

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

## Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière Sciences Biologiques

Option :

Biologie Moléculaire et cellulaire

Thème

*Évaluation de quelques activités biologiques du Brocoli*

*(Brassica oleracea var. Italica)*

Présenté par :

Date de soutenance : 14-07-2022

\* Chalal Tounes

\* Cherguelaine Maroua

Devant le jury :

	Grade / Lieu	Qualité
Mme Belkhiter S.	MAB / USDB1	Présidente
Mme Mokrane A.	MCA / USDB1	Examinatrice
Mme Arkam F.	MCB / CAC	Promotrice
Mme Messaoud-Nacer I.	Doctorante / USDB1	Co-promotrice
Mme Nadji S.	Gérante /ORpin Center	Invité

Promotion : 2021-2022

# *Remerciement*

C'est avec un réel plaisir qu'on réserve ces lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail

Avant tout, nous remercions « **ALLAH** », le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, et la persistance, et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce projet.

Nous remercions du fond de nos cœurs notre promotrice **Mme Arkam F**, MCB à l'université Blida-1, merci pour votre encadrement, merci pour votre compréhension, votre grande gentillesse, votre encouragement, et pour la confiance que vous nous avez témoignée tout au long de cette étude.

Nous offrons nos plus sincères remerciements à notre co-promotrice **Mme Messaoud-Nacer I**, pour sa disponibilité, ses pertinents conseils, son aide, et ses orientations durant la réalisation de ce travail.

Nous tenons particulièrement à remercier les membres du jury d'avoir accepté de juger et examiner notre travail, notamment :

**Mme Belkhiter S**, MAB à l'université Blida-1 de nous faire l'honneur de présider ce jury.

**Mme Mokrane A**, MCA à l'université Blida-1 pour avoir accepté d'examiner et juger notre travail.

Notre profond respect et remerciement s'adresse à notre chef d'option **Mme Saadi L**.

On remercie **Mme Nadji S**, et tous les membres d'Orpin Center pour leur accueil et aide précieuse.

Un très grand merci à **Mr Boutoumi**, responsable de laboratoire génie chimie département de génie des procédés à l'université Blida-1, pour sa rigueur scientifique, et son soutien lors de notre stage au laboratoire.

Un grand Merci à nos enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie, en particulier département de biologie et physiologie cellulaire de l'université Blida-1 pour la formation que nous avez donnée pour les cinq années de notre parcours.

En fin, nous n'oublions pas nos camarades de promotion 2022.



## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à DIEU le tout puissant.*

*Qui m'a tracé le chemin de ma vie,*

*J'ai pu réaliser ce travail.*

*Je dédie ce travail et ma profonde gratitude aux personnes les plus chères au monde mes parents que j'admire beaucoup.*

### *A Mon très cher Père*

*L'homme de ma vie, mon exemple éternel, pour son soutien, son encouragement, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours pour vous. Celui qui a toujours répandu présent dans les moments les plus difficiles. Que Dieu te protège et te garde en bonne santé.*

### *A ma chère mère*

*A la lumière de ma vie, tu représentes pour moi la source de tendresse, de l'amour, et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que sa fille suive le bon chemin dans sa vie et ses études. Que DIEU te protège et t'accorde une longue et heureuse vie pleine de*

*santé et de bonheur car ce travail représente le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour me voir réussir.*

*A ma petite **Inny** le véritable amour qui est resté éveillé avec moi des nuits pour compléter ce travail.*

*A toute ma famille et spécialement mes cousines, **Hafida, Chourouk, Bouchra, Sousou, Yasmine**, pour leurs amours.*

*A mon binôme **Maroua** pour ses efforts et son soutien durant le travail, je souhaite le bon courage pour le rest de son cursus.*

*A mes chères **Maroua**, et **Roro** pour les moments que nous avons vécu ensemble et qui ont cru en moi et qui ont toujours encouragé.*

*A mes camarades **Lydia, Kenza, Yasmine, Ahlem, Nesrine** avec qui j'ai passé des années inoubliables.*

*Je remercie toutes les personnes dont je n'ai pas pu citer leurs noms, et qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.*

*A tous ceux qui m'aiment.*

***Farah***



## *Dédicace*

*À l'aide de dieu "Allah" tout puissant Qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail.*

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance.*

*C'est tout simplement que : Je dédie ce travail.*

*À ma très belle chère mère **Zakia**,*

*Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple de Dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.*

*Puisse Dieu le tout puissant te préserver, t'accorder la santé, longue vie et beaucoup de bonheur. Je t'aime Maman.*

*À mon très cher père **Mouhamed**,*

*Toute l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être très cher. Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Vous êtes et*

*vous resterez pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin. Ce travail est le résultat de l'esprit, de sacrifice dont vous avez fait preuve, de l'encouragement et le soutien que vous ne cessez de manifester, j'espère que vous y trouverez les fruits de votre semence et le témoignage de ma grande fierté de vous avoir comme père.*

*J'implore Dieu, tout puissant, de vous accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur. Je t'aime Papa.*

*À mes chers frères*

*Oussama et Chouaïb pour leurs tendresses et leurs permanentes présences à mes côtés. Je vous aime.*

*À mon petit prince Mouhamed que je l'aime beaucoup. Que dieu te protège.*

*À mes très chères amies Ahlem, Yasmine*

*En souvenir des moments heureux passés ensemble, avec mes vœux sincères de réussite, bonheur, santé et de prospérité.*

*À tous les membres de ma famille, petits et grands ainsi qu'à Tous mes proches.*

*À mon binôme Farah,*

*Je vous remercie pour votre soutien moral, ta patience et votre dévouement à ce travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts.*

*Je remercie toutes les personnes que je n'ai pas pu citer leurs noms ici, et qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.*

*A tous ceux qui m'aiment.*

## RESUME

Le Brocoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) est un légume crucifère très recommandé pour la consommation en raison de son excellent potentiel nutritionnel et sanitaire.

La présente étude vise la valorisation des graines de brocoli. L'analyse phytochimique de l'extrait méthanolique révèle la présence d'une large gamme d'alcaloïdes et de composés phénoliques. L'analyse quantitative des phénols totaux, des tanins et des flavonoïdes illustrent de fortes teneurs en ses substances bioactives. L'extrait des graines a fait l'objet de l'évaluation de l'activité antioxydante (proche à celle de la vitamine C), de l'activité anti-inflammatoire (plus importante que celle de l'aspirine), et de l'activité antibactérienne qui montre la sensibilité de plusieurs souches microbiennes.

Nos résultats suggèrent qu'en raison de la présence de plusieurs composés nutraceutiques bioactifs, les graines de brocoli montrent un large éventail d'activités biologiques à intérêt thérapeutiques ou prophylactiques. Les graines peuvent être utilisées pour l'extraction et la purification de molécules bioactives destinées d'une part à l'industrie alimentaire ; et d'autre part, pour la fabrication de dérivés semi-synthétiques comme substitut aux antioxydants et anti-inflammatoire synthétiques.

**Mots clés :** Brocoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), composés bioactifs, Glucosinolates, activité anti-inflammatoire, activité antibactérienne, activité antioxydante.

## **Abstract**

Broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) is a highly recommended cruciferous vegetable for consumption due to its excellent nutritional and health potential.

The present study aims at the valorization of broccoli seeds. Phytochemical analysis of the methanolic extract reveals the presence of a wide range of alkaloids and phenolic compounds.

The quantitative analysis of total phenols, tannins and flavonoids illustrate high levels of its bioactive substances.

The seed extract has been evaluated for antioxidant activity (close to that of vitamin C), anti-inflammatory activity (greater than that of aspirin), and antibacterial activity which shows the sensitivity of several microbial strains. Our results suggest that due to the presence of several bioactive nutraceutical compounds, broccoli seeds show a wide range of biological activities of therapeutic or prophylactic interest.

The seeds can be used for the extraction and purification of bioactive molecules intended on the one hand for the food industry; and on the other hand, for the manufacture of semi-synthetic derivatives as a substitute for synthetic antioxidants and anti-inflammatories.

**Key words:** Broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), bioactive compounds, Glucosinolates, anti-inflammatory activity, antibacterial activity, antioxidant activity.

## ملخص

البروكلي (*Brassica oleracea var. italica*) هو نبات صليبي ينصح به كثيرا للاستهلاك الغذائي نظرًا لإمكاناته الغذائية والصحية الممتازة.

تهدف الدراسة الحالية إلى تبيين بذور البروكلي. تكشف التحاليل الكيميائية النباتية للمستخلص الميثانولي عن وجود مجموعة واسعة من القلويات والمركبات الفينولية كما يوضح التحليل الكمي لمجموع الفينولات والعفص والفلافونويدات مستويات عالية من المواد النشطة بيولوجيًا.

تم تقييم مستخلص البذور من حيث النشاط المضاد للأكسدة (قريب من فيتامين ج)، والنشاط المضاد للالتهابات (أكبر من الأسبرين)، والنشاط المضاد للبكتيريا الذي يظهر حساسية العديد من السلالات الميكروبية. تشير نتائجنا إلى أنه نظرًا لوجود العديد من المركبات الغذائية النشطة بيولوجيًا، فإن بذور البروكلي تظهر مجموعة واسعة من الأنشطة البيولوجية ذات الأهمية العلاجية والوقائية.

كما يمكن استخدام البذور لاستخراج وتنقية الجزيئات النشطة بيولوجيًا المعدة لصناعة المواد الغذائية، وإيضًا لتصنيع المشتقات شبه الاصطناعية كبديل لمضادات الأكسدة الاصطناعية ومضادات الالتهاب.

**الكلمات المفتاحية:** البروكلي (*Brassica oleracea var. italica*) ، المركبات النشطة بيولوجيًا، الجلوكوزينات، النشاط المضاد للالتهابات، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأكسدة

## Sommaire

<b>Introduction</b> .....	01
<b>Chapitre I : Rappels bibliographiques</b> .....	04
<b>I.1. Généralité sur le brocoli</b> .....	04
<b>I.1.1. Description botanique</b> .....	04
<b>I.1.2. Classification</b> .....	05
<b>I.1.3. Origine du Brocoli et répartition géographique</b> .....	06
<b>I.2. Aspect nutritif du brocoli</b> .....	07
<b>I.2.1. Glucides</b> .....	07
<b>I.2.2. Protéines</b> .....	08
<b>I.2.3. Lipides</b> .....	08
<b>I.2.4. Minéraux</b> .....	08
<b>I.2.5. Vitamines</b> .....	08
<b>I.3. Composés phytochimiques bioactifs du brocoli</b> .....	08
<b>I.3.1. Glucosinolates</b> .....	09
<b>I.3.2. Isothiocyanates</b> .....	11
<b>I.3.3. Sulforaphane</b> .....	11
<b>I.3.4. Composés phénoliques</b> .....	13
<b>I.4. Les activités biologiques du brocoli</b> .....	13
<b>I.4.1. Activités antimicrobiennes</b> .....	14
<b>I.4.2. Activité anti-inflammatoire</b> .....	17
<b>I.4.3. Activité antioxydant</b> .....	19
<b>I.5. Brocoli et troubles métaboliques et pathologies</b> .....	21

<b>I.5.1. Maladies cardiovasculaires</b> .....	21
<b>I.5.2. Maladies rénales</b> .....	26
<b>I.5.3. Maladies neuronales</b> .....	27
<b>I.5.4. Cancer</b> .....	29
<b>Chapitre II : MATERIELS ET METHODES</b> .....	33
<b>II.1. MATERIELS</b> .....	33
<b>I.1.1. Matériel biologique</b> .....	33
<b>I.1.2. Matériel non biologique</b> .....	34
<b>II.2. METHODES</b> .....	34
<b>II.2.1 Préparation du solvant d'extraction</b> .....	34
<b>II.3. Criblage phytochimiques</b> .....	36
<b>II.3.1. Recherche des alcaloïdes</b> .....	36
<b>II.3.2. Recherche de composés phénoliques</b> .....	37
<b>II.4. Dosage des composés phénoliques</b> .....	39
<b>II.4.1. Dosage des polyphénols totaux</b> .....	39
<b>II.4.2. Dosage des tanins totaux</b> .....	40
<b>II.4.3. Dosage des flavonoïdes</b> .....	40
<b>II.5. EVALUATION DE QUELQUES ACTIVITES BIOLOGIQUES</b> .....	41
<b>II.5.1. Evaluation de l'activité antioxydante</b> .....	41
<b>II.5.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire</b> .....	42
<b>II.5.3. Activité antibactérienne</b> .....	43
<b>Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION</b> .....	46
<b>III.1. RESULTATS</b> .....	46
<b>III.1.1. Criblage phytochimique</b> .....	46
<b>III.1.2. Quantification de certains composés identifiés dans l'extrait des graines</b> ...48	
<b>III.1.3. Evaluation de quelques activités biologiques</b> .....	52
<b>III.1.3.1. Détermination de l'activité antioxydante du brocoli</b> .....	52
<b>III.1.3.2. Détermination de l'activité anti-inflammatoire du Brocoli</b> .....	54

<b>III.1.3.3. Détermination de l'activité antibactérienne du Brocoli.....</b>	<b>56</b>
---	-----------

<b>III.2. DISCUSSION .....</b>	<b>58</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>66</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>69</b>
<b>ANNEXES</b>	

## Liste des abréviations

- 8-OHdG** : 8-hydroxy-2-désoxyguanosine.
- 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** : Proteine kinase B.
- AMPK** : Adénilate mono phosphate kinase.
- ARE** : Eléments de repenses antioxydants.
- AT** : Acide tannique.
- A $\beta$** : 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.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> :** Carbonate de sodium.

**NAD :** Nicotinamide adénine dinucléotide.

**NADP :** Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

**NFκB :** Facteur nucléaire- kappa B.

**NH<sub>4</sub>OH:** Ammoniaque.

**NLR:** Nod-like receptor.

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

**NaNO<sub>2</sub> :** 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 :** Protein 38

**P75RNT :** Neurotrophine p75.

**PGE<sub>2</sub> :** Prostaglandine E<sub>2</sub>.

**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- $\alpha$  :** Facteur nécrose tumorale-alpha.

**TR :** Thiorédoxine réductase.

**Trx :** Thiorédoxine.

**TSA :** Troubles du spectre autistique.

**VIH :** Virus de l'immunodéficience humaine.

## Liste des figures

**Figure 1** : Anatomie du brocoli (*Brassica oleracea* L., var. *Italica*).

**Figure 2** : *Brassica oleracea* var. *italica* (A) : Grains de brocoli ; (B) : Pousses de brocoli de cinq jours.

**Figure 3** : Carte géographique de la répartition mondiale du brocoli.

**Figure 4** : Résumé des composés bioactifs analysés au cours des dix dernières années sur les pousses de brocoli.

**Figure 5** : Structure générale des Glucosinolates.

**Figure 6** : les Trois grandes classes des Glucosinolates.

**Figure 7** : Hydrolyse des Glucosinolates.

**Figure 8** : Formation du *R*-sulforaphane à partir de la glucoraphanine.

**Figure 9** : Voie métabolique du sulforaphane.

**Figure 10** : Structure générale de l'acide phénolique (A : acide hydroxybenzoïc ; B : acide hydroxycinnamique).

**Figure 11** : Les bienfaits du brocoli pour la santé.

**Figure 12** : Le mécanisme proposé par lequel le SFN inhibe l'uréase synthétiser par *H. Pylori* et réduit les risques des maladies associés à cette infection.

**Figure 13** : L'inactivation d'uréase par le sulforaphane.

**Figure 14** : l'effet du sulforaphane sur l'expression de l'IL-6 et de l'IL-8 dans les cellules IB3-1 induite par la protéine SARS-CoV-2 Spike.

**Figure 15** : Effets du sulforaphane sur la voie NFκB.

**Figure 16** : mécanisme d'induction d'enzyme détoxifiants et antioxydantes médiés par l'ARE et par le sulforaphane.

**Figure 17** : effet anti-obésité de sulforaphane.

**Figure 18** : Propriétés potentielles du sulforaphane et des pousses de brocoli, qui en font un excellent traitement complémentaire du diabète de type 2.

**Figure 19** : Le sulforaphane cible la voie Nrf2 pour prévenir la progression de la maladie rénale.

**Figure 20** : l'effet du SF sur l'amélioration des troubles cognitifs induits par la STZ (Streptozotocine).

**Figure 21** : Effets anticancérogènes du sulforaphane.

**Figure 22** : L'appareil de Soxhlet.

**Figure 23** : Evaporateur rotatif.

**Figure 24** : Forme libre et réduite du DPPH.

**Figure 25** : : la méthode de diffusion sur disques « teste de sensibilité »

**Figure 26** : l'extrait méthanolique des graines de brocoli

**Figure 27** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques totaux.

**Figure 28** : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour le dosage des tanins totaux.

**Figure 29** : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

**Figure 30** : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique.

**Figure 31** : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique du brocoli.

**Figure 32** : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines en fonction de la concentration de l'aspirine.

**Figure 33** : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines en fonction de la concentration du brocoli.

**Figure 34** : Sensibilité et CMI (mg/mL) des souches bactériennes testées aux extrait méthanolique du brocoli.

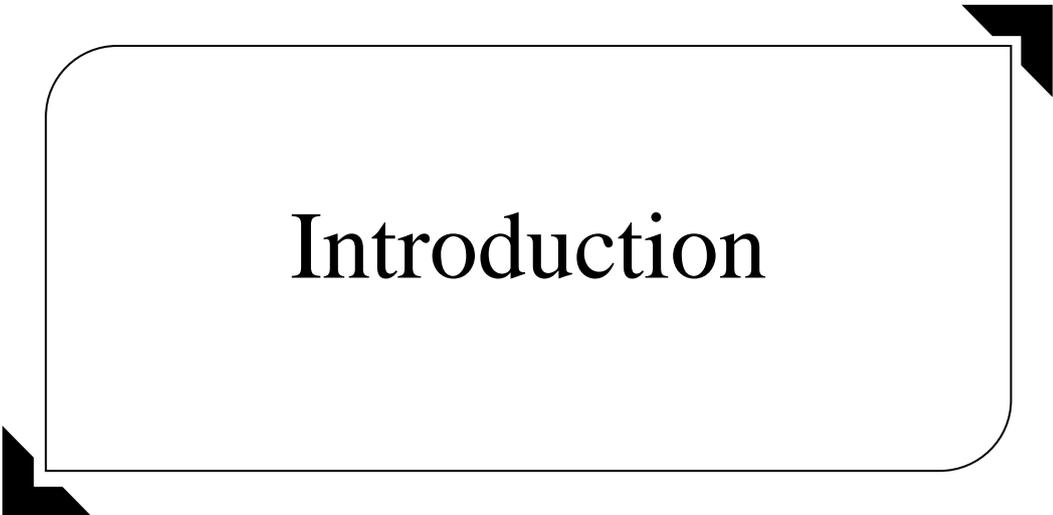
## Liste des tableaux

**Tableau I** : Criblage phytochimique de l'extrait des graines de brocoli.

**Tableau II** : Teneurs des extraits méthanolique de 1 gramme de graines de brocoli en polyphénols : les composés phénoliques totaux, tanins et flavonoïdes.

