (Fachriyah et *al.*, 2020).

Les résultats **d'activité antioxydante** des différentes plantes étudiées montrent que, le brocoli et moringa présentent des valeurs proches et élevées par rapport aux autres plantes et au standard utilisé (Acide ascorbique) qui enregistre une valeur de 0.040 mg/ml.

L'acide ascorbique (Vitamine C) est un composé organique hydrosoluble, il est considéré comme un réducteur très puissant (Arnold et *al.*, 1986). Ce dernier est un antioxydant prédominant, il exerce à la fois son pouvoir antioxydant intracellulaire et extracellulaire (Zussman et *al.*, 2010). De plus il neutralise les radicaux libres dans les compartiments aqueux de la cellule, et protège les structures intracellulaires du stress oxydant (Manela-Azulay et Bagatin 2009).

Nos résultats rejoignent ceux d'Argolo et *al.*, (2012). Le *Moringa* présente une activité anti-oxydant, avec une valeur de 0.06mg/ml (Argolo et *al.*, 2012). Et *Brassica oleracea*

var. *Italica* est reconnu pour sa haute teneur en vitamines (Mukherjee et Mishra 2012). De plus c'est une source importante de multiples composés à activité antioxydante tels que l'acide ascorbique et les composés phénoliques, notamment les acides phénoliques et les glucosinolates et de la quercétine (Moreno et al., 2006).

Tableau 8 : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50% (IC50) (anti-inflammatoire)
(Original)

Espèce	Acide ascorbique	Armoise	Brocoli	Moringa	Ortie
IC50 (mg/ml)	0,040	0,052	0,058	0,042	0,044

Les analyses de l'activité anti-inflammatoire effectuées pour les plantes (Armoise, Brocoli Moringa, et Ortie) montrent que toutes ces plantes possèdent une activité anti-inflammatoire, le brocoli présent le taux élevé 0,219 mg/ml par rapport aux autres plantes et qui est proche du taux de standard utilisé 0,302mg/ml (Aspirine).

L'étude de Nidaye et al., (2016) consiste à la mise en évidence de l'activité anti-inflammatoire de sous-fraction méthalonique des feuilles de *Moringa oleifera*. Les résultats de cette étude montrent et confirment que les feuilles de *Moringa oleifera* possèdent majoritairement des substances chimique polaire à activité anti-inflammatoire. Nos résultats sont en accord avec ceux de Nidaye et al., (2016).

2.2 *Brassica Oleracea*

Les résultats relatifs au criblage phytochimique de l'extrait méthanolique des graines de brocoli montre que *Brassica oleracea* est riche en principe actifs .

Concernant l'étude quantitative des composés, nous avons enregistré une teneur de 0,578 mg EAG/gr MS des composés phénoliques et 1,278 mg EAT/gr MS des tanins totaux et nous avons noté une teneur de 2,586mg EQ/gr MS en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique . Selon l'étude **G et al, en 2013** L'analyse phytochimique de l'extrait de brocoli arévéla la présence des flavonoïdes, les polyphénols et alcaloïdes, les tanins .

Le brocoli se distingue par la présence de nombreuses substances bioactives aux propriétés bénéfiques pour la santé. Parmi ces composés bioactifs, les glucosinolates, les composés phénoliques, les vitamines (vitamine C) (**Borowski et al., 2008**). Selon le travail de **Thomas, en 2018** qui se concentre principalement sur l'identification, la caractérisation et la quantification des glucosinolates et des polyphénols présents montre que la teneur en Glucosinolates en particulier les isothiocyanates dans les graines de brocoli était significativement plus élevés que celle de ses fleurons et de ses tiges.

Nos résultats révèlent que l'extrait éthanolique des graines de brocoli possède une activité antioxydante de **0.058 mg/ml**, ce résultat est proche de celui du standard utilisé (acide ascorbique) qui représente **0.040 mg/ml**.

Les polyphénols sont parmi les métabolites secondaires qui possèdent des capacités antioxydantes importantes. Cette activité est due à leurs propriétés redox qui leur permettant d'adsorber et de neutraliser les radicaux libres et de piéger les espèces réactives d'oxygènes (**Rochette et al., 2015**); (**Hussain et al., 2016**). Plusieurs études indiquent que les polyphénols pourraient diminuer le risque de survenue d'un certain nombre de pathologies, en particulier celles liées au vieillissement et aux lésions oxydatives (cancers, maladies cardiovasculaires ou neurodégénératives) (**Leong et Shui 2002**).

Les AINS sont parmi les médicaments les plus fréquemment prescrits dans le monde dont l'aspirine est le chef de file (**Derrier et Mercatello 1997**). De plus elle est capable de soulager l'inflammation, mais toutefois, il entraîne des effets secondaires qui rendent leur utilisation problématique,

Le brocoli et ses dérivés tel que le sulforaphane (SFN) ont des propriétés anti-inflammatoire (**Al-Bakheit et Abu-Qatouseh 2020**); (**Ferruzza et al., 2016**); (**Choe et al., 2018**); (**Saleh et al., 2021**).

Des études récentes ont montré que le SFN peut inhiber de manière significative les médiateurs inflammatoires, tels que l'IL-6, l'IL-1 β , le TNF- α , l'oxyde nitrique (NO) et la prostaglandine E₂ (PGE₂) et les enzymes inflammatoires, par exemple le NO inducible synthase (iNOS) et cyclooxygénase 2 (COX-2), en supprimant l'activation de la voie de signalisation NF κ B (**Heiss et al., 2001**); (**Moon et al., 2009**), (**Lin et al., 2008**); (**Qinet et al., 2018**); (**Ruhee et al., 2019**); (**Shan et al., 2010**); (**Woo et Kwon 2007**).

Par conséquent, l'inhibition de l'activation de NFκB par le SFN est une approche importante pour prévenir des effets délétères. Le sulforaphane en tant que stimulateur de Nrf2 exerce des effets néoprotecteur in vitro. Il inverse l'élévation des marqueurs autophagiques, tels que le rapport beclin-1 et LC3 (II/I), et a augmenté la production de HO1 dans la lignée cellulaire du tubule rénal

Les isothiocyanates et en particulier le sulforaphane étaient des molécules dotées de propriétés anti-carcinogènes (**Thomas et al., 2018**). Les graines de brocoli ont longtemps été appréciés comme une riche source de GLS et de leurs produits d'hydrolyse (en particulier SFN), qui sont une classe bien connue de médicaments chimio-thérapeutiques anticancéreux. qui agissent en induisant l'apoptose et en arrêtant l'avancement du cycle cellulaire (provoquait un arrêt de la phase (G2/M) entraînant une inhibition de la prolifération/croissance tumorale, qui était liée à une régulation négative des gènes de la cycline B1 (**Cheng et al., 2016**) ,et de la cycline D1 ainsi qu'à une augmentation des niveaux de protéines de p21 (un inhibiteur des kinases dépendantes des cyclines) (**Żuryń et al., 2016**). Ces derniers sont capables d'inhiber la carcinogénèse. Ils inhibent en plus l'angiogénèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales (**Sharma et al., 2008**).

L'analyse de nos résultats sur la sensibilité des souches bactériennes testées à l'extrait méthanolique des graines de brocoli montre que cette espèce présente l'activité

antibactérienne la plus importante, vis-à-vis *Klebsiella pneumoniae* (CMI = 6.25 mg/ml), *Serratia marcescens* (CMI = 5 mg/ml), *Escherichia coli* ATCC 25922 (CMI = 5 mg/ml), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (CMI = 2.9 mg/ml), *Escherichia coli* ATCC 8739 (CMI = 2.9 mg/ml), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (CMI = 2.2 mg/ml), *Acinetobacter baumannii* NDM-1, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (CMI = 2.2 mg/mL). Seulement *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sont des bactéries **résistantes** aux extrait méthanolique du brocoli ce qui confirme que cette dernière (*Brassica oleracea* var. *Italica*) est douée des propriétés antibactériennes et présente des potentiels en thérapie contre certaines infections bactérienne. antibactérienne contre une gamme d'agents pathogènes d'origine alimentaire et de microbes entéro-pathogènes, y' compris *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonelle Typhimurium* et *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus*

aureus et cela revient à la présence du sulforaphane. D'après , **Silva et al, en 2013** et **Silva et al, en 2016** les bactéries à Gram-positives étaient plus sensibles à l'extrait des graines de brocoli que les bactéries à Gram-négatives. La raison possible pourrait être due à la différence structurelle des bactéries Gram- positives et Gram négatives. En comparaison avec notre résultat qui montre que notre extrait méthanolique possède une activité antibactérienne contre plusieurs bactéries à gram-négatives par rapport à des bactéries a gram-positives. L'isothiocyanate sulforaphane (SFN) semble une option thérapeutique prometteuse pour les bactéries à Gram (+) et à Gram (-), et les infections bactériennes puisqu'il module les réponses antioxydante et anti-inflammatoires (**Ali et al., 2020**).

Des substances telles que les flavonoïdes et les tanins possèdent une activité antibactérienne confirmée (**Bruyne et al.,1999**). Par ailleurs, l'activité bactériostatique de ces molécules a été également rapportée sur différentes bactéries notamment, *Bacillus anthracis*, *B. subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium bolulinum* (**Chung et al., 1998**). Selon les recherches de **Le et al, en 2019** ont démontré que les graines de brocoli possèdent une excellente activité bactéricide contre *Helicobacter pylori*.

D'autre part Selon les résultats de ce dernier, les activités antimicrobiennes des fleurons et des tiges de brocoli ont été discutées au lieu des graines, cette étude a présenté que *B. subtilis* était sensible à l'extrait éthanolique des pousses de brocoli « ESB » à faible concentration (0,39 mg/ml) et présentait également un IZD très actif (26,44mm), tandis que *Typhimurium* et *E. Coli* pourrait être inhibé par l'ESB à des CMI plus élevées (0,78 et 1,56 mg/ml) et à des IZD plus petites (21,03 et 17,84 mm). En Comparaison avec notre extrait méthanolique des graines de brocoli qui possède une activité antibactérienne importante, vis-à-vis vis *Klebsiella pneumoniae* (CMI = 6.25 mg/ml), *Serratia marcescens* (CMI = 5 mg/ml), *Escherichia coli* ATCC 25922 (CMI = 5 mg/ml), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (CMI = 2.9 mg/ml), *Escherichia coli* ATCC 8739 (CMI = 2.9 mg/ml), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (CMI = 2.2 mg/ml), *Acinetobacter baumannii* NDM-1, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (CMI = 2.2mg/ml) .

La différence entre les deux résultats est capable dû à la différence de la partie étudié et des composants de cette dernière. Des études antibactériennes préliminaires de **G et al,**

en 2013 sur les extraits de brocoli ont démontré sa large activité contre les agents pathogènes d'origine alimentaire. La plupart des extraits ont montré une activité antibactérienne avec une plage de diamètre de zone avec *B. subtilis* ATCC 6633 (0,6-15,4 mm) et *Bacillus cereus* ATCC 10876 (8,9- 16,3 mm) se sont révélés d'être les organismes les plus sensibles de l'étude. Nos résultats corroborent avec de **Le et al, en 2019** et **G et al, en 2013**, Ils ont trouvé une activité plus élevée car il ont utilisé des parties botaniques différentes, ils ont utilisé les feuilles et les tiges alors que on a utilisé les graines ce qui a donné différents résultats par contre les 3 parties botaniques ont une activité antibactérienne. Des études récentes montrent que l'isothiocyanate sulforaphane (SFN) est un antibiotique très puissant et sélectif contre *H. pylori* (**Fahey et al., 2015**

2.3 Formulation et Fabrication

- *La formulation*

Vu les résultats de différents paramètres d'analyses des activités biologiques, nous avons réalisé une formulation d'un phytomédicament à base de *Moringa oleifera* et la plante qui nous a le plus ébahi, c'est, dont les résultats sont remarquables, nous pouvons retirer de ce dernier que est :

- **Riche en flavonoïdes valables de « 3,725 mg/ml » ;**
 - **Très grande activité anti-oxydante valable de « 0,052 mg/ml » ;**
 - **Un pouvoir anti-inflammatoire valable de « 0,193 mg/ml ».**
- La fabrication**

Après la formulation, dont on a élaboré notre produit en fonction des allégations souhaitées et sélection de la matière première la plus adaptée.

- **Fabrication**

Fabrication à grande échelle de notre phyto médicament au format désiré à l'aide des gélules manuelles qui peut produire 400 gélules à la fois

- **Conditionnement**

Accompagnement d'une boîte en verre comme packaging pour nos conditionnements(

- **Etiquetage**

Nous même profiler notre étiquette grâce à un logiciel et l'imprimer dans un papier autocollant de bonne qualité

- **Contrôle qualité**

Traçabilité des matières dans les résultats précédents et contrôle minutieux du

processus defabrication.

L'analyse microbiologique pour la matière première et de produit final est une étape indispensable dans notre projet afin d'assurer la qualité de notre complément alimentaire.

Les résultats sont représentés dans le tableau

Analyse microbiologique

L'analyse microbiologique pour la matière première et de produit fini est une étape indispensable dans notre projet afin d'assurer la qualité de notre complément alimentaire.

Les résultats sont représentés dans le tableau XI:

Tableau 11: Résultat d'analyses microbiologique de la matière première

Détermination	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 4	Essai 5	Norme	Spécification
Coliformes thermotolérants	00	//	//	//	//	NF V08-017	< 100
Levures et Moisissures / g	2500	//	//	//	//	ISO 7954	<10000
Clostridium S.R à 46°C	00	//	//	//	//	NA 15176	<100
Salmonella / 25g	Abs	//	//	//	//	ISO 6579	Abs dans 25g
Staphylococcus aureus	00	//	//	//	//	ISO 6888-1	/

Selon la bonne pratique de la norme ISO 22000 durant tout le processus de fabrication de la matière première au produit fini ce qui induit aux bons résultats et l'absence de différentes espèces bactériennes mise à part les **levures et moisissures** qui sont la conséquence d'une humidité élevée. Tous ces tests d'analyse sont exigés par la norme ISO 22000. Suite au bon séchage effectué pour notre matière première, on a pu obtenir les résultats suivants qui montre que le taux de levures et moisissures sont diminué avec une valeur de 1700 g (Tableau)

Tableau 12 : Résultat d'analyses microbiologique de produit fini (Original)

Détermination	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 4	Essai 5	Norme	Spécification
Coliformes thermotolérants	00	//	//	//	//	NF V08- 017	< 100
Levures et Moisissures / g	800	//	//	//	//	ISO 7954	<10000
Clostridium S.R à 46°C	00	//	//	//	//	NA 15176	<100
Salmonella / 25g	Abs	//	//	//	//	ISO 6579	Abs dans 25g
Staphylococcus aureus	00	//	//	//	//	ISO 6888-1	/

III .1.7. L'analyse des dangers

Pour notre cas, on a rien remarqué dans tous les les analyses physico-chimiques que le taux de l'humidité est élevé, donc la criticité de dangers biologique est :

Criticité = Gravité est de 2 x Fréquence d'apparition est de 4 car c'est très fréquent = **8**

Donc, on détermine un PRPo ou on aura besoin d'un bon séchage avec un déshydrateur pour ne pas retomber dans un tel risque



Prototype Méta-stop

Conclusion Générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives

La consommation des compléments alimentaire a explosé ses dernières années de ce fait de peu nombres de sociétés en Algérie sont lancées dans leur commercialisation leurs action principale a touché le coté marketing.