**Tableau III** : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50% (IC50).

**Tableau IV** : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50% (IC50).



# Introduction

# INTRODUCTION

La sensibilisation du public pour un mode de vie sain a incité la recherche de nouvelles sources alimentaires qui appartiennent à la famille des Brassicaceae, riches en nutriments essentiels et ayant des effets positifs sur la santé humaine (**Butkutė, Taujenis, et Norkevičienė 2018**).

Le brocoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) est un membre de la famille des Brassicaceae, et l'un des aliments les plus importants, cultivé dans le monde entier (**Martins et al., 2022**). Le brocoli est une excellente source de composés phytochimiques bénéfiques pour la santé, il est principalement connu pour sa large gamme de composés bioactifs, et est riche en antioxydants nutritionnels et non nutritionnels, notamment la vitamine C, la vitamine E, le calcium et les composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, les caroténoïdes et les glucosinolates (**Bhandari et Kwak 2014**). Sa valeur nutritionnelle et la présence de ces composés bioactifs contribuant à la grande popularité de ce légume (**Martins et al., 2018**).

Le brocoli est une excellente source de composés nutraceutiques ayant de nombreux effets sur la santé tels que les propriétés anticancéreuses, anti-diabétiques, antioxydantes et antimicrobiennes. Les glucosinolates, les polyphénols, les vitamines, les minéraux et les fibres alimentaires sont les principales molécules présentes dans le brocoli (**Thomas 2018**). Parmi les glucosinolates présents dans le brocoli, une attention croissante particulière doit être portée à la glucoraphanine, qui est transformée par la myrosinase en sulforaphane (SFN) (le principal isothiocyanate issu de l'hydrolyse des glucosinolates du brocoli). Le brocoli contient une variété de composés dont le plus important est le SFN. Ce composé biologiquement actif est reconnu comme l'un des substances naturelles les plus importantes dans le brocoli pour son potentiel anticancéreux, antioxydant (**Vallejo et al., 2002 ; Borowski et al., 2007; Li et al., 2021; Gu et al., 2022**).

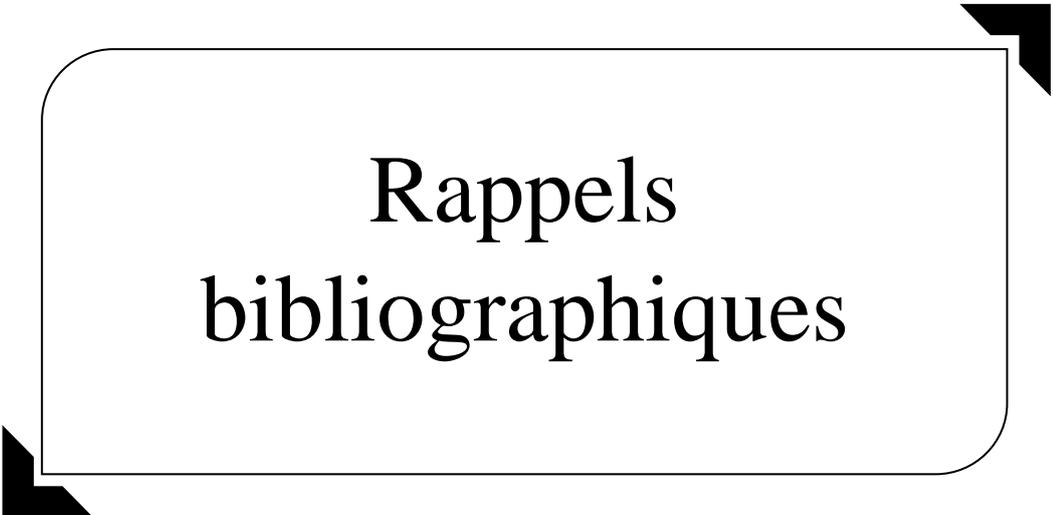
Les sous-produits du brocoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) comme la graine, sont très riches en ingrédients bioactifs bénéfiques pour la santé ; principalement la glucoraphanine, connue pour son activité anticancéreuse (**Thomas 2018**).

Des nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont indiqué les multiples capacités biologiques des graines de brocoli, comprenant des activités antioxydantes, antimicrobiennes, et anti-inflammatoires (**Le et al., 2019 ; Subedi et al., 2019**). De plus, les métabolites

secondaires du Brocoli sont positivement associés à des avantages potentiels pour la santé. Ces métabolites permettent de réduire le risque de développer plusieurs maladies, telles que les maladies cardiovasculaires, l'obésité, le diabète sucré et les cancers (**Gan et al., 2017; Li et al., 2021; Gu et al., 2022**).

La présente étude rentre dans le cadre de la valorisation de l'espèce végétale *Brassica oleracea* var. italica. L'objectif principale est de sensibiliser les consommateurs sur les multiples bienfaits de ce légume riche en nutriments et en molécules bioactives pour préserver la santé et freiner le développement de plusieurs maladies métaboliques et pathologies chroniques.

Vu le manque des résultats rapportant l'importance des bienfaits de l'extrait des graines de brocoli récoltées en Algérie, nous avons choisis la graine comme matière végétale de brocoli en vue de la détermination de quelques activités biologiques de l'extrait méthanolique. Notre travail vise le criblage phytochimique de l'extrait méthanolique des graines de *B. oleracea* et l'évaluation, in vitro, de ses activités anti-inflammatoire, antioxydante et antibactérienne.



Rappels  
bibliographiques

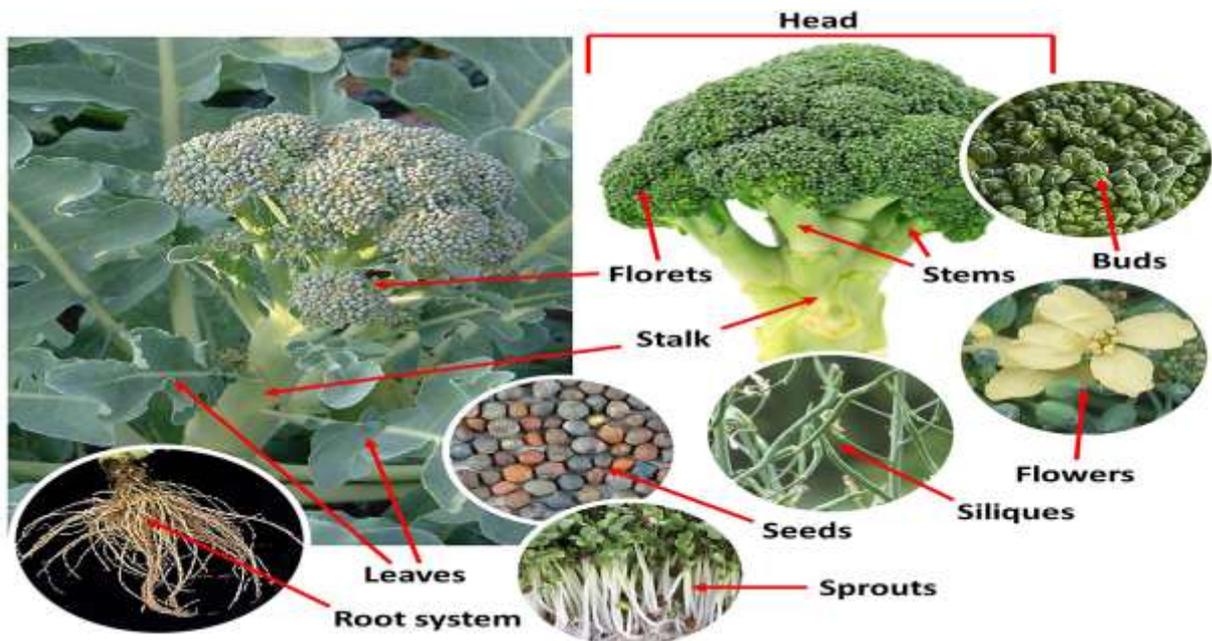
**I- RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES**

**I. 1. GENERALITES SUR LE BROCOLI**

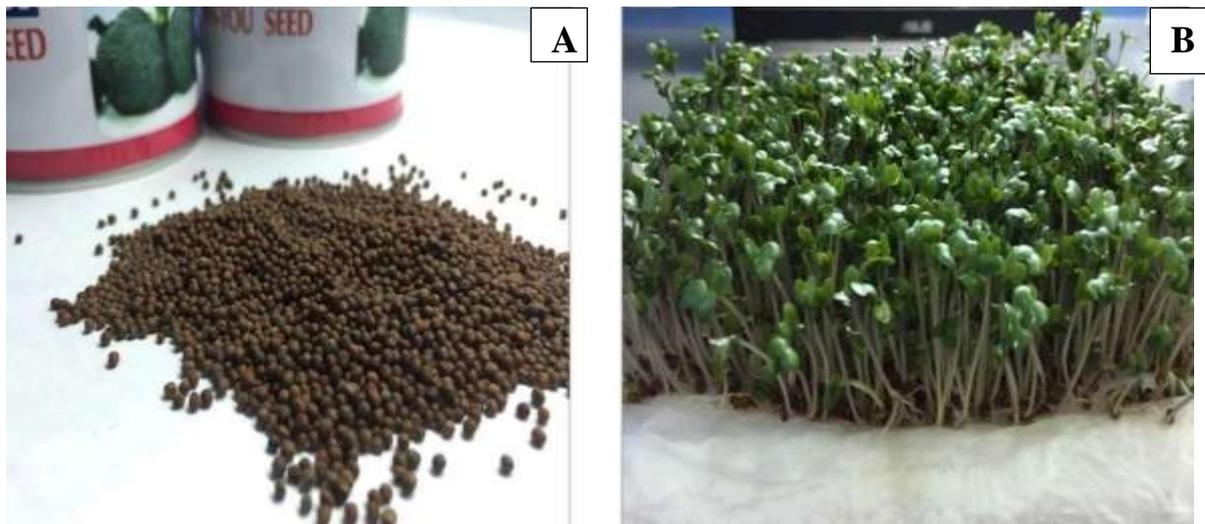
**I.1.1. Description botanique**

Le nom "brocoli" est une dérivation de l'italien "brocoli", qui désigne la sommité fleurie d'un chou (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 1) (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 1** : Anatomie du brocoli (*Brassica oleracea* L., var. Italique) (Ilahy et al., 2020).



**Figure 2** : *Brassica oleracea* var. italica (A) : Grains de brocoli ; (B) : Pousses de brocoli de cinq jours (Le 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).

La plante présente la classification suivante :

**Règne** : Plantae Haeckel

**Sous-Règne** : Viridae Plantae

**Classe** : Equisetopsida C.

**Clade** : Spermatophyta

**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

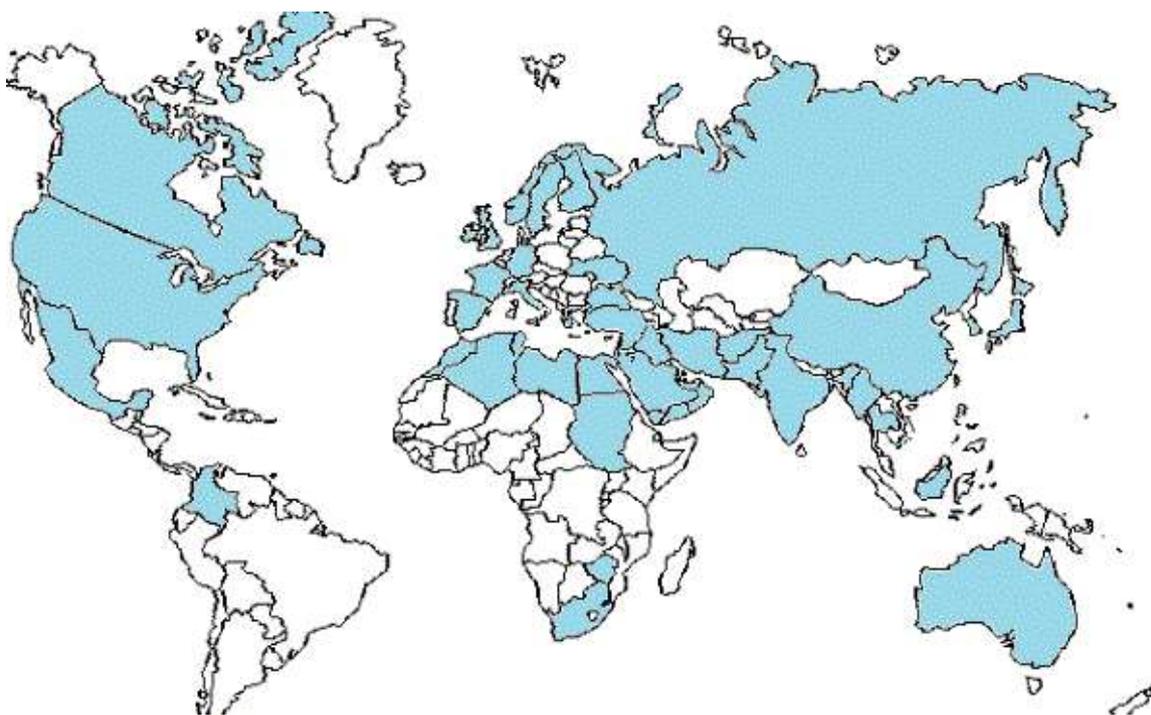
**(Classification hiérarchique de brocoli, 2022)**

**I.1.3. Origine du Brocoli et répartition géographique**

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).

Les cultures de Brocoli est assez répartie dans le monde (Figure 3). La région continentale de la Chine (environ 10,64 millions de tonnes) est le premier producteur mondial de brocoli et de chou-fleur en 2019, suivie de l'Inde (environ 9,08 millions de tonnes) et des États-Unis (environ 1,25 million de tonnes) (Li et al. 2022).

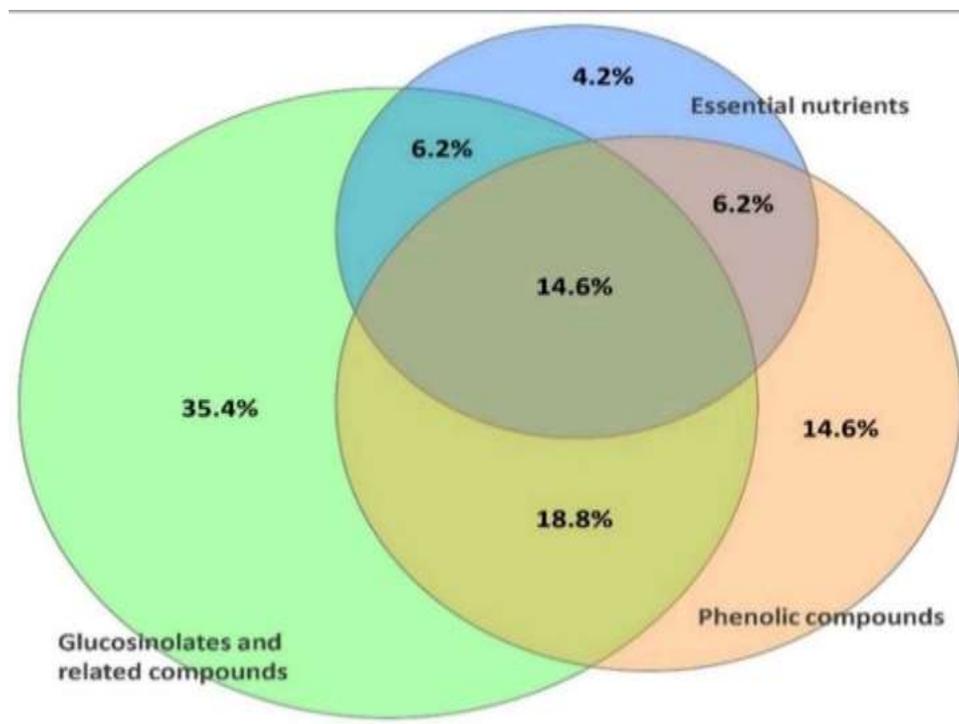
En 1999, la production mondiale de brocoli et de chou-fleur était de plus de 15,00 millions de tonnes, et elle est passée à environ 26,92 millions de tonnes en 2019 (Fatmah, Utomo, et Lestari 2021).



**Figure 3** : Carte géographique de la répartition mondiale du brocoli (original).

**I.2. ASPECT NUTRITIF DU BROCOLI**

Il existe une grande variation dans les nutriments et les composés phytochimiques des différentes parties botaniques du brocoli (**Figure 4**).