De notre part en tant que biotechnologue on a participé sur le plan scientifique grâce à l'étude bibliographique qu'on a utilisée comme base de ressources et principalement grâce à la norme ISO 22000 avec l'intégration de HACCP la fabrication d'un phyto_médicament « méta_bloc » qui est conforme ; cette norme nous a obligé d'effectuer de différentes analyses pour confirmer, assuré aux consommateurs un produit de bonne qualité.

L'étape la plus importante, c'est celle qui a permis de manipuler et interprété les différentes analyses intéressantes, telles que, les analyses physico-chimiques et microbiologique qui nous a affirmé que le *Moringa oleifera* et le *brocoli* sont des remèdes pour lutter contre le cancer et linflamation . Ainsi, l'identification des principes actifs nous a permis de confirmer l'étude bibliographique, la présence des molécule bioactive par HPLC pour valoriser notre phyto_médicament a des effets anti cancer , antioxydante et anti-inflammatoire, sain et sûr et de bonne qualité.

En perspective, nous souhatons de

- Reconnaître l'importance des différents végétaux médicinaux pour lutter contre la malnutrition et développer le tissu socio-économique du secteur agricole de l'Algérie
- Mettre à disposition le *Moringa Oleifera* par un approvisionnement local pourrait permettre l'émergence de solutions pour lutter contre la malnutrition susceptible de toucher un nombre conséquent de foyers
- Évaluer la viabilité de la filière et ses conditions, et de proposer des recommandations d'actions comme désigner des producteurs pilotes, programmer des volumes de production, fixer des prix de référence ou encore créer des supports de sensibilisation
- Établir des laboratoires spécifiques et fournir, faciliter aux étudiants la recherches phytothérapeutiques

References Bibliographiques

"A"

Abdennacer, Boulila, Mattoussi Karim, M'rabet Yassine, Rokbeni Nesrine, Dhouioui Mouna, et Boussaid Mohamed. 2015. « Determination of Phytochemicals and Antioxidant Activity of Methanol Extracts Obtained from the Fruit and Leaves of Tunisian *Lycium Intricatum* Boiss ». *Food Chemistry* 174 (mai): 577-84. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.114>.

Abellán, Ángel, Raúl Domínguez-Perles, Diego A. Moreno, et Cristina García-Viguera. 2019. « Sorting out the Value of Cruciferous Sprouts as Sources of Bioactive Compounds for Nutrition and Health ». *Nutrients* 11 (2): E429. <https://doi.org/10.3390/nu11020429>.

Abukhabta, Salah, Sameer Khalil Ghawi, Kimon Andreas Karatzas, Dimitris Charalampopoulos, Gordon McDougall, J. Will Allwood, Susan Verrall, Siobhan Lavery, Cheryl Latimer, L. Kirsty Pourshahidi, Roger Lawther, Gloria O'Connor, Ian Rowland, et Chris I. R. Gill. 2021. « Sulforaphane-Enriched Extracts from Glucoraphanin-Rich Broccoli Exert Antimicrobial Activity against Gut Pathogens in Vitro and Innovative Cooking Methods Increase in Vivo Intestinal Delivery of Sulforaphane ». *European Journal of Nutrition* 60(3):1263-76. doi: 10.1007/s00394-020-02322-0.

Al-Bakheit, Ala'a, et Luay Abu-Qatouseh. 2020. « Sulforaphane from Broccoli Attenuates Inflammatory Hepcidin by Reducing IL-6 Secretion in Human HepG2 Cells ». *Journal of Functional Foods* 75 (décembre): 104210. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104210>.

Alhakmani, Fatma, Sokindra Kumar, et Shah Alam Khan. 2013. « Estimation of Total Phenolic Content, in-Vitro Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of Flowers of *Moringa Oleifera* ». *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3 (8): 623-27; discussion 626-627. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60126-4](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60126-4).

Ali, Malika, Marcel Bonay, Valentin Vanhee, Stéphane Vinit, et Therese B. Deramaudt. 2020. « Comparative Effectiveness of 4 Natural and Chemical Activators of Nrf2 on Inflammation, Oxidative Stress, Macrophage Polarization, and Bactericidal Activity in an in Vitro Macrophage Infection Model ». *PloS One* 15 (6): e0234484. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234484>.

Almushayti, Albatul Y., Kirsten Brandt, Michael A. Carroll, et Michael J. Scotter. 2021. « Current Analytical Methods for Determination of Glucosinolates in Vegetables and Human Tissues ». *Journal of Chromatography A* 1643 (avril): 462060. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462060>.

Ares, Ana M., María J. Nozal, et José Bernal. 2013. « Extraction, Chemical Characterization and Biological Activity Determination of Broccoli Health Promoting Compounds ». *Journal of Chromatography A* 1313:78-95. doi:

10.1016/j.chroma.2013.07.051.

Argilés, J. M. 2005. « Cancer-Associated Malnutrition ». *European Journal of Oncology Nursing: The Official Journal of European Oncology Nursing Society* 9 Suppl 2: S39-50. <https://doi.org/10.1016/j.ejon.2005.09.006>.

Ashwlayan, Vrish Dhvaj. 2017. « Antidementic Activity of Brassica oleracea L. var. Italica (Brassicaceae) Flower on Memory Deficit in Young Male Rats ». *Pharmacy & Pharmacology International Journal* 5(3). doi: 10.15406/ppij.2017.05.00124.

Arnold, MUNNICH, OGIER Hélène, SAUDUBRAY Jean-Marie, et FREZAL Jean. 1986. *Les vitamines : aspects métaboliques, génétiques, nutritionnels et thérapeutiques*. Paris: Masson.

"B"

Baenas, Nieves, Isabel Gómez-Jodar, Diego A. Moreno, Cristina García-Viguera, et Paula M. Periago. 2017. « Broccoli and Radish Sprouts Are Safe and Rich in Bioactive Phytochemicals ». *Postharvest Biology and Technology* 127 (mai): 60-67. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.01.010>.

Bahadoran, Zahra, Parvin Mirmiran, et Fereidoun Azizi. 2013. « Potential Efficacy of Broccoli Sprouts as a Unique Supplement for Management of Type 2 Diabetes and Its Complications ». *Journal of Medicinal Food* 16 (5): 375-82. <https://doi.org/10.1089/jmf.2012.2559>.

Bahadoran, Zahra, Parvin Mirmiran, Farhad Hosseinpanah, Asadolah Rajab, Golale Asghari, et Fereidoun Azizi. 2012. « Broccoli Sprouts Powder Could Improve Serum Triglyceride and Oxidized LDL/LDL-Cholesterol Ratio in Type 2 Diabetic Patients: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Clinical Trial ». *Diabetes Research and Clinical Practice* 96 (3): 348-54. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2012.01.009>.

Bahadoran, Zahra, Maryam Tohidi, Pantea Nazeri, Mahya Mehran, Fereidoun Azizi, et Parvin Mirmiran. 2012. « Effect of Broccoli Sprouts on Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Patients: A Randomized Double-Blind Clinical Trial ». *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 63 (7): 767-71. <https://doi.org/10.3109/09637486.2012.665043>.

Bahn, Gahee, Jong-Sung Park, Ui Jeong Yun, Yoon Jee Lee, Yuri Choi, Parc, Jin Su, et al. 2019. « NRF2/ARE pathway negatively regulates BACE1 expression and ameliorates cognitive deficits in mouse Alzheimer's models ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116 (25): 12516-23. <https://doi.org/10.1073/pnas.1819541116>.

Bahn, Gahee, Jong-Sung Park, Ui Jeong Yun, Yoon Jee Lee, Yuri Choi, Parc, Jin Su, Seung Hyun Baek, Bo Youn Choi, Yoon Suk Cho, Hark Kyun Kim, Jihoun Han, Jae Hoon Sul, Sang-Ha Baik, Jinhwan Lim, Nobunao Wakabayashi, Soo Han Bae, Jeung-Whan Han, Thiruma V.Arumugam, Mark P. Mattson, et Dong-Gyu Jo. 2019. « NRF2/ARE pathway negatively regulates BACE1 expression and ameliorates cognitive deficits in mouse

Alzheimer's models ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116(25):12516-23. doi: 10.1073/pnas.1819541116.

Bai, Yang, Xiaolu Wang, Song Zhao, Chunye Ma, Jiuwei Cui, et Yang Zheng. 2015. « Sulforaphane Protects against Cardiovascular Disease via Nrf2 Activation ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2015 (octobre): e407580. <https://doi.org/10.1155/2015/407580>.

Baluk, Peter, Li-Chin Yao, Jennifer Feng, Talia Romano, Sonia S. Jung, Jessica L. Schreiter, Li Yan, David J. Shealy, et Donald M. McDonald. 2009. « TNF-Alpha Drives Remodeling of Blood Vessels and Lymphatics in Sustained Airway Inflammation in Mice ». *The Journal of Clinical Investigation* 119 (10): 2954-64. <https://doi.org/10.1172/JCI37626>.

Barouki, Robert. 2006. « Stress oxydant et vieillissement ». *médecine/sciences* 22 (3): 266-72. <https://doi.org/10.1051/medsci/2006223266>.

Basdevant, Arnaud. 2006. « L'obésité : origines et conséquences d'une épidémie ». *Comptes Rendus Biologies* 329 (8): 562-69. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2006.03.018>.

BENHAMOU, C. (2022). MICROBIOTE intestinal ET OBESITE. FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE , MAROC.

Bhandari, Ranjana, Japneet Kaur, Simerpreet Kaur, et Anurag Kuhad. 2021. « The Nrf2 Pathway in Psychiatric Disorders: Pathophysiological Role and Potential Targeting ». *Expert Opinion on Therapeutic Targets* 25 (2): 115-39. <https://doi.org/10.1080/14728222.2021.1887141>.

Bhandari, Shiva Ram, et Jung-Ho Kwak. 2014. « Seasonal Variation in Phytochemicals and Antioxidant Activities in Different Tissues of Various Broccoli Cultivars ». *African Journal of Biotechnology* 13(4):604-15. doi: 10.5897/AJB2013.13432.

Borowski, Jerzy, Agnieszka Szajdek, Eulalia J. Borowska, Ewa Ciska, et Henryk Zieliński. 2007. « Content of selected bioactive components and antioxidant properties of broccoli (*Brassica oleracea* L.) ». *European Food Research and Technology* 226(3):459.

Borowski, Jerzy, Agnieszka Szajdek, Eulalia J. Borowska, Ewa Ciska, et Henryk Zieliński. 2008. « Content of selected bioactive components and antioxidant properties of broccoli (*Brassica oleracea* L.) ». *European Food Research and Technology* 226 (3): 459-65. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0557-9>.

Bruyne, M. de, P. J. Clyne, et J. R. Carlson. 1999. « Odor Coding in a Model Olfactory Organ: The *Drosophila* Maxillary Palp ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 19 (11): 4520-32.

Butkutė, Bronislava, Lukas Taujenis, et Eglė Norkevičienė. 2018. « Small-Seeded Legumes as a Novel Food Source. Variation of Nutritional, Mineral and Phytochemical Profiles in the Chain: Raw Seeds-Sprouted Seeds-Microgreens ». *Molecules* 24(1):133. doi: 10.3390/molecules24010133.

"C"

Campas-Baypoli, Olga N., Dalia I. Sánchez-Machado, Carolina Bueno-Solano, Jose A. Núñez-Gastélum, Cuauhtémoc Reyes-Moreno, et Jaime López-Cervantes. 2009. « Biochemical composition and physicochemical properties of broccoli flours ». *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 60 (sup4): 163-73. <https://doi.org/10.1080/09637480802702015>.

Chen, Wei-Wei, Xia Zhang, et Wen-Juan Huang. 2016. « Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases (Review) ». *Molecular Medicine Reports* 13(4):3391-96. doi: 10.3892/mmr.2016.4948.

Cheng, Ya-Min, Ching-Chou Tsai, et Yi-Chiang Hsu. 2016. « Sulforaphane, a Dietary Isothiocyanate, Induces G₂/M Arrest in Cervical Cancer Cells through CyclinB1 Downregulation and GADD45 β /CDC2 Association ». *International Journal of Molecular Sciences* 17 (9): E1530. <https://doi.org/10.3390/ijms17091530>.

Cheok, C. Y., N. L. Chin, Y. A. Yusof, R. A. Talib, et C. L. Law. 2013. « Optimization of Total Monomeric Anthocyanin (TMA) and Total Phenolic Content (TPC) Extractions from Mangosteen (*Garcinia Mangostana* Linn.) Hull Using Ultrasonic Treatments ». *Industrial Crops and Products* 50 (octobre): 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.024>.

Chilakala, Rajasekhar Reddy, Aparna Lakshmi Manchikalapudi, Ashok Kumar, et Aditya Sunkaria. 2020. « Sulforaphane Attenuates A β Oligomers Mediated Decrease in Phagocytic Activity of Microglial Cells ». *Neuroscience* 429 (mars): 225-34. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.01.002>.

Choe, Uyory, Yanfang Li, Boyan Gao, Lu Yu, Thomas T. Y. Wang, Jianghao Sun, Pei Chen, Jie Liu, et Liangli Yu. 2018. « Chemical Compositions of Cold-Pressed Broccoli, Carrot, and Cucumber Seed Flours and Their in Vitro Gut Microbiota Modulatory, Anti-inflammatory, and Free Radical Scavenging Properties ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66 (35): 9309-17. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03343>.

Chung, K. T., T. Y. Wong, C. I. Wei, Y. W. Huang, et Y. Lin. 1998. « Tannins and Human Health: A Review ». *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 38 (6): 421-64. <https://doi.org/10.1080/10408699891274273>.

Chung, Shue Dong, Ting Yu Lai, Chiang Ting Chien, et Hong Jen Yu. 2012. « Activating Nrf-2 Signaling Depresses Unilateral Ureteral Obstruction-Evoked Mitochondrial Stress-Related Autophagy, Apoptosis and Pyroptosis in Kidney ». *PLOS ONE* 7 (10): e47299. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047299>.

Clarke, John D., Anna Hsu, Ken Riedl, Deborah Bella, Steven J. Schwartz, Jan F. Stevens, et Emily Ho. 2011. « Bioavailability and Inter-Conversion of Sulforaphane and Erucin in Human Subjects Consuming Broccoli Sprouts or Broccoli Supplement in a Cross-over Study Design ». *Pharmacological Research* 64 (5): 456-63. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2011.07.005>.

Classification hiérarchique de brocoli. (2022, avril 17). Récupéré sur Inventaire national du patrimoine naturel (INPN: https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/613661/tab/taxo)

Clément, K., C. Vaisse, N. Lahlou, S. Cabrol, V. Pelloux, D. Cassuto, M. Goumelen, et al. 1998. « A Mutation in the Human Leptin Receptor Gene Causes Obesity and Pituitary Dysfunction ». *Nature* 392 (6674): 398-401. <https://doi.org/10.1038/32911>.

Crozier, Alan, Indu B. Jaganath, et Michael N. Clifford. 2007. « Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview », novembre, 1-24. <https://doi.org/10.1002/9780470988558.ch1>.

"D"

Daenen, Kristien, Asmin Andries, Djalila Mekahli, Ann Van Schepdael, François Jouret, et Bert Bammens. 2019. « Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease ». *Pediatric Nephrology* 34 (6): 975-91. <https://doi.org/10.1007/s00467-018-4005-4>.

DE, KORWIN, et D. E. KORWIN (Jean-Dominique). 2014. « Épidémiologie de l'infection à *Helicobacter pylori* et du cancer gastrique : infection à *H. pylori* et cancers gastriques. » *Épidémiologie de l'infection à Helicobacter pylori et du cancer gastrique : infection à H. pylori et cancers gastriques.*

Derrier, M, et A Mercatello. 1997. « Place des anti-inflammatoires non stéroïdiens en période périopératoire. Intérêt et limites ». *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 16 (5): 498-520. [https://doi.org/10.1016/S0750-7658\(97\)83344-8](https://doi.org/10.1016/S0750-7658(97)83344-8).