**Figure 4** : Résumé des composés bioactifs 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).

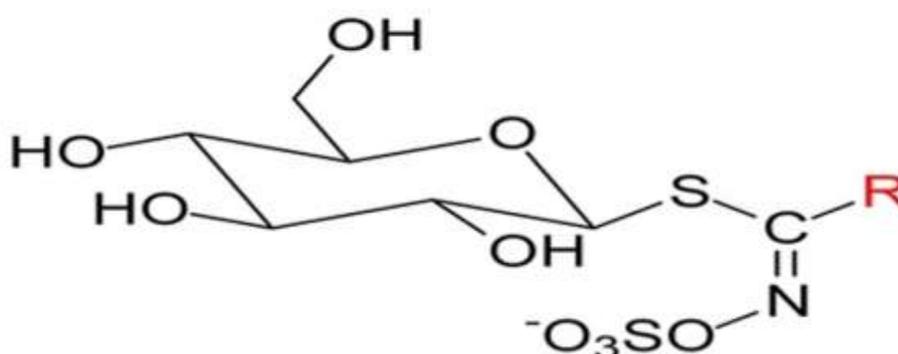
**I.3. COMPOSES PHYTOCHIMIQUES BIOACTIFS DU BROCOLI**

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  $\beta$ -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 5).



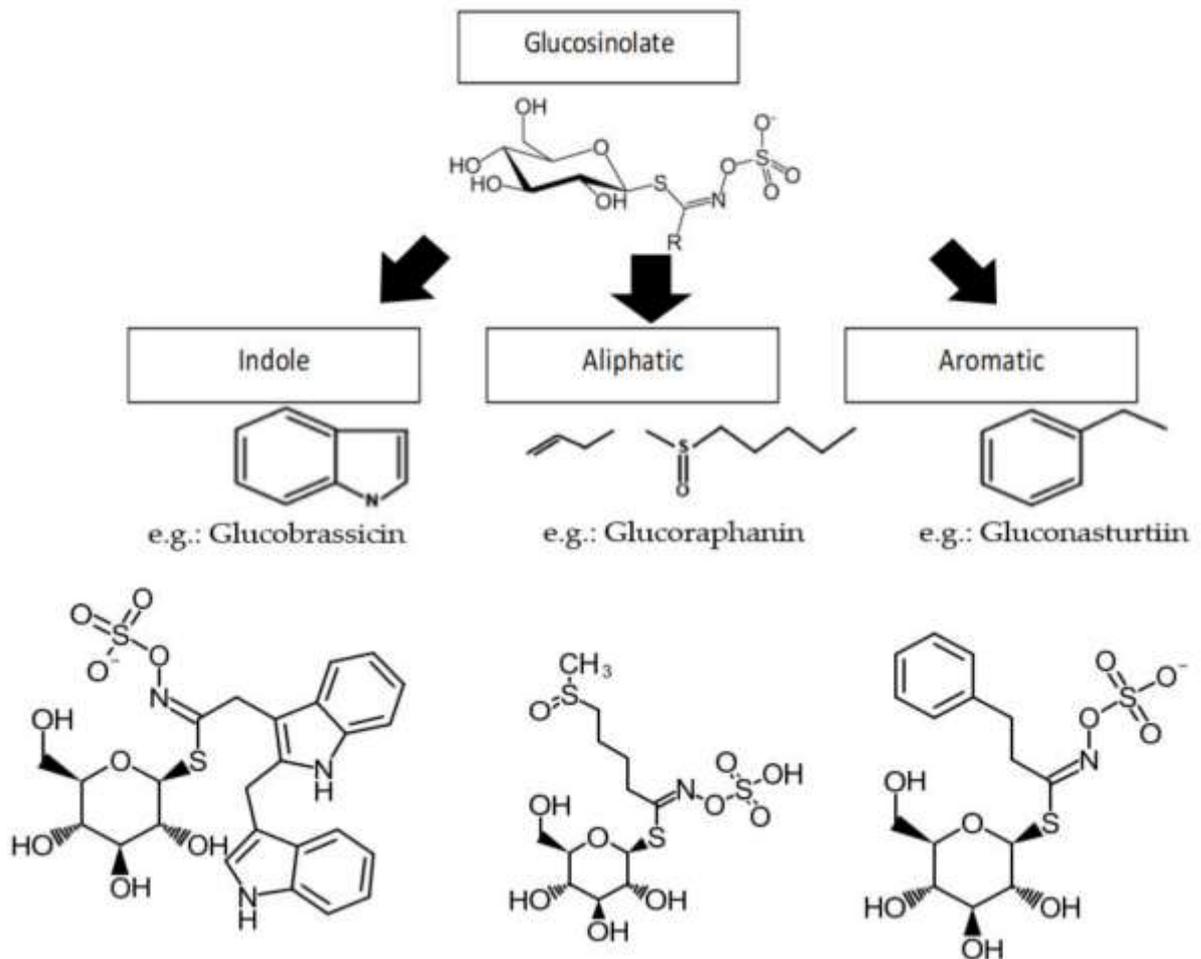
**Figure 5** : Structure générale des Glucosinolates (Montaut et al., 2012).

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).

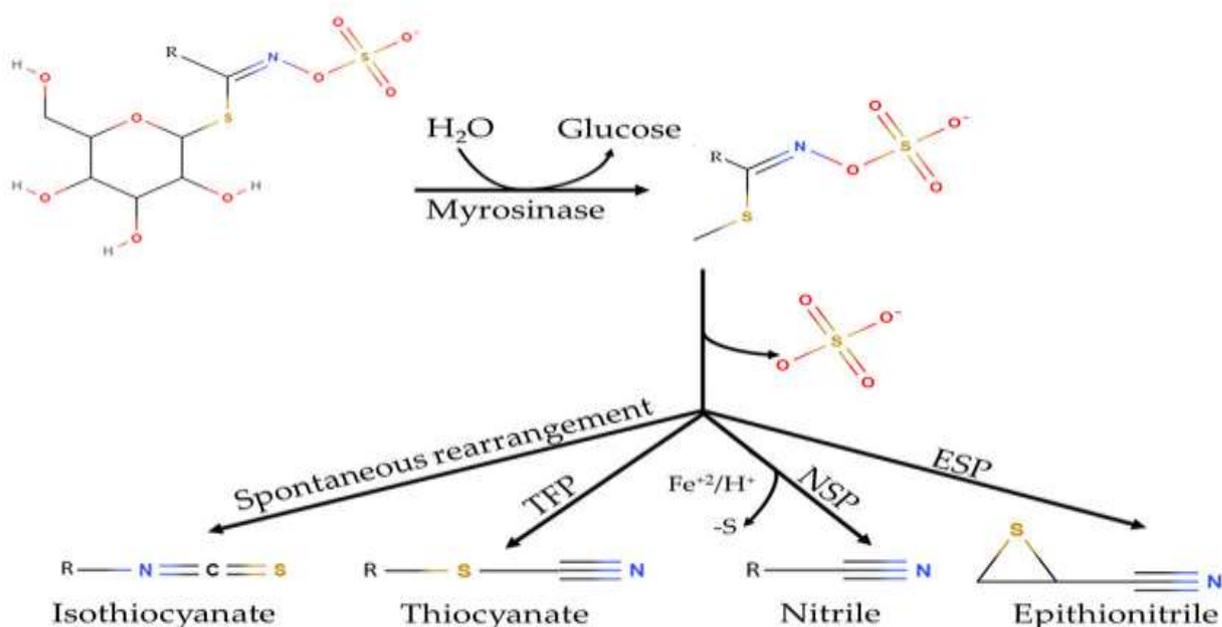
Les 3 classes des glucosinolates sont montrées dans la **figure 06**.



**Figure 6 :** 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 7).

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 7:** Hydrolyse des Glucosinolates (Roman et al., 2020).

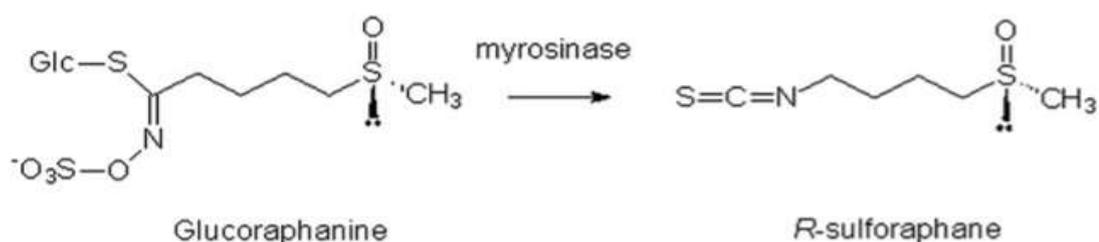
### I.3.2. Isothiocyanates

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 glucoraphanine (Almushayti et al., 2021) ; (Villaño et al., 2019).

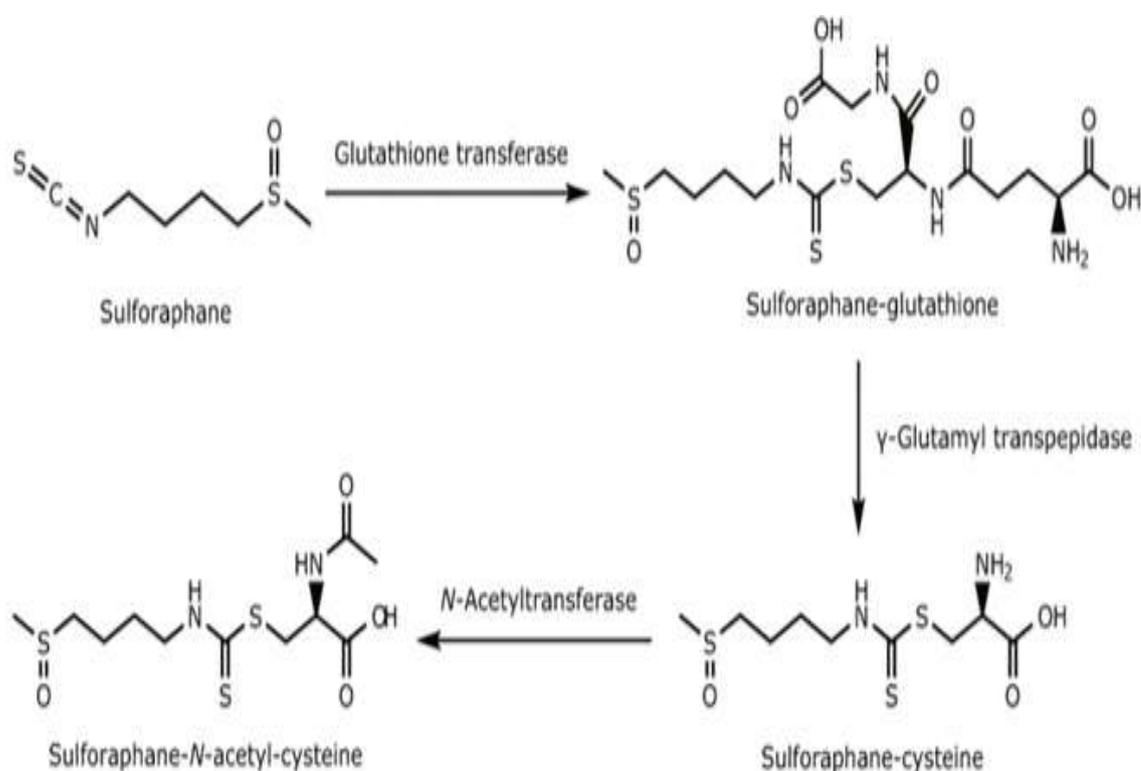
### I.3.3. Sulforaphane (SFN)

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 8). 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 8** : 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-acétylcystéine dans la voie de l'acide mercapturique, qui peuvent tous être utilisés comme biomarqueurs pour mesurer l'absorption du sulforaphane (Figure 9) (Villaño *et al.*, 2019 ; Almushayti *et al.*, 2021).

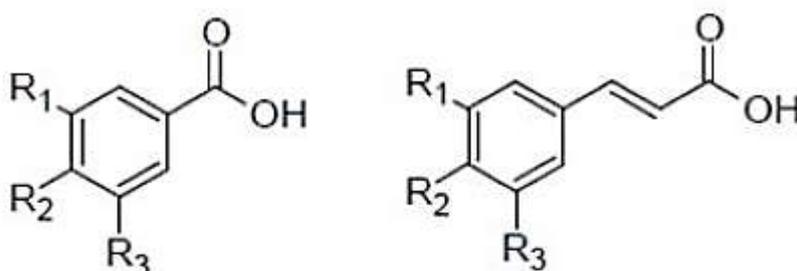


**Figure 9** : Voie métabolique du sulforaphane (Li *et al.*, 2022).

**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).

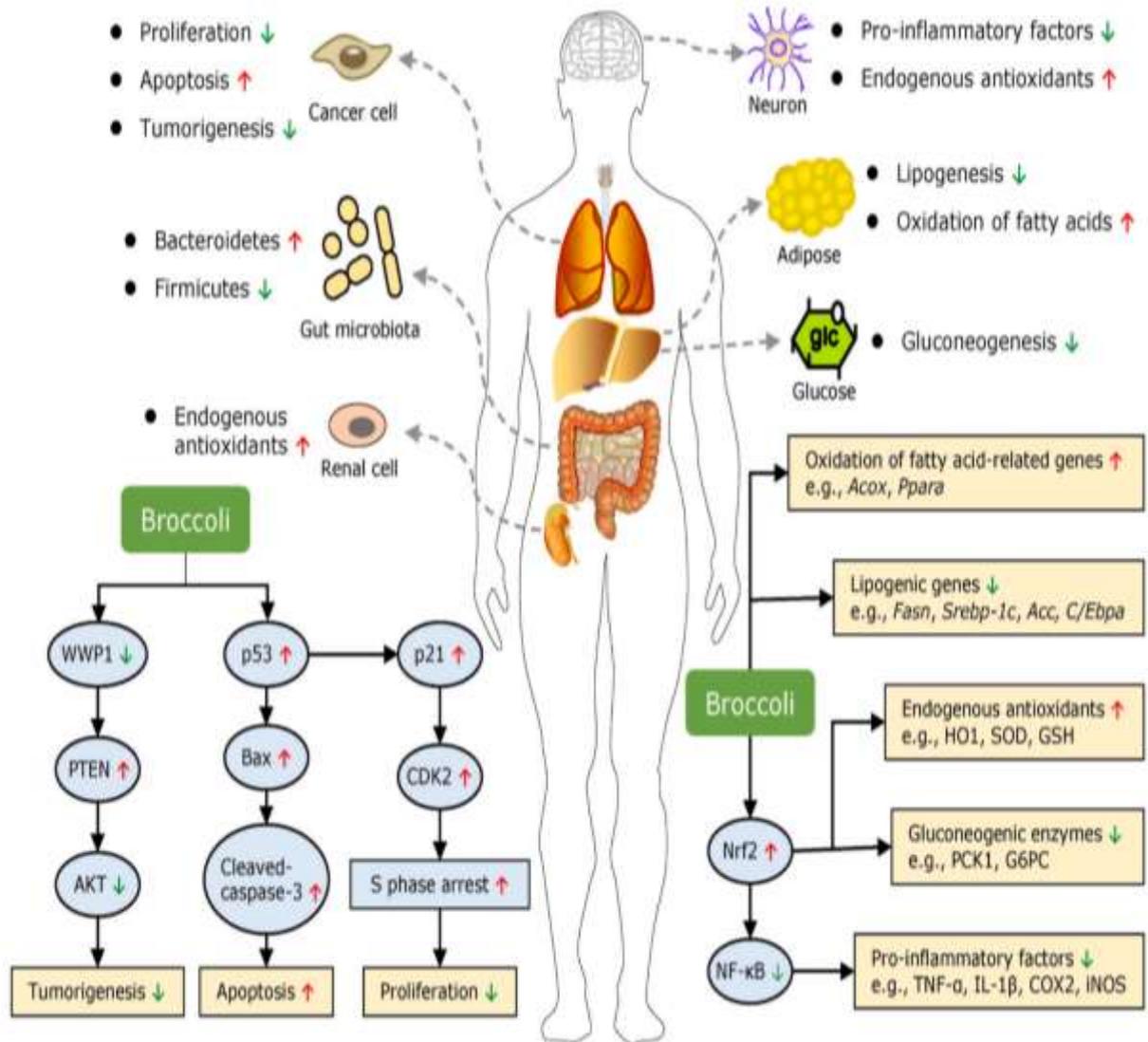
Sur la base de leur structure, qui comprend un ou plusieurs cycles aromatiques avec des substituants hydroxyle attachés (**Figure 10**), les composés phénoliques totaux peuvent être classés en différents sous-groupes, tels que « les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les lignanes, les quinones, les stilbènes et les curcuminoïdes » (Kumar et Goel 2019).



**Figure 10** : Structure générale de l'acide phénolique (A : acide hydroxybenzoïc ; B : acide hydroxycinnamic dans lequel (R1, R2, R3 = H, OH or OCH3) (Crozier *et al.*, 2007).

**I.4. LES ACTIVITES BIOLOGIQUES DU BROCOLI**

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 11**).