Di Bella, Maria Concetta, Agnieszka Niklas, Stefania Toscano, Valentina Picchi, Daniela Romano, Roberto Lo Scalzo, et Ferdinando Branca. 2020. « Morphometric Characteristics, Polyphenols and Ascorbic Acid Variation in Brassica Oleracea L. Novel Foods: Sprouts, Microgreens and Baby Leaves ». *Agronomy* 10 (6): 782. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060782>.

Ding, Yan, et Mary E. Choi. 2015. « Autophagy in Diabetic Nephropathy ». *Journal of Endocrinology* 224(1):R15-30. doi: 10.1530/JOE-14-0437.

Dinkova-Kostova, Albena T., W. David Holtzclaw, Robert N. Cole, Ken Itoh, Nobunao Wakabayashi, Yasutake Katoh, Masayuki Yamamoto, et Paul Talalay. 2002. « Direct Evidence That Sulfhydryl Groups of Keap1 Are the Sensors Regulating Induction of Phase 2 Enzymes That Protect against Carcinogens and Oxidants ». *Proceedings of the National*

Academy of Sciences of the United States of America 99 (18): 11908-13.
<https://doi.org/10.1073/pnas.172398899>.

Dinkova-Kostova, Albena T., et Paul Talalay. 2008. « Direct and Indirect Antioxidant Properties of Inducers of Cytoprotective Proteins ». *Molecular Nutrition & Food Research* 52 (S1): S128-38. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700195>.

Dufoo-Hurtado, M.D., M.E. Vazquez-Barrios, E. Ramirez-Gonzalez, D. Vazquez-Celestino, D.M. Rivera-Pastrana, et E. Mercado-Silva. 2020. « Nutritional, nutraceutical and functional properties of flours obtained from broccoli waste material dried at different temperatures ». *Acta Horticulturae*, n° 1292 (octobre): 137-44.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2020.1292.18>.

"E"

Eggler, Aimee L., Guowen Liu, John M. Pezzuto, Richard B. van Breemen, et Andrew D. Mesecar. 2005. « Modifying Specific Cysteines of the Electrophile-Sensing Human Keap1 Protein Is Insufficient to Disrupt Binding to the Nrf2 Domain Neh2 ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (29): 10070-75.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0502402102>.

"F"

Fahey, J. W., A. T. Zalcmann, et P. Talalay. 2001. « The Chemical Diversity and Distribution of Glucosinolates and Isothiocyanates among Plants ». *Phytochemistry* 56 (1): 5-51. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)00316-2](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)00316-2).

Fahey, Jed W., Katherine K. Stephenson, Kristina L. Wade, et Paul Talalay. 2013. « Urease from *Helicobacter Pylori* Is Inactivated by Sulforaphane and Other Isothiocyanates ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 435 (1): 1-7.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.03.126>.

Fahey, Jed W., Katherine K. Stephenson, et Alison J. Wallace. 2015. « Dietary Amelioration of *Helicobacter* Infection ». *Nutrition Research* 35 (6): 461-73.
<https://doi.org/10.1016/j.nutres.2015.03.001>.

Fatmah, Fatmah, Suyud Warno Utomo, et Fatma Lestari. 2021. « Broccoli-Soybean-Mangrove Food Bar as an Emergency Food for Older People during Natural Disaster ». *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18 (7): 3686.
<https://doi.org/10.3390/ijerph18073686>.

Ferruzza, Simonetta, Fausta Natella, Giulia Ranaldi, Chiara Murgia, Carlotta Rossi, Kajetan Trošt, Fulvio Mattivi, et al. 2016. « Nutraceutical Improvement Increases the Protective Activity of Broccoli Sprout Juice in a Human Intestinal Cell Model of Gut Inflammation ». *Pharmaceuticals* 9 (3): 48. <https://doi.org/10.3390/ph9030048>.

Fuente, Beatriz de la, Gabriel López-García, Vicent Mániz, Amparo Alegría, Reyes Barberá, et Antonio Cilla. 2019. « Evaluation of the Bioaccessibility of Antioxidant Bioactive Compounds and Minerals of Four Genotypes of Brassicaceae Microgreens ». *Foods (Basel, Switzerland)* 8 (7): E250. <https://doi.org/10.3390/foods8070250>.

"G"

G, Sibi, Abhilasha Shukla, K. Dhananjaya, et K. R. Ravikumar and H. Mallesha. 2013. « In vitro antibacterial activities of Broccoli (*Brassica oleracea* L.var *italica*) against food borne bacteria ». *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 3, (5): 100-103. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2013.3519>.

Gan, Ren You, Wing Yee Lui, Kao Wu, Chak Lun Chan, Shu Hong Dai, Zhong Quan Sui, et Harold Corke. 2017. « Bioactive compounds and bioactivities of germinated edible seeds and sprouts: An updated review ». *Trends in Food Science and Technology* 59:1-14. doi: 10.1016/j.tifs.2016.11.010.

Gasparello, Jessica, Elisabetta D'Aversa, Chiara Papi, Laura Gambari, Brunella Grigolo, Monica Borgatti, Alessia Finotti, et Roberto Gambari. 2021. « Sulforaphane Inhibits the Expression of Interleukin-6 and Interleukin-8 Induced in Bronchial Epithelial IB3-1 Cells by Exposure to the SARS-CoV-2 Spike Protein ». *Phytomedicine* 87 (juillet): 153583. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153583>.

Gasper, Amy V., Maria Traka, James R. Bacon, Julie A. Smith, Moira A. Taylor, Christopher J. Hawkey, David A. Barrett, et Richard F. Mithen. 2007. « Consuming Broccoli Does Not Induce Genes Associated with Xenobiotic Metabolism and Cell Cycle Control in Human Gastric Mucosa ». *The Journal of Nutrition* 137 (7): 1718-24. <https://doi.org/10.1093/jn/137.7.1718>.

Gerhauser, Clarissa. 2013. « Epigenetic Impact of Dietary Isothiocyanates in Cancer Chemoprevention ». *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 16 (4): 405-10. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e328362014e>.

Ghosh, S., M. J. May, et E. B. Kopp. 1998. « NF-Kappa B and Rel Proteins: Evolutionarily Conserved Mediators of Immune Responses ». *Annual Review of Immunology* 16: 225-60. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.16.1.225>.

Gigliotti, Joseph C., Adrienne Tin, Shirin Pourafshar, Sylvia Cechova, Yves T. Wang, Sun-sang J. Sung, Gabor Bodonyi-Kovacs, et al. 2020. « GSTM1 Deletion Exaggerates Kidney Injury in Experimental Mouse Models and Confers the Protective Effect of Cruciferous Vegetables in Mice and Humans ». *Journal of the American Society of Nephrology* 31 (1): 102-16. <https://doi.org/10.1681/ASN.2019050449>.

Gnudi, Luigi, et Janaka Karalliedde. 2016. « Beat it early: putative renoprotective haemodynamic effects of oral hypoglycaemic agents ». *Nephrology Dialysis Transplantation* 31 (7): 1036-43. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfv093>.

Go, Alan S., Glenn M. Chertow, Dongjie Fan, Charles E. McCulloch, et Chi-yuan Hsu. 2004. « Chronic Kidney Disease and the Risks of Death, Cardiovascular Events, and Hospitalization ». *The New England Journal of Medicine* 351 (13): 1296-1305. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa041031>.

Gu, Hao-feng, Xue-ying Mao, et Min Du. 2022. « Metabolism, absorption, and anti-cancer effects of sulforaphane: an update ». *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 62(13):3437-52. doi: 10.1080/10408398.2020.1865871.

Guo, Liping, Runqiang Yang, Zhiying Wang, Qianghui Guo, et Zhenxin Gu. 2014. « Glucoraphanin, Sulforaphane and Myrosinase Activity in Germinating Broccoli Sprouts as Affected by Growth Temperature and Plant Organs ». *Journal of Functional Foods* 9 (juillet): 70-77. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.015>.

Guo, Qianghui, Liping Guo, Zhiying Wang, Yan Zhuang, et Zhenxin Gu. 2013. « Response Surface Optimization and Identification of Isothiocyanates Produced from Broccoli Sprouts ». *Food Chemistry* 141 (3): 1580-86. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.026>.

"H"

Hanahan, Douglas, et Robert A. Weinberg. 2011. « Hallmarks of Cancer: The next Generation ». *Cell* 144 (5): 646-74. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>.

Heiss, E., C. Herhaus, K. Klimo, H. Bartsch, et C. Gerhäuser. 2001. « Nuclear Factor Kappa B Is a Molecular Target for Sulforaphane-Mediated Anti-Inflammatory Mechanisms ». *The Journal of Biological Chemistry* 276 (34): 32008-15. <https://doi.org/10.1074/jbc.M104794200>.

Higashi, Yukihiro, Yasuki Kihara, et Kensuke Noma. 2012. « Endothelial Dysfunction and Hypertension in Aging ». *Hypertension Research: Official Journal of the Japanese Society of Hypertension* 35 (11): 1039-47. <https://doi.org/10.1038/hr.2012.138>.

Hoozemans, J. J. M., R. Veerhuis, E. S. Van Haastert, J. M. Rozemuller, F. Baas, P. Eikelenboom, et W. Scheper. 2005. « The Unfolded Protein Response Is Activated in Alzheimer's Disease ». *Acta Neuropathologica* 110 (2): 165-72. <https://doi.org/10.1007/s00401-005-1038-0>.

Houghton, Christine A. 2019. « Sulforaphane: Its “Coming of Age” as a Clinically Relevant Nutraceutical in the Prevention and Treatment of Chronic Disease ». *Oxidative*

Medicine and Cellular Longevity 2019 (octobre): e2716870.
<https://doi.org/10.1155/2019/2716870>.

Houghton, Christine A., Robert G. Fassett, et Jeff S. Coombes. 2016. « Sulforaphane and Other Nutrigenomic Nrf2 Activators: Can the Clinician's Expectation Be Matched by the Reality? » *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016 (janvier): e7857186.
<https://doi.org/10.1155/2016/7857186>.

Hu, Chenqi, Aimee L. Egglar, Andrew D. Mesecar, et Richard B. van Breemen. 2011. « Modification of Keap1 Cysteine Residues by Sulforaphane ». *Chemical Research in Toxicology* 24 (4): 515-21. <https://doi.org/10.1021/tx100389r>.

Hussain, Ashiq, Mo Zhang, Habibe K. Üçpunar, Thomas Svensson, Elsa Quillery, Nicolas Gompel, Rickard Ignell, et Ilona C. Grunwald Kadow. 2016. « Ionotropic Chemosensory Receptors Mediate the Taste and Smell of Polyamines ». Édité par Bassem A. Hassan. *PLOS Biology* 14 (5): e1002454. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002454>.

"I"

I, Herr, et Büchler Mw. 2010. « Dietary Constituents of Broccoli and Other Cruciferous Vegetables: Implications for Prevention and Therapy of Cancer ». *Cancer Treatment Reviews* 36(5). doi: 10.1016/j.ctrv.2010.01.002.

Ilahy, Riadh, Imen Tlili, Zoltán Pék, Anna Montefusco, Mohammed Wasim Siddiqui, Fozia Homa, Chafik Hdider, Thouraya R'Him, Helyes Lajos, et Marcello Salvatore Lenucci. 2020. « Pre- and Post-harvest Factors Affecting Glucosinolate Content in Broccoli ». *Frontiers in Nutrition* 7. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnut.2020.00147>.

Ishida, Masahiko, Masakazu Hara, Nobuko Fukino, Tomohiro Kakizaki, et Yasujiro Morimitsu. 2014. « Glucosinolate Metabolism, Functionality and Breeding for the Improvement of Brassicaceae Vegetables ». *Breeding Science* 64(1):48-59. doi: 10.1270/jsbbs.64.48.

"J"

Jiang, Tao, Zheping Huang, Yifeng Lin, Zhigang Zhang, Deyu Fang, et Donna D. Zhang. 2010. « The Protective Role of Nrf2 in Streptozotocin-Induced Diabetic Nephropathy ». *Diabetes* 59 (4): 850-60. <https://doi.org/10.2337/db09-1342>.

Juge, N., R. F. Mithen, et M. Traka. 2007. « Molecular Basis for Chemoprevention by Sulforaphane: A Comprehensive Review ». *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 64 (9): 1105-27. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-6484-5>.

"K"

Kamal, Ramla Muhammad, Ahmad Faizal Abdull Razis, Nurul Syafuhah Mohd Sukri, Enoch Kumar Perimal, Hafandi Ahmad, Rollin Patrick, Florence Djedaini-Pilard, Emanuela Mazzon, et Sébastien Rigaud. 2022. « Beneficial Health Effects of Glucosinolates-Derived Isothiocyanates on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases ». *Molecules* 27 (3): 624. <https://doi.org/10.3390/molecules27030624>.

Kang, Moon-Il, Akira Kobayashi, Nobunao Wakabayashi, Sang-Geon Kim, et Masayuki Yamamoto. 2004. « Scaffolding of Keap1 to the Actin Cytoskeleton Controls the Function of Nrf2 as Key Regulator of Cytoprotective Phase 2 Genes ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (7): 2046-51. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308347100>.

Kensler, Thomas W., Patricia A. Egner, Abena S. Agyeman, Kala Visvanathan, John D. Groopman, Jian-Guo Chen, Tao-Yang Chen, Jed W. Fahey, et Paul Talalay. 2013. « Keap1-Nrf2 Signaling: A Target for Cancer Prevention by Sulforaphane ». *Topics in Current Chemistry* 329: 163-77. https://doi.org/10.1007/128_2012_339.

Kim, Joo-Heon, Kyeong Min Kim, Jin Uk Jeong, Jong Ho Shin, Jae Min Shin, et Ki Tae Bang. 2019. « Nrf2-Heme Oxygenase-1 Modulates Autophagy and Inhibits Apoptosis Triggered by Elevated Glucose Levels in Renal Tubule Cells ». *Kidney Research and Clinical Practice* 38 (3): 318-25. <https://doi.org/10.23876/j.krcp.18.0152>.

Kivelä, Annukka M., Petri I. Mäkinen, Henna-Kaisa Jyrkkänen, Eero Mella-Aho, Yifeng Xia, Emilia Kansanen, Hanna Leinonen, Inder M. Verma, Seppo Ylä-Herttuala, et Anna-Liisa Levonen. 2010. « Sulforaphane Inhibits Endothelial Lipase Expression through NF- κ B in Endothelial Cells ». *Atherosclerosis* 213(1):122-28. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2010.07.015.

Kordower, Jeffrey H., Don M. Gash, Mark Bothwell, Louis Hersch, et Elliott J. Mufson. 1989. « Nerve Growth Factor Receptor and Choline Acetyltransferase Remain Colocalized in the Nucleus Basalis (Ch4) of Alzheimer's Patients ». *Neurobiology of Aging* 10 (1): 67-74. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(89\)80013-2](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(89)80013-2).

Kumar, Naresh, et Nidhi Goel. 2019. « Phenolic Acids: Natural Versatile Molecules with Promising Therapeutic Applications ». *Biotechnology Reports (Amsterdam, Netherlands)* 24 (décembre): e00370. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>.

"L"

Le, Thanh Ninh, Chiu-Hsia Chiu, et Pao-Chuan Hsieh. 2020. « Bioactive Compounds and Bioactivities of Brassica oleracea L. var. Italica Sprouts and Microgreens: An Updated Overview from a Nutraceutical Perspective ». *Plants* 9 (8): 946. <https://doi.org/10.3390/plants9080946>.