**Figure 11** : Les bienfaits du brocoli pour la santé (Li et al., 2022).

**I.4.1. Activités antimicrobiennes**

**I.4.1.1. Activité antibactérienne**

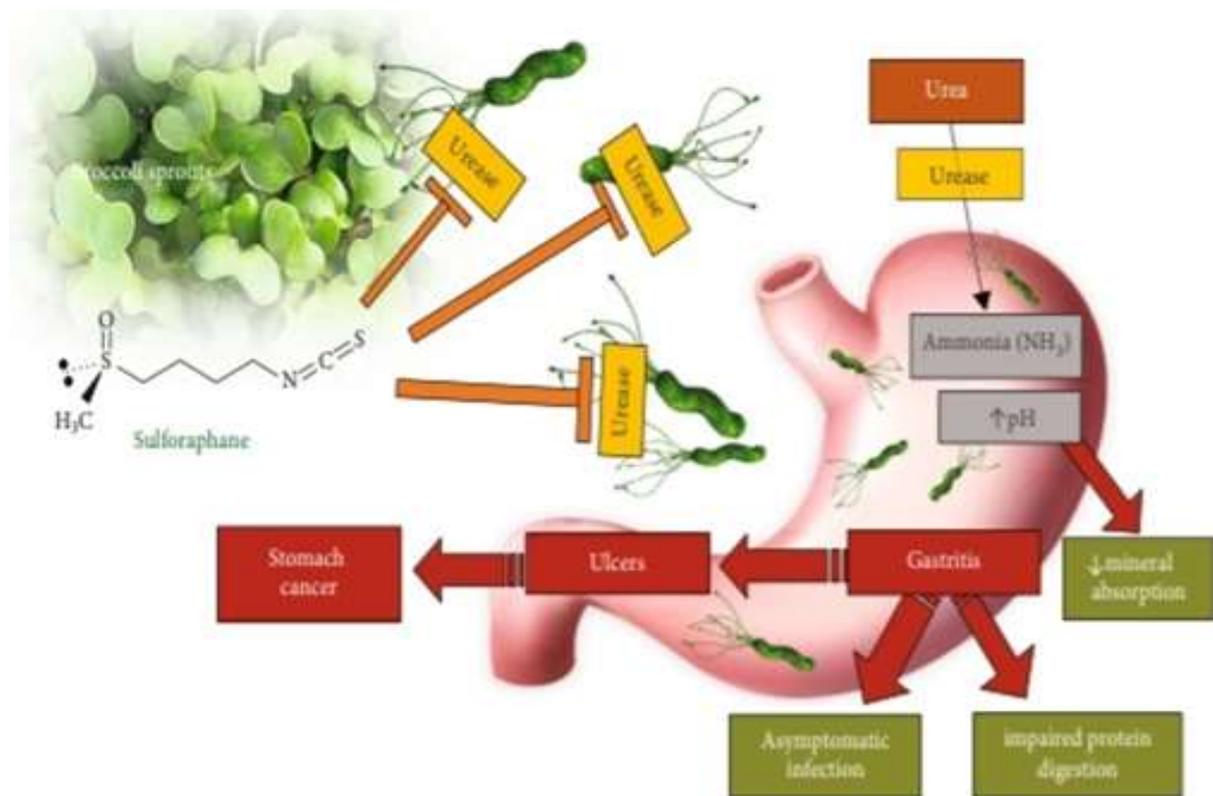
Le brocoli et ses composés dérivés exercent des activités antibactériennes, ces derniers ont été testées in vitro sur différents agents pathogènes d'origine alimentaire, tels que *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, et *Salmonelle typhimurium* (Le et al., 2020).

- **Exemple : l'infection bactérienne à *Helicobacter Pylori***

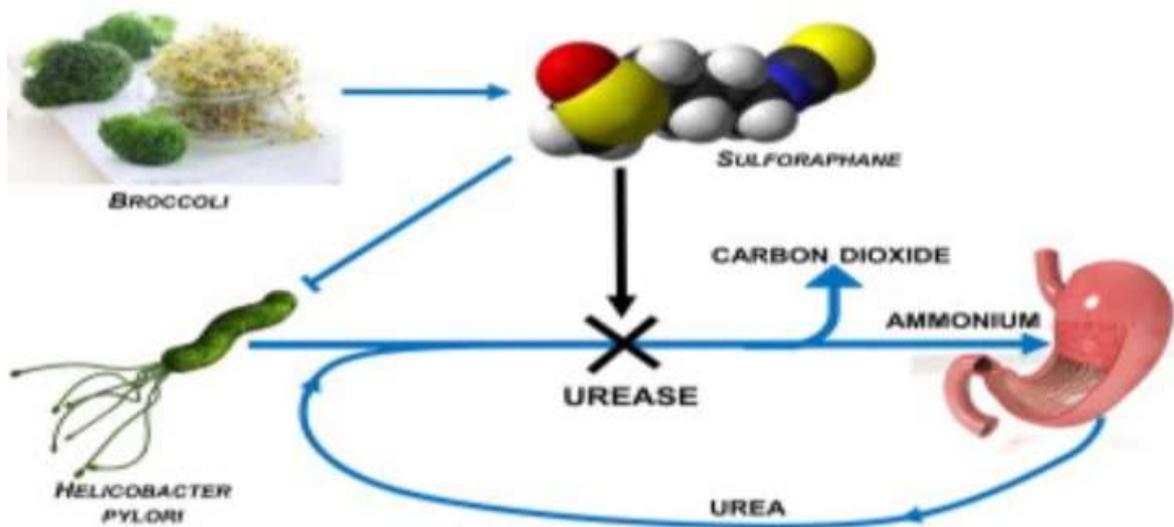
L'*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) est une bactérie, bacille spiralé et flagellé à Gram-négatif (Mignon 2005). Cette bactérie est cancérigène, peut survivre et se multiplier dans l'estomac grâce à une enzyme (uréase) très active qui transforme l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone, augmentant 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 12).

Le SFN a également été signalé comme un efficace inhibiteur de l'uréase (Figure 13), il réduit la colonisation de *H. Pylori* et l'inflammation (Fahey et al., 2013).



**Figure 12** : 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 13** : L'inactivation d'uréase par le sulforaphane (Fahey *et al.*, 2013).

#### I.4.1.2. Activité 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).

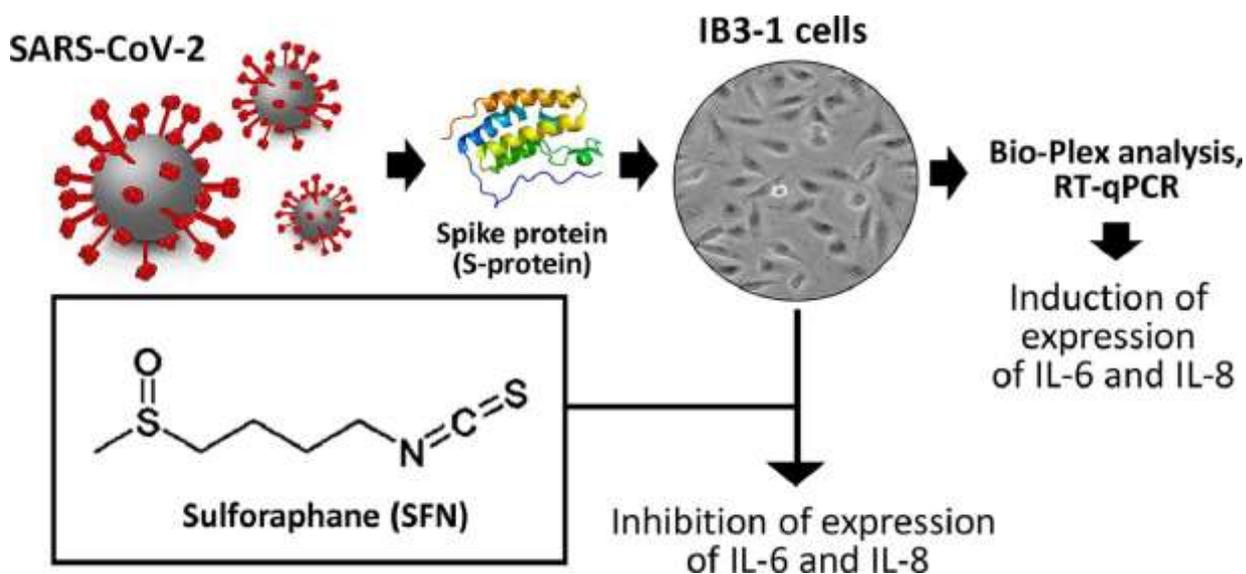
- **Exemple : l'infection virale SARS-CoV-2**

La pandémie de coronavirus 2019 (COVID-19) causée par le syndrome respiratoire sévère Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) a entraîné une morbidité et une mortalité importantes dans le monde. Celle-ci se caractérise par deux phases cliniques majeures : « une infection par le SRAS-CoV-2 des cellules et tissus cibles, ainsi qu'un état inflammatoire sévère appelé « tempête de cytokines » (Pascarella *et al.*, 2020) ; (Pelaia *et al.*, 2020).

L'étape cruciale de l'infection par le SARS-CoV-2 est la liaison de la protéine SARS-CoV-2 Spike (protéine S) au récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2). Cette interaction est suivie de modifications cellulaires profondes, dont les « tempêtes de cytokines », qui incluent l'hyperactivation du facteur nucléaire kappa (NF $\kappa$ B) via l'axe IL-6/STAT, entraînant une insuffisance pulmonaire (Ratajczak *et al.*, 2021).

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 14** : 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. Activité anti-inflammatoire

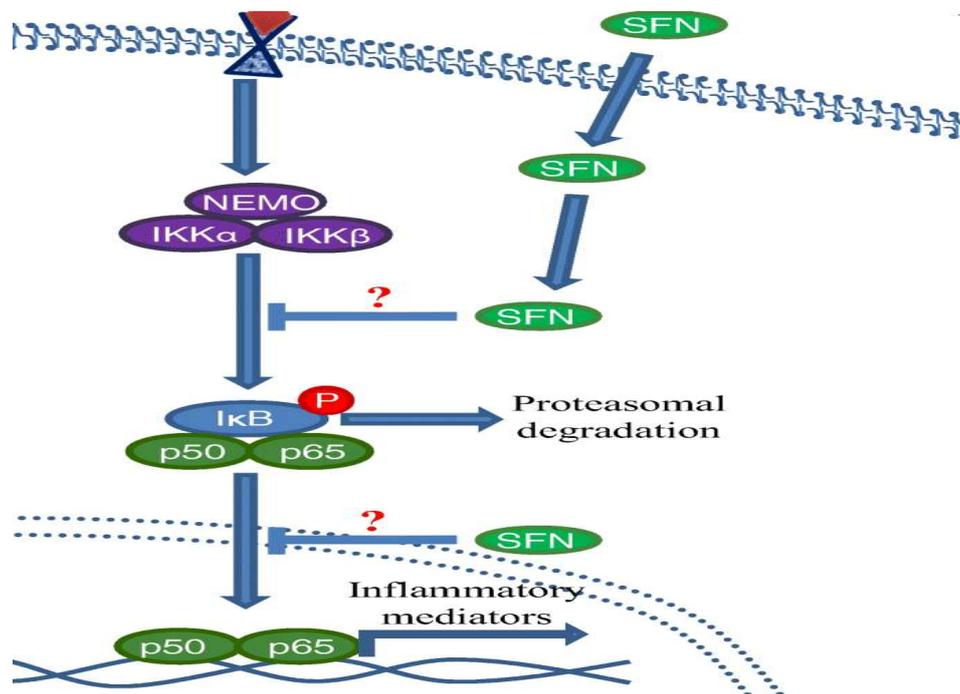
Une réponse inflammatoire appropriée protège non seulement le corps humain de l'invasion microbienne, mais augmente également la capacité des tissus et des cellules à restaurer la stabilité et à renforcer le système immunitaire (Medzhitov 2008) ;(Tung *et al.*, 2008). Au cours des processus de réponse inflammatoire, les facteurs liés à l'inflammation sont activés pour favoriser la production de médiateurs inflammatoires (Baluk *et al.*, 2009).

Le Facteur nucléaire  $\kappa$ B (NF $\kappa$ 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  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) et l'interleukine1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ) (Silverman et Maniatis 2001) ; (Wei et al., 2020).

Au repos, le complexe NF $\kappa$ B « un hétérodimères p50–p65 » est généralement séquestré dans le cytoplasme lié aux membres de la famille des I $\kappa$ B kinases inhibitrices (Cette interaction avec la protéine kinase I $\kappa$ B retarde l'activité de liaison à l'ADN et masque les séquences de localisation nucléaire de NF $\kappa$ 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 I $\kappa$ B est phosphorylée, suivie d'une dégradation des kinases, ce qui laisse le dimère de NF $\kappa$ B libre .il est transloquer dans le noyau et induire la transcription des cytokines pro-inflammatoires (IL- 6, IL-10, TNF- $\alpha$ ) (Ruhee et al., 2020).

Le SFN inhibe la phosphorylation de I $\kappa$ B et la translocation de NF $\kappa$ B, 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 NF $\kappa$ B à l'ADN (Heiss et al.,



2001).

**Figure 15** : Effets du sulforaphane sur la voie NF $\kappa$ B (Santín-Márquez et al., 2019).

Dans des conditions basales, NFκB est séquestré dans le cytosol par IκB, mais lorsque des ligands pro-inflammatoires se lient à ses récepteurs, la famille des protéines IKK phosphoryle IκB pour le dégrader via le protéasome, de sorte que NFκB est capable de translocation dans le noyau et transcrivent plusieurs médiateurs inflammatoires.

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. Activité antioxydante**

Le terme stress oxydant désigne une inadéquation entre les systèmes 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**) ; (**Di Bella 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**).

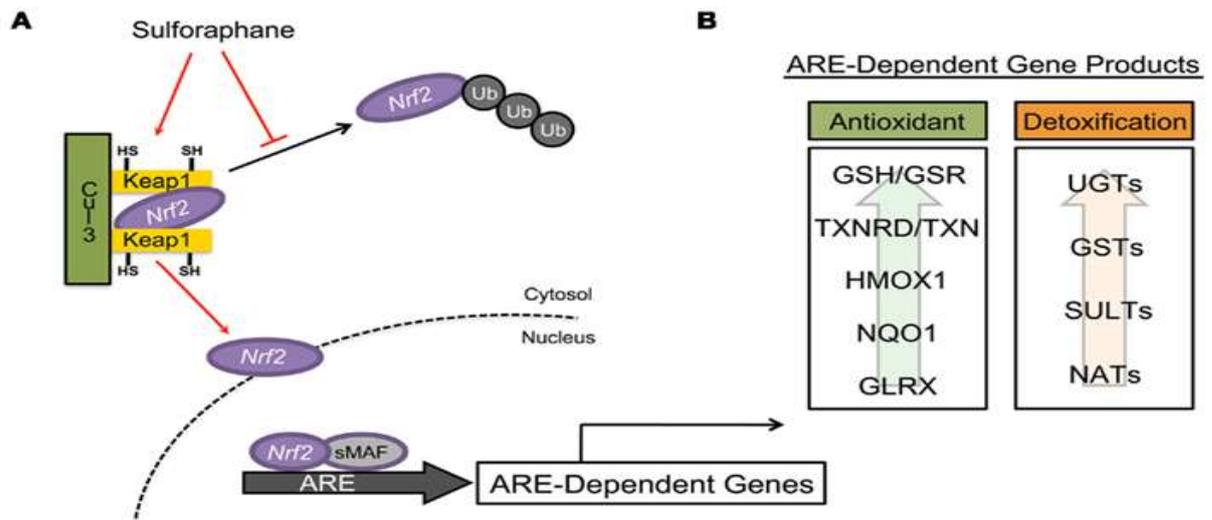
Le Nrf2 est un facteur de transcription critique dans la réponse au stress antioxydant. L'activation de ce gène par le SFN a entraîné la production d'une batterie de gènes cytoprotecteurs aux propriétés anti-carcinogène, Antioxydantes, et les enzymes de

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<sup>+</sup>/NADH et NADP<sup>+</sup>/NADPH (Dinkova-Kostova et Talalay 2008).

Des résultats récents ont révélé que trois composants cellulaires collaborent pour réguler l'expression génique des enzymes PII : 1) les ARE ; 2) Nrf2 ; et 3) Keap1. Le Keap1 lie Nrf2 au cytosquelette d'actine, contrôlant la fonction du facteur de transcription Nrf2 (Kang *et al.*, 2004). Cette cible chimique d'inducteurs potentiels tels qu'ITC, Keap1, en combinaison avec Cullin 3, se lie étroitement à Nrf2, provoquant l'ubiquitination et la dégradation protéasomique de Nrf2. Après suppression de la répression induite par Keap1 de Nrf2, les résidus de cystéine interagissent avec des inducteurs électrophiles, entraînant une accumulation nucléaire de Nrf2 et une hétérodimérisation avec des facteurs de transcription mineurs MAF (Egler *et al.*, 2005) Cela se traduit alors par la liaison du complexe à l'ARE et le recrutement de la transition basale.



**Figure 16** : 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 hétérométrique 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 génique médiés par ARE sont généralement classés comme des enzymes de détoxification ou des antioxydantes (**Santín-Márquez et al., 2019**).

**I.5 BROCOLI ET TROUBLES METABOLIQUES ET PATHOLOGIES**

**I.5.1. Maladies cardiovasculaires**

Les maladies cardiovasculaires (MCV) sont un groupe de maladies qui affectent le cœur ou les vaisseaux sanguins, telles que les cardiopathies ischémiques, les cardiopathies

hypertensives et les maladies artérielles périphériques. Les maladies cardiovasculaires sont couramment associées à l'hypertension, à l'athérosclérose, à l'obésité ou au diabète (**Bai et al., 2015**).

- **L'hypertension**

La prévalence de l'hypertension augmente fortement avec l'âge. C'est l'une des causes les plus fréquentes de maladies cardiovasculaires. Une augmentation du stress oxydatif pourrait être un moteur de l'augmentation de la prévalence de l'hypertension (**Higashi et al., 2012**).

Des recherches récentes ont démontré qu'une alimentation riche en brocoli Grn (Grn+) réduit le stress oxydatif et les problèmes qui l'accompagnent. En tant que l'un des principaux métabolites de Grn, il a également été découvert que le SFN améliore la pression artérielle (**Senanayake et al., 2012**).

D'autres études ont montré que le SFN augmentait significativement la teneur en GSH, diminuait les niveaux de GSH oxydé, diminuait la nitrosylation des protéines et augmentait les activités de GR et de GPX, ces modifications étaient liées à une amélioration de la relaxation endothéliale dépendante de l'aorte et à une pression artérielle significativement plus faible (**Wu et al., 2004**).

Ces effets étaient très probablement dus à la régulation à la hausse de l'expression et de la fonction de Nrf2 induite par le SFN.

- **L'obésité :**

L'obésité est définie médicalement comme une prise de poids qui a des conséquences physiques, psychologiques et sociales (**Basdevant 2006 ; WHO Consultation on Obesity (1997: Geneva, Diseases, et World Health Organization. Programme of Nutrition 1998)**).

L'obésité est considérée comme une maladie chronique et évolutive puisqu'elle évolue en plusieurs étapes selon divers mécanismes physiopathologiques (**Clément et al., 1998**).

L'obésité est liée à une diminution de la qualité de vie et à une multitude des problèmes de santé, notamment le syndrome métabolique, diabète, cancers, problèmes respiratoires et cardiovasculaires...Par conséquent, l'obésité est le résultat d'interactions compliquées entre

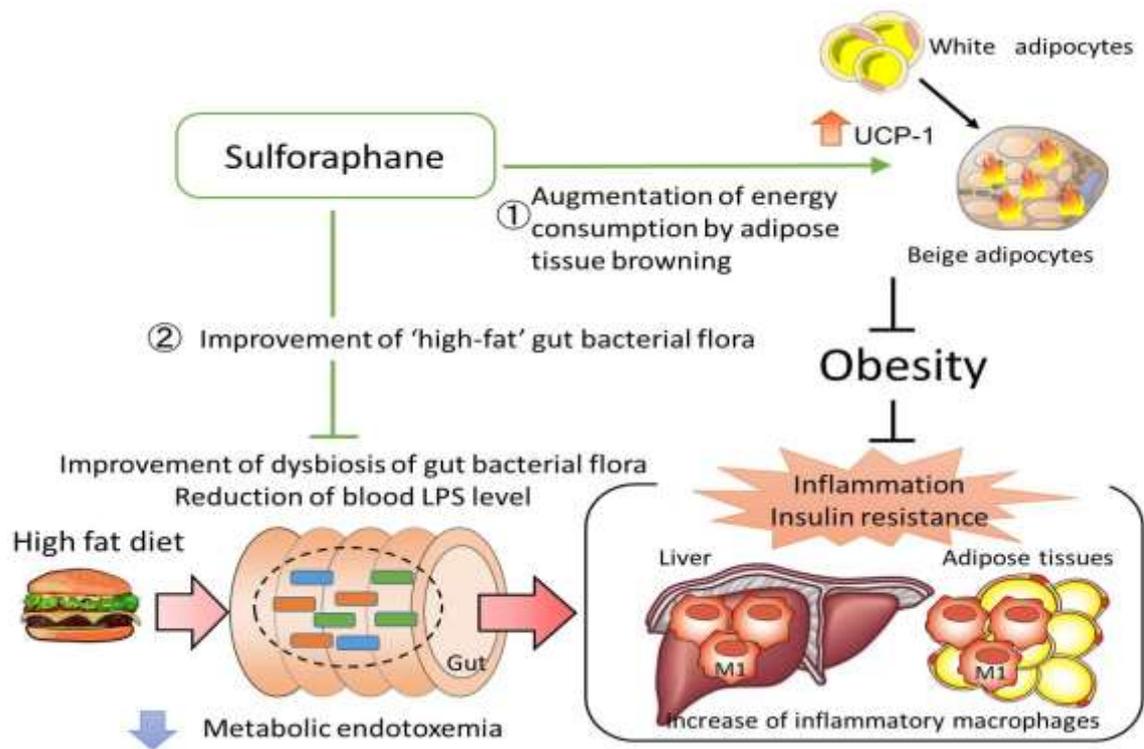
les gènes et les facteurs environnementaux tels que l'alimentation, les composants alimentaires et/ou le choix de mode de vie (**BENHAMOU, 2022**).

Plusieurs études ont documenté les effets bénéfiques des graines de brocoli sur l'obésité en régulant le métabolisme des lipides. Dans un essai clinique, la poudre des graines de brocoli est considérée comme traitement complémentaire chez les patients diabétiques de type 2 pourrait avoir des effets bénéfiques sur les profils lipidiques et le rapport des lipoprotéines de basse densité oxydées (OX-LDL/LDL), en tant que facteurs de risque d'obésité et de maladies cardiovasculaires (**Bahadoran, Mirmiran, et al., 2012**).

Un autre mécanisme de régulation du métabolisme lipidique des graines de brocoli peut être associé à la capacité du sulforaphane à induire la voie Nrf2 (**Bahadoran et al., 2013**).

La glucoraphanine extraite des graines de brocoli peut réduire l'accumulation de graisse. Elle contribue également à la régulation de l'expression de plusieurs gènes impliqués dans la gluconéogenèse et la lipogenèse, prévenant l'obésité et le diabète (**Xu, Nagata, et Ota 2018**).

Le sulforaphane accélère le brunissement des tissus adipeux ce qui induit une augmentation de la consommation d'énergie et de la combustion des graisses. Mais ce n'est pas tout, le sulforaphane réduit l'abondance relative de la famille bactérienne des sulfobivriionaceae dans l'intestin, ce qui réduit le niveau d'endotoxine dans le sang et améliore l'endotoxine métabolique. Ces travaux affectent ainsi 2 nouvelles fonctions bénéfiques au sulforaphane, la réduction de l'obésité par l'augmentation du tissu adipeux brun et de la consommation d'énergie et l'amélioration du microbiote intestinal favorable à un meilleur métabolisme des graisses (**Nagata et al., 2017**).



**Figure 17** : Effet anti-obésité de sulforaphane SFN (Nagata *et al.*, 2017).

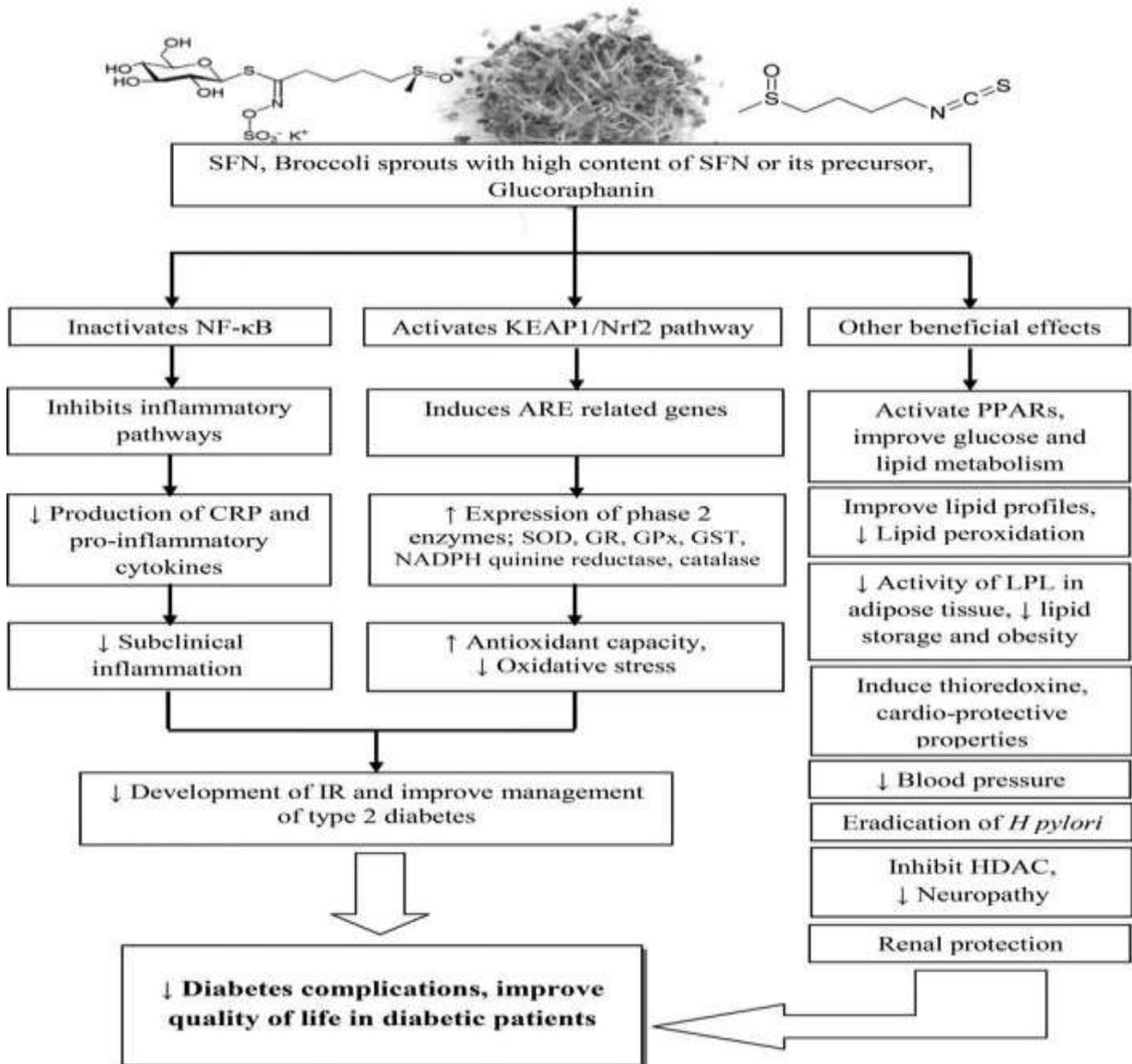
- **Le diabète**

Le diabète est un trouble métabolique caractérisé par une hyperglycémie causée par une diminution de la synthèse ou de l'action de l'insuline, ou les deux. L'hyperglycémie chronique liée au diabète est liée à des problèmes micro-vasculaires à long terme qui affectent les yeux, les reins et les nerfs, ainsi qu'à un risque accru de maladie cardiovasculaire (MCV). Les critères diagnostiques du diabète sont basés sur les niveaux de glycémie associés aux maladies micro-vasculaires, aux maladies rétinienne, la neuropathie, et la néphropathie (Punthakee *et al.*, 2018) ; (Gnudi et Karalliedde 2016).

Le brocoli est l'un des rares légumes considéré comme un traitement complémentaire du diabète de type 2 et la prévention à long terme de ses conséquences (Ares *et al.*, 2013).

Plusieurs études indiquent que le SFN prévient les troubles cardiaques induits par le diabète, et lésions aortiques. Il a été constaté que le SFN active le facteur 2 lié au facteur nucléaire érythroïde 2 (Nrf2) pour réguler positivement les antioxydants cellulaires contre le stress oxydatif et les dommages (Z. Zhang *et al.*, 2014).

Le SFN, en tant qu'antioxydant, prévenait les complications du diabète, y compris la cardiomyopathie et dommages à l'aorte. De plus, le SFN s'est également avéré avoir une activité anti-obésité en régulant le métabolisme des lipides (Z. Zhang et al., 2014).



**Figure 18** : Propriétés potentielles du sulforaphane SFN et des pousses de brocoli, qui en font un excellent traitement complémentaire du diabète de type 2

(Bahadoran et al., 2013).

**I.5.2. Maladies rénales**

Le stress oxydatif est de plus en plus reconnu comme un facteur important dans l'initiation et la progression de la maladie rénale chronique ( **Raghunath et al., 2018**) ; (**Daenen et al., 2019**) ; (**Rapa et al., 2020**).

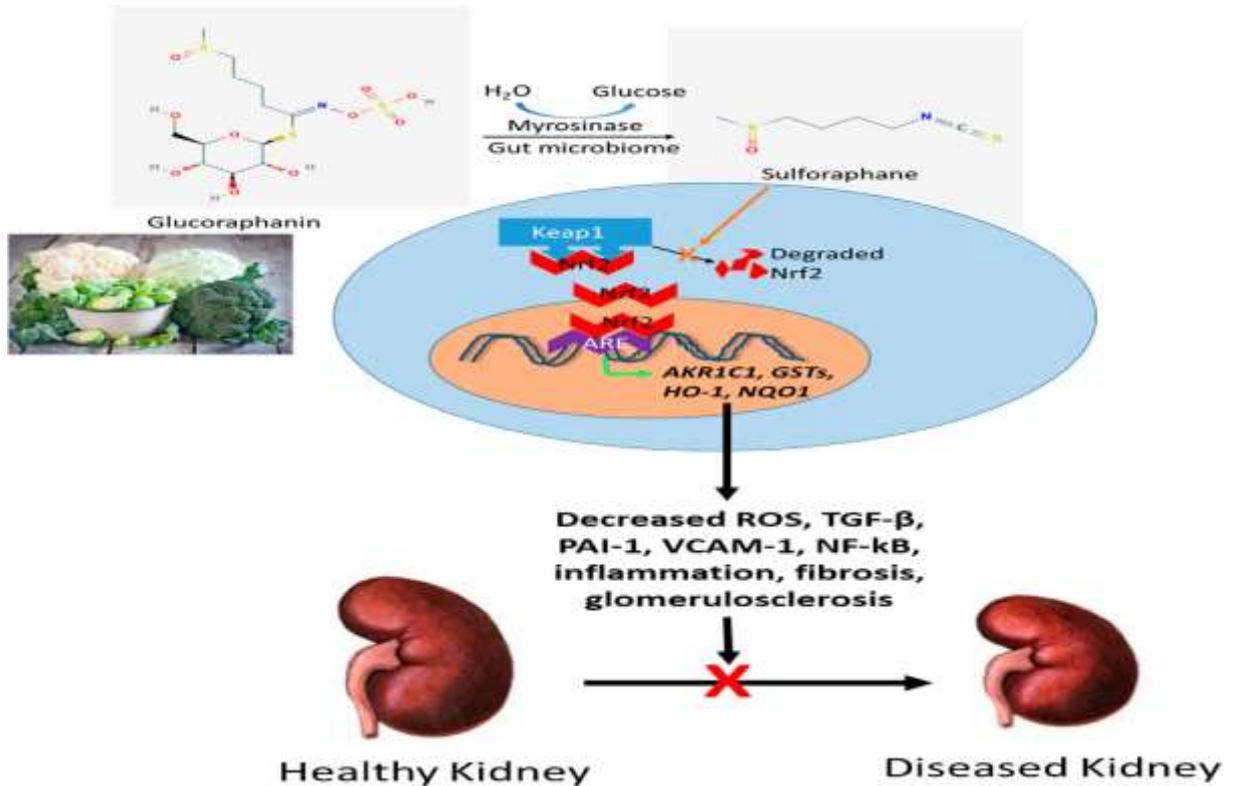
Les personnes atteintes d' **insuffisance rénale chronique** (IRC) ont un risque élevé de morbidité et de mortalité cardiovasculaires, et ce risque augmente avec la gravité de l'IRC (**Go et al., 2004**). La néphropathie diabétique est la cause la plus fréquente d'insuffisance rénale dans le monde chez les patients atteints de diabète de type 1 et de type 2 ((**Ding et Choi 2015**) ; (**Gnudi et Karalliedde 2016**).

Suggérant que Nrf2 joue un rôle néphroprotecteur par une voie commune dans les maladies rénales, et une néphroprotecteur similaire est observée avec les activateurs de NRF2 et les suppresseurs de KEAP1 (qui permet à Nrf2 de se déplacer vers le noyau et d'exercer son effet) (**Jiang et al., 2010**) ; (**Nezu et Suzuki 2020**) ; (**Zheng et al., 2011**).

Plusieurs études ont découvert que les activateurs de Nrf2 atténuent les marqueurs de lésions rénales et minimisent la pathologie glomérulaire. Néanmoins, prises ensemble, le SFN qui joue un rôle protecteur contre la néphropathie diabétique dans des modèles animaux et que son effet est médié par l'activation de Nrf2 (**Zheng et al., 2011**) ; (**Wu et al., 2015**).

Le sulforaphane peut prévenir les lésions tubulaires induites par une glycémie élevée via l'inhibition de l'autophagie. Étant donné que le sulforaphane est un constituant important du brocoli, il est raisonnable de conclure que le brocoli et ses produits dérivés peuvent exercer des effets réno-protecteurs similaires dans des modèles animaux et des études humaines (**Gigliotti et al., 2020**).

Le traitement par SFN a partiellement abrogé la lésion rénale, abaissé les marqueurs rénaux du stress oxydatif [Malon-dialdéhyde (MDA) et 8-hydroxy-2-désoxyguanosine (8-OHdG)], et amélioration de la fonction rénale (**Sa et al., 2019**).



**Figure 19** : Le sulforaphane cible la voie Nrf2 pour prévenir la progression de la maladie rénale (Liebman et Le 2021).

**I.5.3. Maladies neuronales**

La dépression , la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la schizophrénie, les troubles du spectre autistique (TSA)...sont des troubles neurodégénératifs et psychiatriques courants, qui partagent des caractéristiques communes telles que le stress oxydatif, l'inflammation et/ou une déficience neurale «entraînant une perturbation de plusieurs fonctions corticales supérieures, y compris la mémoire, le raisonnement, l'orientation, la compréhension, la capacité d'apprentissage et la stabilité émotionnelle (Ashwlayan 2017) ; (Bhandari et al., 2021)

- **La maladie d'Alzheimer :**

La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative chronique caractérisée par un dysfonctionnement des synapses et une perte des neurones dans le cortex cérébral et la région hippocampe du cerveau. Cliniquement, la MA est associée à des troubles cognitifs progressifs et à une perte de mémoire (Yang et al., 2020) ;(Tarozzi et al., 2013). Cette maladie est caractérisée par des agrégats extracellulaires des peptides

Bêta-amyloïdes (A $\beta$ ) qui conduisent à l'accumulation intracellulaire de protéine tau hyperphosphorylée, qui à son tour conduit à la formation d'enchevêtrements neurofibrillaires (Tannenberg *et al.*, 2006) ;(Uddin *et al.*, 2018).

En effet, il a été démontré que l'augmentation du stress oxydatif et la réduction du réplétion des protéines endoplasmiques, ainsi que l'autophagie, augmentaient les niveaux d'agrégats A $\beta$  et de protéines tau (Hoozemans *et al.*, 2005).

En conséquence, des nouvelles stratégies capables de bloquer la neurodégénérescence et de combattre la maladie sont nécessaires pour soutenir celles qui sont déjà connues comme le SFN (López Salon *et al.*, 2000).

Plusieurs études ont montré que le SFN, augment l'expression de Nrf2 et diminue la transcription de BACE1 et BACE1-AS, toutes deux impliquées dans le processus d'amyloïdogenèse, il abaisse également les niveaux de phosphorylation de tau. De plus, le SFN contribue au contrôle des niveaux de HO-1 dans le stress oxydatif, ainsi qu'à la réduction de l'agrégation A $\beta$  (Bahn *et al.*, 2019).