Le, Thanh Ninh, Hong Quang Luong, Hsin-Ping Li, Chiu-Hsia Chiu, et Pao-Chuan Hsieh. 2019. « Broccoli (Brassica Oleracea L. Var. Italica) Sprouts as the Potential Food Source

for Bioactive Properties: A Comprehensive Study on In Vitro Disease Models ». *Foods (Basel, Switzerland)* 8 (11): E532. <https://doi.org/10.3390/foods8110532>.

Le, Thanh Ninh, Napat Sakulsataporn, Chiu-Hsia Chiu, et Pao-Chuan Hsieh. 2020. « Polyphenolic Profile and Varied Bioactivities of Processed Taiwanese Grown Broccoli: A Comparative Study of Edible and Non-Edible Parts ». *Pharmaceuticals* 13 (5): 82. <https://doi.org/10.3390/ph13050082>.

Leong, L.P, et G Shui. 2002. « An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets ». *Food Chemistry* 76 (1): 69-75. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00251-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00251-5).

Li, Hang, Yu Xia, Hong-Yan Liu, Huan Guo, Xiao-Qin He, Yi Liu, Ding-Tao Wu, et al. 2022. « Nutritional values, beneficial effects, and food applications of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica* Plenck) ». *Trends in Food Science & Technology* 119 (janvier): 288-308. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.015>.

Li, Zhansheng, Yajie Mei, Yumei Liu, Zhiyuan Fang, Limei Yang, Mu Zhuang, Yangyong Zhang, et Honghao Lv. 2019. « The Evolution of Genetic Diversity of Broccoli Cultivars in China since 1980 ». *Scientia Horticulturae* 250 (mai): 69-80. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.02.034>.

Li, Zhansheng, Shuning Zheng, Yumei Liu, Zhiyuan Fang, Limei Yang, Mu Zhuang, Yangyong Zhang, Honghao Lv, Yong Wang, et Donghui Xu. 2021. « Characterization of Glucosinolates in 80 Broccoli Genotypes and Different Organs Using UHPLC-Triple-TOF-MS Method ». *Food Chemistry* 334:127519. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127519.

Liebman, Scott E., et Thu H. Le. 2021. « Eat Your Broccoli: Oxidative Stress, NRF2, and Sulforaphane in Chronic Kidney Disease ». *Nutrients* 13 (1): 266. <https://doi.org/10.3390/nu13010266>.

Lin, Wen, Rachel T. Wu, Tienyuan Wu, Tin-Oo Khor, Hu Wang, et Ah-Ng Kong. 2008. « Sulforaphane Suppressed LPS-Induced Inflammation in Mouse Peritoneal Macrophages through Nrf2 Dependent Pathway ». *Biochemical Pharmacology* 76 (8): 967-73. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.07.036>.

Liu, Mengpei, Lihua Zhang, Suk Lan Ser, Jonathan R. Cumming, et Kang-Mo Ku. 2018. « Comparative Phytonutrient Analysis of Broccoli By-Products: The Potentials for Broccoli By-Product Utilization ». *Molecules* 23 (4): 900. <https://doi.org/10.3390/molecules23040900>.

Liu, Min, Xu-Dong Yao, Wei Li, Jiang Geng, Yang Yan, Jian-Ping Che, Yun-Fei Xu, et Jun-Hua Zheng. 2015. « Nrf2 Sensitizes Prostate Cancer Cells to Radiation via Decreasing Basal ROS Levels ». *BioFactors (Oxford, England)* 41 (1): 52-57. <https://doi.org/10.1002/biof.1200>.

López Salon, M., L. Morelli, E. M. Castaño, E. F. Soto, et J. M. Pasquini. 2000. « Defective Ubiquitination of Cerebral Proteins in Alzheimer's Disease ». *Journal of Neuroscience Research* 62 (2): 302-10. [https://doi.org/10.1002/1097-4547\(20001015\)62:2<302::AID-JNR15>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/1097-4547(20001015)62:2<302::AID-JNR15>3.0.CO;2-L).

López-Chillón, María Teresa, Carmen Carazo-Díaz, David Prieto-Merino, Pilar Zafrilla, Diego A. Moreno, et Débora Villaño. 2019. « Effects of Long-Term Consumption of Broccoli Sprouts on Inflammatory Markers in Overweight Subjects ». *Clinical Nutrition* 38 (2): 745-52. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.03.006>.

"M"

Magesh, Sadagopan, Yu Chen, et Longqin Hu. 2012. « Small Molecule Modulators of Keap1-Nrf2-ARE Pathway as Potential Preventive and Therapeutic Agents ». *Medicinal Research Reviews* 32 (4): 687-726. <https://doi.org/10.1002/med.21257>.

Mahn, Andrea, et Antonio Castillo. 2021. « Potential of Sulforaphane as a Natural Immune System Enhancer: A Review ». *Molecules* 26 (3): 752. <https://doi.org/10.3390/molecules26030752>.

Manela-Azulay, Mônica, et Ediléia Bagatin. 2009. « Cosmeceuticals Vitamins ». *Clinics in Dermatology* 27 (5): 469-74. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2009.05.010>.

Medzhitov, Ruslan. 2008. « Origin and Physiological Roles of Inflammation ». *Nature* 454 (7203): 428-35. <https://doi.org/10.1038/nature07201>.

Martins, Tânia, Bruno Colaço, Carlos Venâncio, Maria J. Pires, Paula A. Oliveira, Eduardo Rosa, et Luís M. Antunes. 2018. « Potential Effects of Sulforaphane to Fight Obesity ». *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98(8):2837-44. doi: 10.1002/jsfa.8898.

Martins, Tânia, Paula Alexandra Oliveira, Maria João Pires, Maria João Neuparth, Germano Lanzarin, Luís Félix, Carlos Venâncio, Maria de Lurdes Pinto, João Ferreira, Isabel Gaivão, Ana Isabel Barros, Eduardo Rosa, et Luís Miguel Antunes. 2022. « Effect of a Sub-Chronic Oral Exposure of Broccoli (Brassica Oleracea L. Var. Italica) By-Products Flour on the Physiological Parameters of FVB/N Mice: A Pilot Study ». *Foods* 11(1):120. doi: 10.3390/foods11010120.

Medzhitov, Ruslan. 2008. « Origin and Physiological Roles of Inflammation ». *Nature* 454(7203):428-35. doi: 10.1038/nature07201.

Mégraud, F., et H. Lamouliatte. 1992. « Helicobacter Pylori and Duodenal Ulcer. Evidence Suggesting Causation ». *Digestive Diseases and Sciences* 37 (5): 769-72. <https://doi.org/10.1007/BF01296437>.

Mignon, Michel. 2005. « [The Nobel Prize in Medicine, 2005. Barry J. Marshall and J. Robin Warren. Helicobacter pylori honored] ». *Medecine Sciences: M/S* 21 (11): 993-94. <https://doi.org/10.1051/medsci/20052111993>.

Montaut, S., P. Rollin, G. R. De Nicola, R. Iori, et A. Tatibouët. 2012. « Composés bioactifs des Crucifères : un apport bénéfique dans notre quotidien ». *Phytothérapie* 10 (6): 342-49. <https://doi.org/10.1007/s10298-012-0740-z>.

Moon, Dong-Oh, Mun-Ock Kim, Sang-Hyuck Kang, Yung Hyun Choi, et Gi-Young Kim. 2009. « Sulforaphane Suppresses TNF-Alpha-Mediated Activation of NF-KappaB and Induces Apoptosis through Activation of Reactive Oxygen Species-Dependent Caspase-3 ». *Cancer Letters* 274 (1): 132-42. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.09.013>.

Moreno, Francisco A., Christopher B. Wiegand, E. Keolani Taitano, et Pedro L. Delgado. 2006. « Safety, Tolerability, and Efficacy of Psilocybin in 9 Patients with Obsessive-Compulsive Disorder ». *The Journal of Clinical Psychiatry* 67 (11): 1735-40. <https://doi.org/10.4088/jcp.v67n1110>.