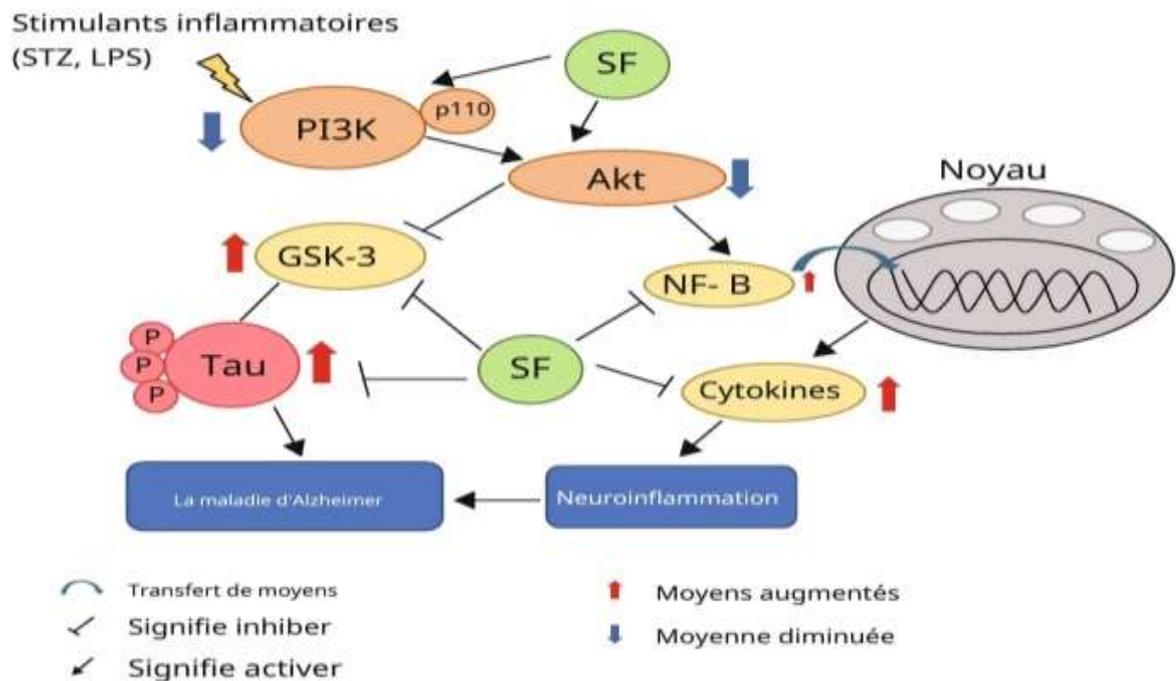
D'autres études ont montré que le traitement par l'extrait des pousses de brocoli exerçait une action protectrice contre la cytotoxicité et la mort cellulaire induites par l'agrégation A $\beta$ .

Le SFN a le potentiel d'améliorer la phagocytose microgliales, qui a été réduite en raison des agrégats A $\beta$  (Chilakala *et al.*, 2020). Étant donné que l'activation microgliale joue un rôle essentiel dans la neuroinflammation, et les stratégies anti-inflammatoires.

Il existe une réduction des niveaux d'expression des récepteurs de la neurotrophine p75 (p75RNT) dans le cerveau des patients atteints de MA (Kordower *et al.*, 1989) ;(Salehi *et al.*, 2000). Le SFN peut également moduler l'expression de p75RNT, qui joue un rôle clé dans la pathogenèse de la MA (Zeng *et al.*, 2011). Par conséquent, l'augmentation de p75RNT pourrait être une stratégie thérapeutique pour réduire le développement de l'amyloïde A $\beta$  dans le cerveau (Zhang *et al.*, 2017).

Le SF était capable de supprimer l'activation de la microglie et des astrocytes pour réduire la libération de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6 et le TNF- $\alpha$ , tout en favorisant la production du médiateur anti-inflammatoire tel que l'IL-10. SF a également inhibé la phosphorylation de la protéine « tau » en modulant le PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$ . De

plus, SF a amélioré la neuroinflammation stimulée par le LPS en inhibant le NFκB translocation de p65 vers le noyau et régulation du PI3K/Akt/GSK-3β (Yang et al., 2020) (Figure 20).



**Figure 20** : Effets du SF sur l'amélioration des troubles cognitifs induits par la STZ (Streptozotocine) (Yang et al., 2020).

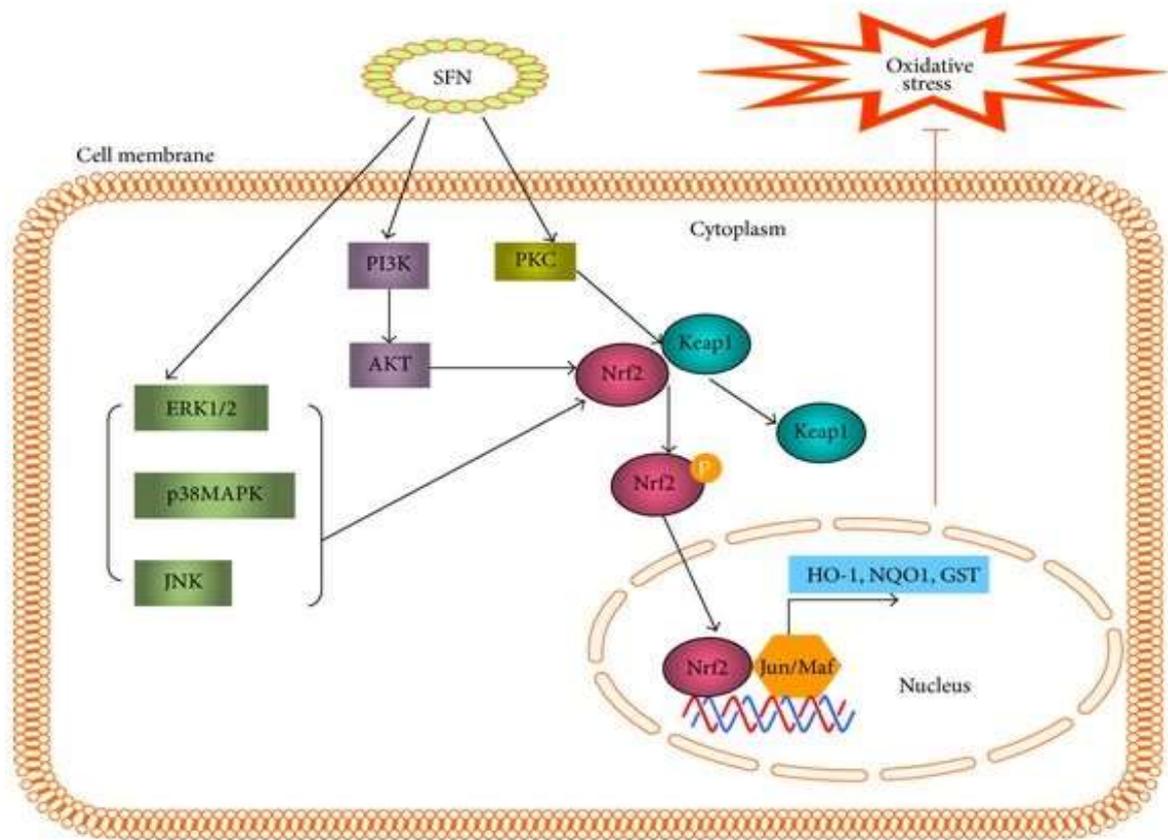
**I.5.4. Cancer**

Le cancer est une maladie cellulaire aux origines génétiques et/ou épigénétiques divers qui se traduit par une perturbation de l'homéostasie cellulaire et une perte de contrôle de la prolifération cellulaire (Argilés 2005).

Ce dernier améliore la signalisation proliférative, évite les suppresseurs de croissance, résiste à la mort cellulaire, permette l'immortalité réplivative, induise 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 (Hanahan et Weinberg 2011).

Les graines de brocoli ont longtemps été appréciées 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.

Un certain nombre d'études ont montré que les effets du SFN sur Nrf2 et ses gènes cytoprotecteurs sont médiés par des modifications des résidus de cystéine dans Keap1 (**Hu et al., 2011**). l'activation des voies de la protéine kinase activée par un mitogène (MAPK), de la phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) et de la protéine kinase C (PKC); et des changements épigénétiques, qui ont entraîné une phosphorylation, une accumulation nucléaire et une augmentation de la transcription et de la stabilité de Nrf2 (**Magesh et al., 2012**) ; (**Su et al., 2014**) Il a été démontré que le SFN régule l'activation ou l'extinction des gènes liés au cancer via des modifications épigénétiques (**Gerhauser 2013**).



**Figure 21** : 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) (Figure 21).



# Matériel et Méthodes

## **II. MATERIEL ET METHODES**

### **II.1. MATERIEL**

Notre travail vise l'évaluation de quelques activités biologiques de l'extrait méthanolique des graines de Brocoli *Brassica oleracea* cultivées en Algérie. Notre étude cible les activités antibactérienne, anti-inflammatoire et antioxydante.

Notre étude a été effectuée au niveau d'Orpin Center, Unité de production Morinaga House.

Nos paramètres de recherche ont été réalisés dans des laboratoires en Algérie.

- Laboratoire d'analyse de qualité « AFAK control Eurl » d'Oran.
- Laboratoire de développement et de contrôle des préparations pharmaceutiques hospitalière, Département de pharmacie, Faculté Médecine, Université Badji Mokhtar-Annaba.
- Laboratoire de contrôle de qualité et de conformité « Altesse » de Blida.
- Laboratoire SAIDAL d'Alger.
- D'autre paramètre a été réalisés au Centre de la Recherche Scientifique et Technique en Analyses physicochimiques (CRAPC) Bousmail, Tipaza.
- L'extraction du solvant est opérée au niveau de labo génie chimique, Département Génie des procédés Université Blida 1.

La réalisation de ce projet de recherche s'étale du mois de Mars jusqu'à la première semaine de juillet 2022.

#### **II.1.1. Matériel biologique**

##### **II.1.1.1. Espèce végétale**

Les graines de Brocoli *Brassica oleracea* sont récoltées au niveau de la pépinière d'Orpin Centre au niveau la région de Douaouda, commune de la wilaya de Tipaza (Algérie) (Annexe 01).

##### **II.1.1.2. Souches bactériennes**

Pour l'étude de la sensibilité ou de la résistance de notre extrait méthanolique des graines de brocoli, nous avons testés plusieurs souches bactériennes pathogènes et

commensale obtenue du laboratoire SAIDAL à savoir : *Acinetobacter baumannii* NDM-1, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

### **II.1.2. Matériel non biologique**

Une gamme de matériel non biologique (verreries, réactifs, appareillages...) est utilisée pour mener à bien les techniques réalisées à Orpin Center, Unité de production Moringa House. Les détails de l'appareillage, de matériels et des réactifs sont présentés dans l'**annexe 02**.

## **II.2. METHODES**

### **II.2.1 Préparation du solvant d'extraction**

#### **II.2.1.1. Récolte, séchage et broyage des graines**

Les graines de brocoli ont été récoltées par l'équipe de travail d'Orpin Center, Unité de production Morinaga House. Ces graines sont lavées puis laissées sécher à l'ombre et à température ambiante dans un endroit propre et aéré.

Après séchage, nous broyons ces graines à l'aide d'une broyeuse électrique et le broyat récupéré a été tamiser. La poudre fine de graines est conservée dans des sachets sous vide à température ambiante.

#### **II.2.2.2 Extraction méthanolique**

- **Principe du Soxhlet**

Il s'agit d'une extraction solide liquide. L'extracteur de Soxhlet permet le traitement de solides de toutes tailles, avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés. Le corps de l'extraction (Soxhlet), contenant un support de cartouche qui est remplie de solide, est fixé sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmonté d'un réfrigérant. Le solvant est vaporisé puis condensé, et reste en contact avec le solide. La solution est soutirée périodiquement par l'amorçage d'un siphon. La solution du ballon s'enrichit petit à petit en soluté et le solide est toujours mis en contact avec du solvant fraîchement distillé.

- **Mode opératoire de l'extraction**

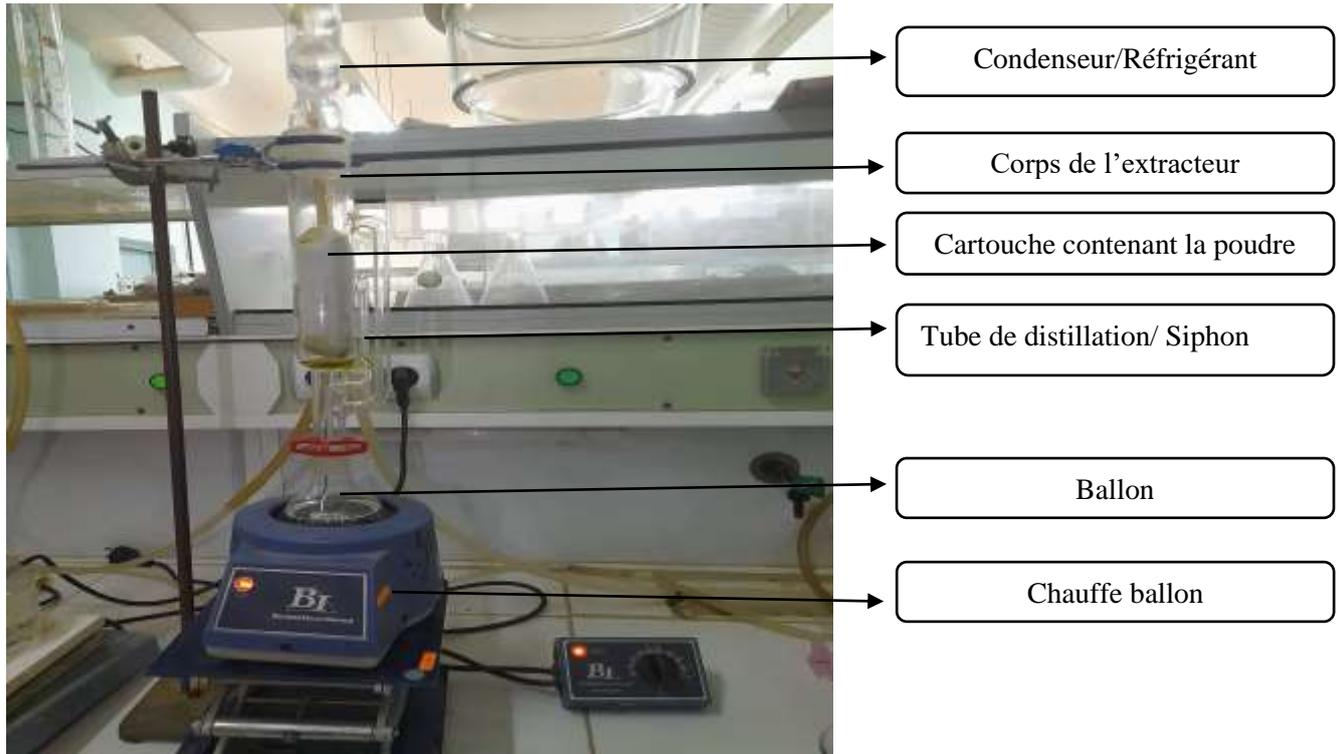
L'extraction au Soxhlet a été effectuée de façon séquentielle, en utilisant un solvant de polarité, le méthanol « MeOH ».

Le corps de l'extracteur, contient une cartouche en cellulose remplie de 40 g de matière végétale (graines de brocoli) en poudre, cette cartouche est fixée sur un réservoir (ballon) contenant 250 ml de solvant, le méthanol et est surmonté d'un réfrigérant.

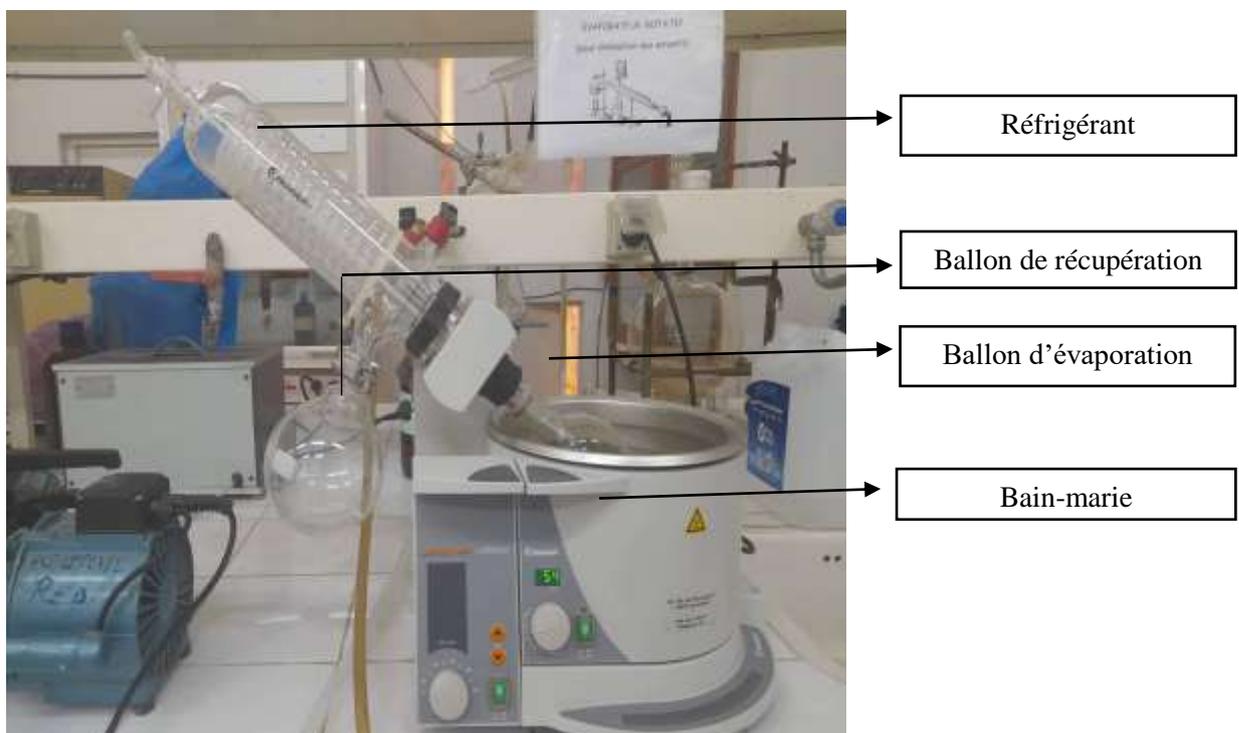
Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal au niveau du réfrigérant et s'écoule, ce dernier est aspiré par un siphon qui évacue le solvant du porte-cartouche retournant dans le ballon. Le solvant peut donc recommencer un nouveau cycle d'évaporation condensation. L'extraction se poursuit aux moyennes durant 08 cycles d'extraction pour extraire le maximum des composées bioactives (**Figure 24**).

L'extrait méthanolique des graines de brocoli est récupéré après l'évaporation de méthanol dans un évaporateur rotatif à 60°C pour éviter l'ébullition (**Figure 25**).

Mettez l'extrait dans une boîte de pétri puis laisser sécher à 40°C avant la conservation dans un congélateur jusqu'à son utilisation.



**Figure 22** : L'appareil de Soxhlet (Original)



**Figure 23** : Evaporateur rotatif (Original)

### **II.3. CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE**

Le screening phytochimique est un ensemble de réactions physico-chimiques permettant de déterminer les principaux groupes chimique contenus dans le brocoli.

### **II.3.1. Recherche des alcaloïdes**

#### **II.3.1.1. Préparation du macérât**

- A 1g de poudre des graines de brocoli, ajouter 5ml d'acide sulfurique dilué au 1/10e.
- L'ensemble est laissé en macération à la température du laboratoire pendant 24 heures puis filtré.
- Le filtrat obtenu est complété à 5ml avec de l'eau distillée.

#### **II.3.1.2. Caractérisation du macérât**

- Dans trois tubes à essai, introduire dans chacun 1ml de filtrat
- Ajouter 0,5mL des trois réactifs suivants : le réactif de Dragendorff, le réactif de Bouchardat et le réactif de Mayer.

La présence des alcaloïdes est caractérisée par la formation

- D'un précipité rouge orangé avec le réactif de Dragendorff.
- D'un précipité brun avec le réactif de Bouchardat.
- D'un précipité blanc jaunâtre avec le réactif de Mayer.

### **II.3.2. Recherche de composés phénoliques**

#### **II.3.2.1. Préparation de l'infusé**

- Introduire 5g de poudre des graines de brocoli dans 100mL d'eau bouillante contenue dans un erlenmeyer de 250mL.
- Arrêter l'ébullition et refermer l'erlenmeyer avec un verre de montre ou le surmonter d'un entonnoir et laisser infuser pendant 15min.
- Ensuite filtrer et rincer avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 100mL de filtrat.

#### **II.3.2.2 Caractérisation des anthocyanes**

- A 5mL d'infusé présentant une coloration plus ou moins foncée.
- Ajouter 5mL de l'acide sulfurique « H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> » à 10% puis 5mL d'ammoniaque « NH<sub>4</sub>OH ».

Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violet en milieu basique, nous pouvons conclure la présence d'anthocyanes.

### **II.3.2.3 Caractérisation des tanins**

- Introduire dans un tube à essai 5mL d'infusé.
- Ajouter 1mL de solution aqueuse diluée de la solution de chlorure ferrique « FeCl<sub>3</sub> » (1%).

En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

#### **A- Recherche des tanins catéchiques (réaction de Bâte-Smith) :**

- A 5mL d'infusé, ajouter 1mL d'acide chlorhydrique « HCl » puis porter à ébullition pendant 10min.

L'observation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique ou isoamylique indique une réaction positive.

#### **B- Recherche des tanins galliques (réaction de Stiasny) :**

La différenciation des tanins catéchiques et galliques est obtenue par la réaction de Stiasny.

- A 15mL d'infusé, ajouter 7,5mL de réactif de Stiasny puis chauffer au bain-marie à 90°C pendant 15 à 30min.

L'apparition d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques.

- Filtrer et saturer le filtrat avec l'acétate de sodium pulvérisé
- Ajouter quelques gouttes (1mL) de la solution de chlorure ferrique « FeCl<sub>3</sub> » (1%).

Le développement d'une teinte bleue noirâtre indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

### **II.3.2.4. Caractérisation des flavonoïdes**

- **Réaction à la cyanidine (Test de Shinoda)**

- A 5mL d'infusé, ajouter 5mL d'alcool chlorhydrique puis quelques copeaux de magnésium et 1mL d'alcool isoamylique.
- L'apparition d'une coloration rose-orangée (flavones) ou rose-violacée (flavanones) ou rouge (flavonols, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageant d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine).
- Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques.

La réaction est négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les aurones, les catéchines et les isoflavones.

- **Réaction à la soude**

- Pour la macération, 1 g de poudre des graines de brocoli est mis à macérer, pendant 24H dans 15mL d'acide chlorhydrique « HCl » (1%).
- Après filtration, 5mL du filtrat sont alcalinisés par la soude ou l'ammoniaque.

L'apparition d'une coloration jaune indique la présence de flavonoïdes.

## **II.4. DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUES**

### **II.4.1. Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage est effectué suivant les recommandations de **Cheok et al., 2013**

- **Principe**

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins. Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit dès 1965.

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

- **Mode opératoire**

- Un volume de 200 $\mu$ L de la solution mère d'acide gallique et l'extrait méthanolique des graines de brocoli est introduit dans des tubes à essai, 1mL du réactif de Folin Ciocalteu dilué 10 fois y est additionnée.
- Après un repos de 5min, on introduit 800 $\mu$ L de carbonate de sodium à 7,5%.
- Les tubes sont agités et conservés durant 30 minutes à la température ambiante.
- L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre SHIMADZU UV-1202.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/gr de matière sèche).

## **II.4.2. Dosage des tanins totaux**

La teneur en tanins totaux a été évaluée selon la méthode colorimétrique décrite par Polshettiwar et *al.* (2007).

- **Principe**

Le dosage est basé sur la réduction, en milieu alcalin, des acides phosphomolybdique et tungstique contenus dans le réactif de Folin-Denis (RFD).

La réaction donne une coloration bleue dont l'intensité est mesurée par spectrophotométrie à 755nm.

- **Mode opératoire**

- 0,5mL de RFD et 1mL de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,5%) ont été introduits dans une fiole jaugée.
- 100 $\mu\text{L}$  de la dilution de l'extraits méthanolique a été ajoutés.
- Le volume de la solution a été ajusté à 5mL par l'eau distillée.
- Après une incubation de 30 min, l'absorbance a été mesurée par un spectrophotomètre SHIMADZU UV-1202.

La teneur en tanins totaux a été déterminée par extrapolation sur une courbe d'étalonnage obtenue à partir d'une série de dilutions de l'acide tannique (SM 10mg/ml).

Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent acide tannique par gramme de matière végétale sèche (mg EAT/gr MS).

### **II.4.3. Dosage des flavonoïdes**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par **Zhishen, Mengcheng, et Jianming 1999** .

- **Principe**

Le dosage est basé sur la formation de complexes entre les flavonoïdes et le trichlorure d'aluminium. Les complexes produits, de couleur jaune, absorbent dans le visible à 510nm.

- **Mode opératoire**

- 500 $\mu\text{L}$  de l'extrait brut est mélangé avec 2ml d'eau distillée, et additionnés de 150 $\mu\text{l}$  de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) à 5%.
- Après 5min d'incubation, 100 $\mu\text{L}$  de trichlorure d'aluminium à 10% est rajouté au mélange.
- Après une nouvelle incubation de 6min, Ajouter 1mL de carbonate de sodium 1M.
- Le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu et l'absorbance de la solution est déterminée à 510nm contre un blanc.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la quercétine comme contrôle positif.

La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée en milligramme (mg) équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche (mg EQ/g MS).

## **II.5. EVALUATION DE QUELQUES ACTIVITES BIOLOGIQUES**

### **II.5.1. Evaluation de l'activité antioxydante**

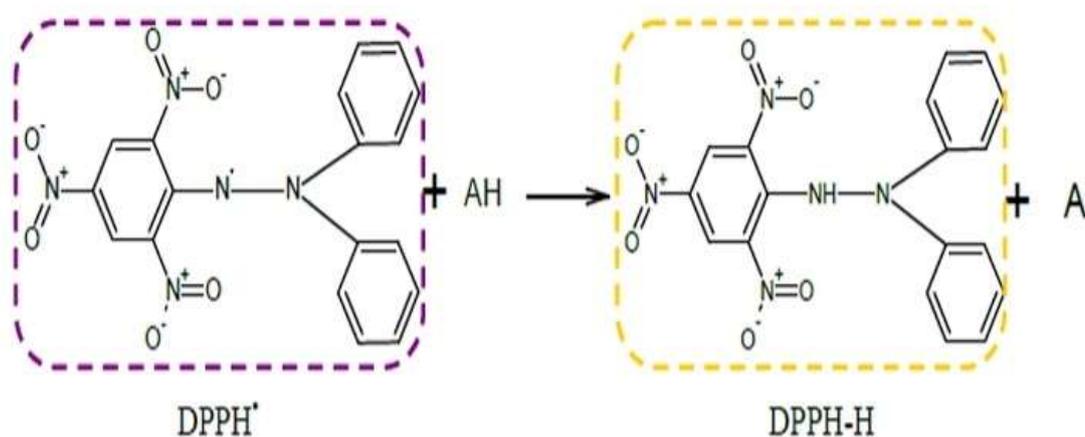
L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de piégeage du radical Diphénylpicrylhydrazyl (DPPH), selon les recommandations de (Boulila *et al.*, 2015).

- **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 24** : 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.

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.5.2. 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.5.3. 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.

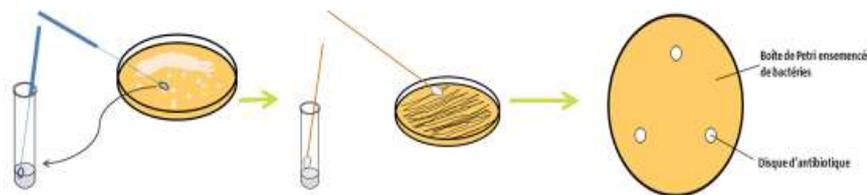
- **Mode opératoire**

#### **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 étéensemencées sur une surface gélosée sèche (gélose Mueller-Hinton liquéfiée, coulée et refroidie dans des boites de Pétri).
- Des disques stériles de papier (6 mm de diamètre) ont ensuite été placés puis imprégnés de 10µL d'extrait méthanolique.
- Les boites 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 25** : la méthode de diffusion sur disques « teste de sensibilité » (original)

**B- Détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'extraits 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 Mc Farland.
- 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 de la solution diluée d'extrait méthanolique des graines de brocoli, préparées dans le diméthylsulfoxyde « DMSO » (un solvant polaire organosulfuré), avec 100µl de Mueller Hinton liquide (MH liquide + 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.



# Résultats et Discussion

### **III.1. RESULTAT**

L'extraction de la poudre des graines de brocoli locale est réalisée par l'extracteur Soxhlet. L'extrait obtenu est de couleur marron foncé (**figure 26**).



**Figure 26 :** l'extrait méthanolique des graines de brocoli (**original**)

#### **III.1.1. Criblage phytochimique**

Nous avons effectué des tests phytochimique sur l'extrait méthanolique de grain de brocoli. Ces tests sont liés à la quantité de précipitation et à la coloration, qui sont proportionnelles à la quantité de substance recherchée

Les principaux groupes chimiques présents dans notre extrait des grains de brocoli sont regroupés dans le tableau I.

**Tableau I :** Criblage phytochimique de l'extrait des grains de brocoli

<b>Composés</b>	<b>Réactions</b>	<b>Extrait méthanolique des graines de brocoli</b>
<b>Alcaloïdes</b>	Réactif de Bouchardat	(++)
	Réactif de Dragendorff	(++)
	Réactif de Mayer	(++)
<b>Composés phénoliques</b>	Réactif chlorure ferrique	(+++)
<b>Anthocyanes</b>	Acidification Et alcalinisation	(+)
<b>Flavonoïdes</b>	Réaction à la cyanidine	(-)
	Test à la soude	(+)
<b>Tanins condensés (Tanins catéchiqes)</b>	Réaction de Bâte-Smith	(-)
<b>Tanins hydrolysables (Tanins galliques)</b>	Réaction de Stiasny	(+++)

L'analyse du tableau ci-dessous révèle les résultats suivants :

- Le réactif de Bouchardat, réactif de Dragendorff, réactif de Mayer sont des réactions moyennement positives avec le brocoli « ++ ». Cela montre que l'extrait des graines est riche en alcaloïdes.
- Les réactions au réactif chlorure ferrique et au réactif de Stiasny ont des réactions fortement positives avec les graines de brocoli « +++ ». Cette forte réactivité suggère que

notre extrait est riche en composés phénolique en particulier les Tanins hydrolysables ou Tanins galliques

- Le Test à la soude et l'Acidification et l'Alcalinisation sont des réactions faiblement positives avec le brocoli « + ».

La réaction de Bâte-Smith et la réaction à la cyanine sont des réactions négatives avec le brocoli « - ». Ces réactions confirment l'absence de composés phénoliques de type Tanins condensés ou catéchiques

Les résultats de *Screening phytochimique* pour la caractérisation des groupes chimiques présents dans l'extrait méthanolique des graines de brocoli ont mis en évidence la présence des alcaloïdes, de composés phénoliques, des Tannins Galliques et des Flavonoïdes.

### **III.1.2. Quantification de certains composés identifiés dans l'extrait des graines**

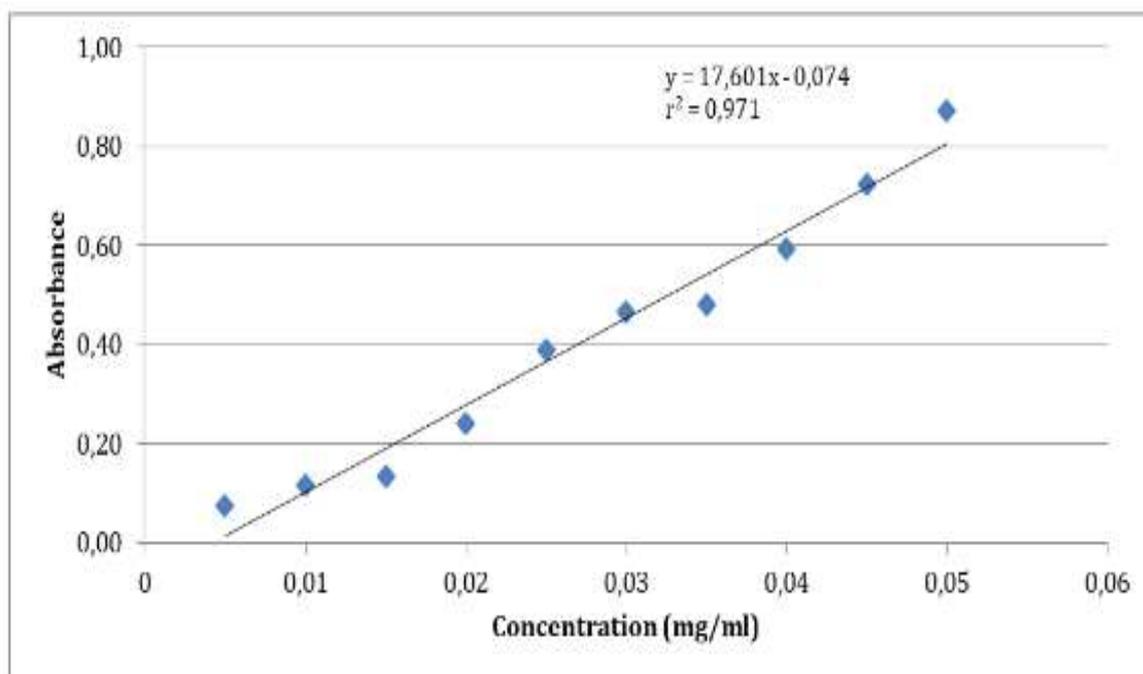
#### **III.1.2.1. Teneurs de l'extrait méthanolique des graines de brocoli en composés phénoliques**

Les analyses quantitatives des composés phénoliques de l'extrait méthanolique des graines de brocoli, sont déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage. Cette courbe est tracée en utilisant l'acide gallique (AG) comme standard.

La **figure 27**, représente la courbe d'étalonnage de la concentration de l'acide gallique (mg/ml) en fonction de l'absorbance (nm). Le résultat montre que plus la concentration de l'acide gallique est élevée, plus l'absorbance est importante.

L'absorbance enregistrée sera donc celle de la substance à doser (polyphénols totaux) dans l'extrait des graines de brocoli.

**L'équation standard de courbe est la suivante :  $Y = 17,601 x - 0,074$  ;  $r^2 = 0.971$ .**



**Figure 27** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques totaux.

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

L'estimation quantitative des polyphénols totaux montre que l'extrait méthanolique des graines de *Brassica oleracea* est riche en composés phénoliques. La teneur par gramme de matière sèche est obtenue à 0,578mg EAG /g MS d'extrait (Tableau II).