Mukherjee, Voomika, et Prashant Kumar Mishra. 2012. « BROCCOLI-AN UNDEREXPLOITED NEUTRACEUTICAL », octobre.

"N"

Nagata, Naoto, Liang Xu, Susumu Kohno, Yusuke Ushida, Yudai Aoki, Ryohei Umeda, Nobuo Fuke, et al. 2017. « Glucoraphanin Ameliorates Obesity and Insulin Resistance Through Adipose Tissue Browning and Reduction of Metabolic Endotoxemia in Mice ». *Diabetes* 66 (5): 1222-36. <https://doi.org/10.2337/db16-0662>.

Narendhirakannan, R. T., et M. Angeline Christie Hannah. 2013. « Oxidative Stress and Skin Cancer: An Overview ». *Indian Journal of Clinical Biochemistry: IJCB* 28(2):110-15. doi: 10.1007/s12291-012-0278-8.

Nezu, Masahiro, et Norio Suzuki. 2020. « Roles of Nrf2 in Protecting the Kidney from Oxidative Damage ». *International Journal of Molecular Sciences* 21 (8): 2951. <https://doi.org/10.3390/ijms21082951>.

"O"

Olagnier, David, Ensieh Farahani, Jacob Thyrted, Julia Blay-Cadanet, Angela Herengt, Manja Idorn, Alon Hait, et al. 2020. « SARS-CoV2-Mediated Suppression of NRF2-Signaling Reveals Potent Antiviral and Anti-Inflammatory Activity of 4-Octyl-Itaconate and Dimethyl Fumarate ». *Nature Communications* 11 (1): 4938. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18764-3>.

"P"

Pascarella, Giuseppe, Alessandro Strumia, Chiara Piliego, Federica Bruno, Romualdo Del Buono, Fabio Costa, Simone Scarlata, et Felice Eugenio Agrò. 2020. « COVID-19 Diagnosis and Management: A Comprehensive Review ». *Journal of Internal Medicine* 288 (2): 192-206. <https://doi.org/10.1111/joim.13091>.

Pelaia, Corrado, Caterina Tinello, Alessandro Vatrella, Giovambattista De Sarro, et Girolamo Pelaia. 2020. « Poumon Attaqué Par La Tempête de Cytokines Induite Par LeCOVID-19 : Mécanismes Pathogéniques et Implications Thérapeutiques ». *Therapeutic Advances in Respiratory Disease* 14 (janvier): 1753466620933508.
<https://doi.org/10.1177/1753466620933508>.

Pérez-Balibrea, Santiago, Diego A Moreno, et Cristina García-Viguera. 2008. « Influence of Light on Health-Promoting Phytochemicals of Broccoli Sprouts ». *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88 (5): 904-10.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.3169>.

Petkowicz, C. L. O., et P. A. Williams. 2020. « Pectins from Food Waste: Characterization and Functional Properties of a Pectin Extracted from Broccoli Stalk ». *Food Hydrocolloids* 107 (octobre): 105930.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105930>.

Polshettiwar, S. A., R. O. Ganjiwale, S. J. Wadher, et P. G. Yeole. 2007. « Spectrophotometric estimation of total tannins in some ayurvedic eye drops ». *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 69 (4): 574.
<https://doi.org/10.4103/0250-474X.36949>.

Punthakee, Zubin, Ronald Goldenberg, et Pamela Katz. 2018. « Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome ». *Canadian Journal of Diabetes* 42 (avril): S10-15.
<https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2017.10.003>.

Pyrzynska, Krystyna, et Anna Pękal. 2013. « Application of Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to Estimate the Antioxidant Capacity of Food Samples ». *Analytical Methods* 5 (17): 4288-95.
<https://doi.org/10.1039/C3AY40367J>.

"Q"

Qin, Sisi, Canhong Yang, Weihua Huang, Shuhua Du, Hantao Mai, Jijie Xiao, et Tianming Lü. 2018. « Sulforaphane Attenuates Microglia-Mediated Neuronal Necroptosis through down-Regulation of MAPK/NF- κ B Signaling Pathways in LPS-Activated BV-2 Microglia ». *Pharmacological Research* 133 (juillet): 218-35. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.01.014>.

Qin, Zhiqiang, Jingyuan Tang, Peng Han, Xuping Jiang, Chengdi Yang, Ran Li, Min Tang, et al. 2017. « Protective Effects of Sulforaphane on Di-

Conclusion Générale et perspectives

Butylphthalate-Induced Testicular Oxidative Stress Injury in Male Mice Offsprings via Activating Nrf2/ARE Pathway ».

Oncotarget 8 (47): 82956-67. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.19981>.

"R"

Rahman, Md, Muhammad Jasim Uddin, Jong Park, Joon-seok Chae, Md Rahman, et Md. Akramul Islam. 2006. « Rahman, M. S., Uddin, J. M., Park, J. H., Chae, J. S., Rahman, M.

Conclusion Générale et perspectives

Année universitaire : 2022-2023

Présenté par : ZEHEIR Inès Maroua

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et génomique végétale

Intitulé

**Lancement d'une startup de création des principes actifs à base de plantes médicinales :
Fabrication d'un phyto-médicament méta-stop**

Résumé

Les médicaments de chimiothérapie sont utilisés depuis longtemps dans le traitement du cancer, mais les effets secondaires graves sont causés par l'incapacité du médicament à être administré uniquement à la tumeur lors du traitement du cancer par chimiothérapie. Les produits naturels ont attiré de plus en plus d'attention en raison de l'effet anti-tumoral de multiples façons, des ressources abondantes et moins d'effets secondaires. Par conséquent, la combinaison d'ingrédients actifs naturels et de médicaments de chimiothérapie peut être une stratégie anti-tumorale efficace, qui peut inhiber la croissance de la résistance tumorale et, réduire les effets secondaires des médicaments de chimiothérapie. Les travaux effectués dans le cadre de cette étude consistent à montrer et déterminer l'intérêt des principes actifs naturel existent dans les espèces *Moringa oleifera* et *brocoli* ainsi que l'effet thérapeutique de ces dernières sur le cancer. L'application de la norme 22000 permet de démontrer une aptitude à identifier et à maîtriser les dangers liés à la sécurité des compléments alimentaires, cette norme est liée à l'approche HACCP qui a pour objectif la prévention, l'élimination ou la réduction à un niveau acceptable de tout danger « biologique, chimique, et physique ». Au cours de notre étude, plusieurs techniques d'analyses ont été réalisées : l'identification et le dosage des principes actifs, l'évaluation des activités biologiques, analyses physico-chimiques, et analyses microbiologiques. Les résultats obtenus de ces analyses confirment la présence des principe actifs dans le *Moringa oleifera* et *brocoli* par une valeur très intéressante, plus précisément les molécules bioactives (**kaméphnol et quecetine, les glucosintes isothyntes**) ; et l'évaluation des activités biologiques (activité antioxydant de , anti-inflammatoire , anti-cancéreuse et antibactérienne) avec toutes les souches étudiées à l'exception *l'Enterococcus faecalis* ATCC 29212 , *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 , et *Serratia marcescens*, qui sont résistantes) dans le but de stabiliser la formule. L'étape de fabrication est procédée en appliquant le contrôle exigé par la norme ISO 22000 Pour assurer la qualité du produit final .A la fin de ce processus on peut dire que notre produit est biostable, sain et sûr

Mots-clés : Brocoli, HACCP, ISO 22000, *Moringa oleifera* phyto médicament principe actifs

Laboratoires de recherche : Génétique, Biochimie et Biotechnologies végétales

Président : DJEKOUN Abdelhamid (Prof. Université Frères Mentouri, Constantine 1)
Encadrant : HAMMOUDA Dounia (Prof. Université Frères Mentouri, Constantine 1)
Examineur: MOURI Fouzia (MCB Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Conclusion Générale et perspectives