### **III.1.2.2. Teneurs de l'extrait méthanolique des graines de brocoli en tanins totaux**

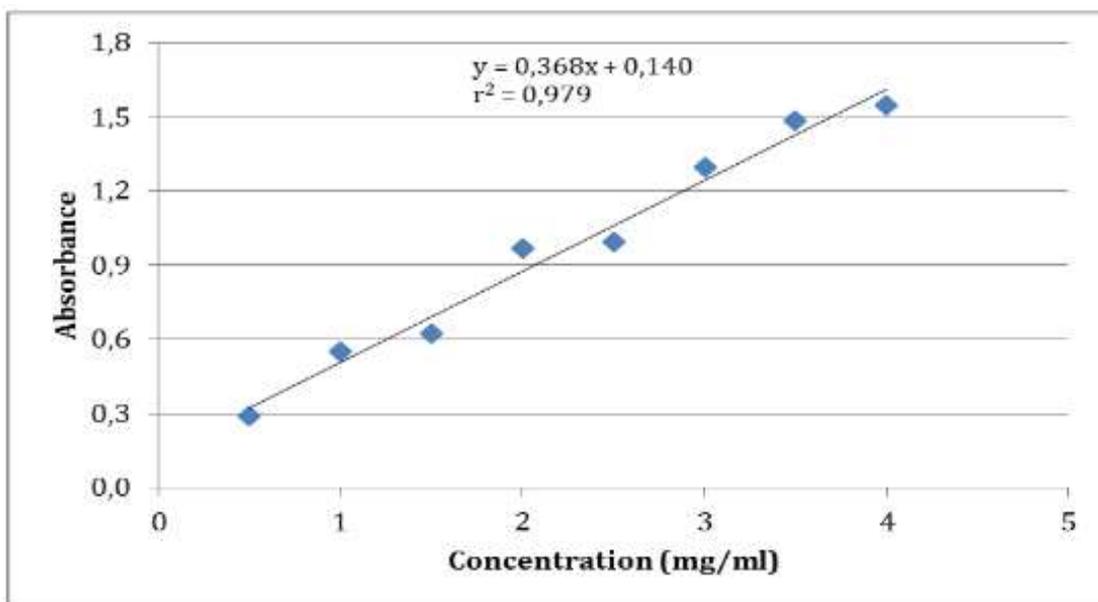
Les analyses quantitatives des tanins totaux de l'extrait méthanolique des graines de brocoli, sont obtenues à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage.

Cette dernière est tracée en utilisant l'acide tannique (AT) comme standard selon l'équation standard de la courbe :  $Y = 0.368 x + 0.140$  ;  $r^2=0.979$ .

La **figure 28**, représente la courbe d'étalonnage de la concentration de l'acide tannique (mg/ml) en fonction de l'absorbance (nm). Le résultat montre que la concentration de l'acide tannique augmente en fonction de l'absorbance.

L'absorbance enregistrée montre alors la présence des tanins totaux dans le brocoli.

La valeur en tanins totaux par gramme de matière sèche est obtenue à **1,278mg EAT/gr MS (Tableau II)**.



**Figure 28** : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour le dosage des tanins totaux.

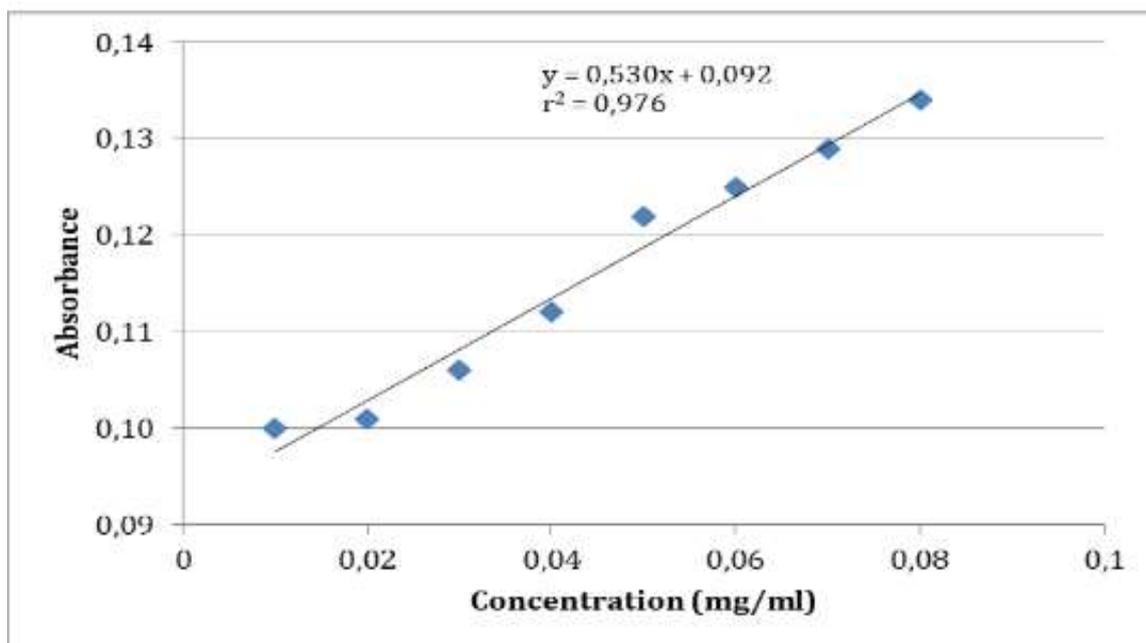
### **III.1.2.3. Teneurs des extraits méthanolique des graines de brocoli en flavonoïdes**

Les teneurs en flavonoïdes des extraits méthanolique des graines de brocoli, ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant la quercétine(Q) comme standard.

La **figure 29**, représente la courbe d'étalonnage de la concentration de la quercétine (mg/ml) en fonction de l'absorbance (nm). Nos résultats montrent que la concentration de la quercétine est proportionnelle avec l'absorbance. Ce qui prouve la présence des flavonoïdes dans les graines de brocoli.

**L'équation standard de courbe est décrite comme suit :  $Y = 0,530 x 0.092$  ;  $r^2 = 0.976$ .**

La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0– 40 µg/ml) et est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).



**Figure 29** : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes

Nous enregistrons une teneur de **2,586 mg EQ/gr MS** en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique des graines de brocoli (**Tableau II**).

**Tableau II** : Teneurs des extraits méthanolique de 1 gramme de graines de brocoli en polyphénols : les **composés phénoliques totaux, tanins et flavonoïdes**

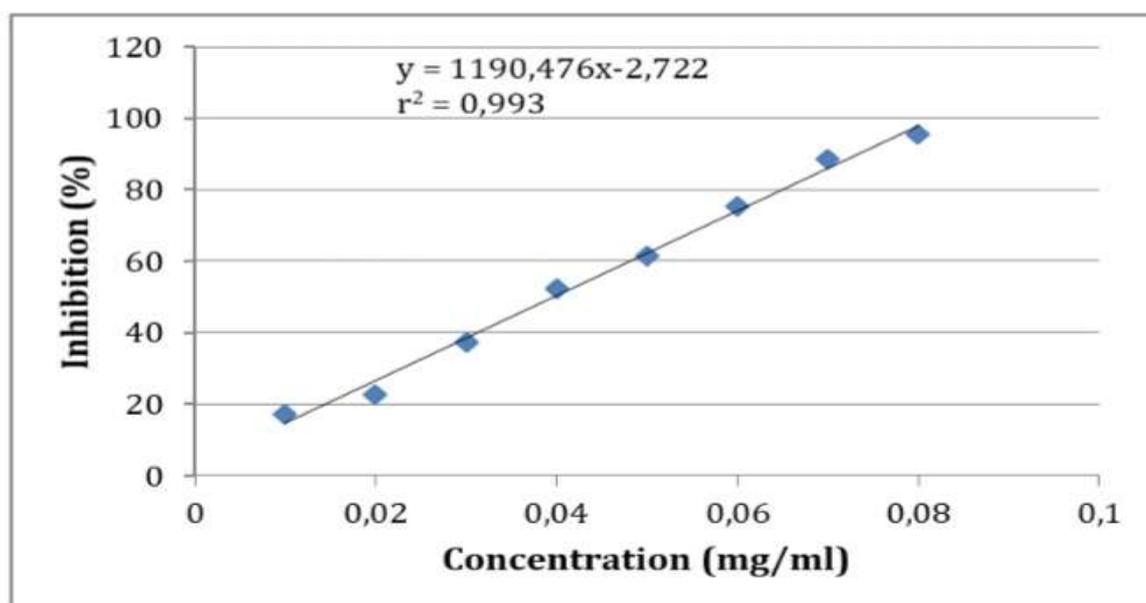
Paramètres	Teneur en	Extrait méthanolique des graines de brocoli
Composé phénoliques totaux	mg EAG / g MS	0,578
Tanins totaux	mg EAT /g MS	1,278
Flavonoïdes	mg EQ/g MS	2,586

**EAG** : équivalent d'acide gallique, **EAT** : équivalent d'acide tannique, **EQ** : équivalent de la quercétine ; **MS** : matière sèche.

### III.1.3. Evaluation de quelques activités biologiques

#### III.1.3.1. Détermination de l'activité antioxydante du brocoli

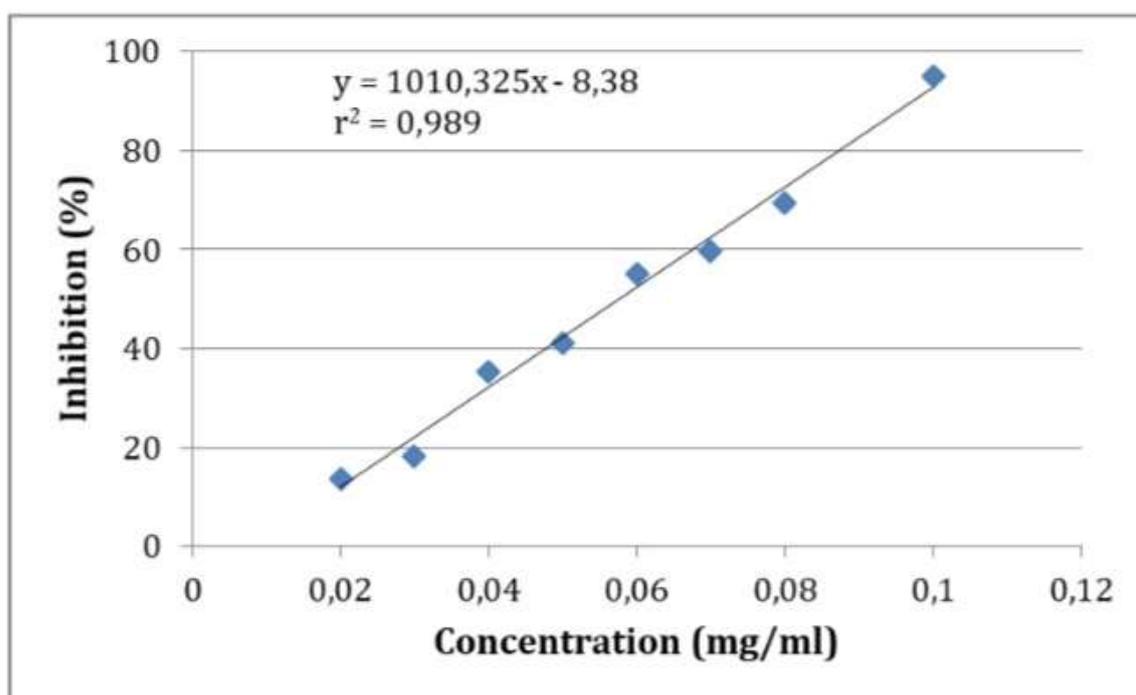
Afin de quantifier les molécules antioxydantes présentes dans l'extrait méthanolique des graines de *Brassica oleracea* var. Italica, nous avons utilisés l'acide ascorbique (Vitamine C) comme standard connu pour son excellente activité antioxydante. Nous avons tracé dans un premier temps la courbe d'étalonnage antioxydante (**Figure 30**). Cette courbe représente le pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique, les valeurs sont exprimées en mg/ml (**Tableau III**).



**Figure 30** : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique.

Nous avons tracé par la suite, la courbe illustrée sur la (**Figure 31**) qui représente le pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de notre extrait méthanolique. Les valeurs sont exprimées en mg/ml (**Tableau III**).

A différentes concentrations de l'antioxydant testé (Acide ascorbique, Extrait méthanolique), la cinétique de réduction du DPPH° est suivie au cours du temps



**Figure 31** : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique du brocoli.

La droite obtenue représente l'augmentation de l'absorbance du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique de brocoli. Ce qui suggère la présence de molécules antioxydantes. On observe une bonne linéarité de l'absorbance en fonction de la concentration.

La Détermination d'IC50 : Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de 50%, il est inversement lié à la capacité antioxydante.

L'IC50 est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

**Tableau 3** : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50% (IC50).

Espèce	Acide ascorbique	Brocoli
IC50 (mg/ml)	0.040	0.058

**IC** : Inhibitrice Concentration

Le tableau 3 montre que l'extrait méthanolique des graines de brocoli possède une activité antioxydante très importante de **0.058 mg/ml**, Ce résultat est proche de celui du standard (acide ascorbique) qui représente **0.040mg/ml**.

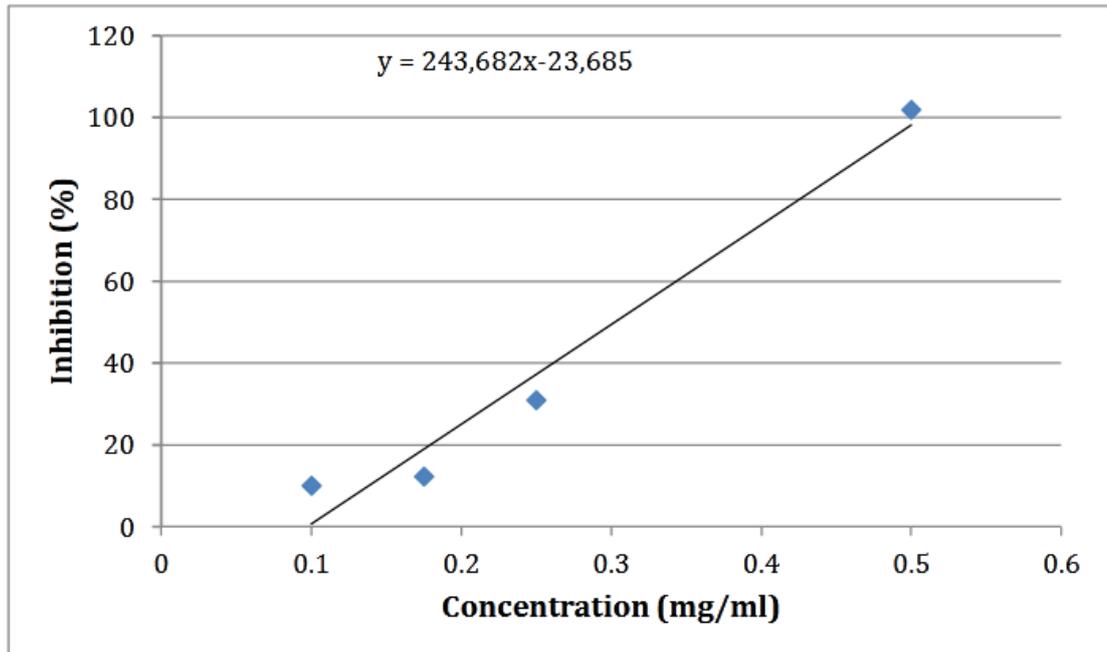
D'après ces résultats on prouve que l'acide ascorbique reste l'antioxydant le plus efficace par rapport à notre extrait méthanolique des graines de la plante étudiée. Cette activité semble être liée à la présence des composés phénoliques.

### **III.1.3.2. Détermination de l'activité anti-inflammatoire du Brocoli**

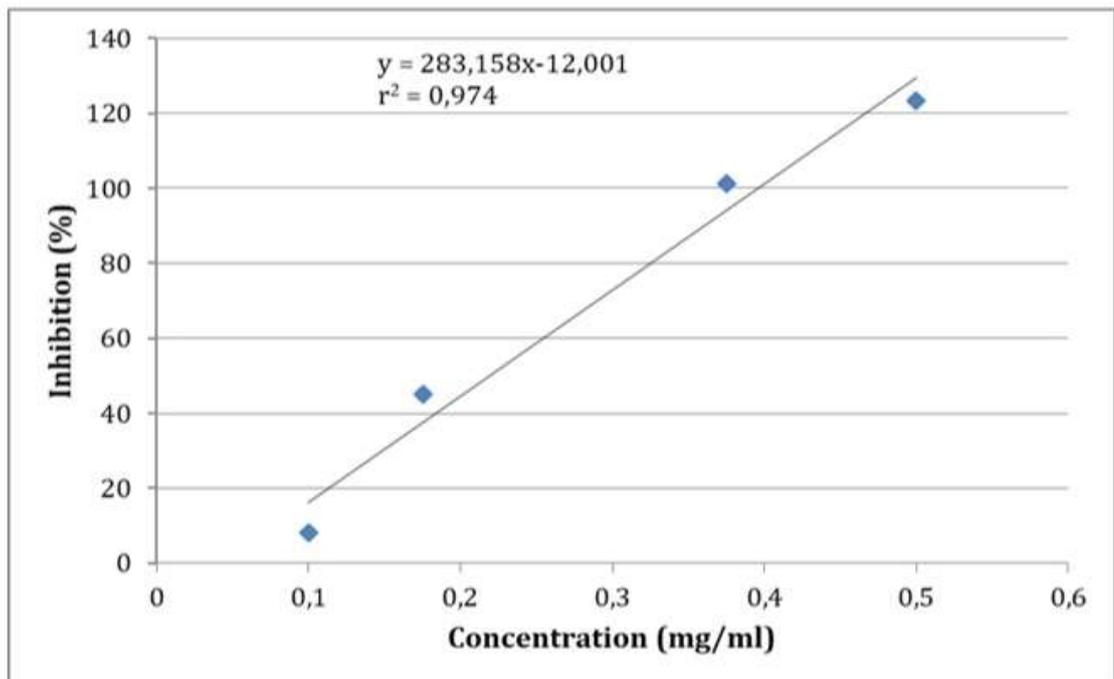
L'étude de l'activité anti-inflammatoire a pour objectif la vérification in vitro de l'effet anti-dénaturation induit par l'extrait méthanolique de *Brassica oleracea* dans l'albumine d'œuf

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des graines de brocoli, a été déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide acétylsalicylique « aspirine » comme standard.

Les résultats sont représentés dans **la figure 32, la figure 33 et le tableau IV**.



**Figure 32 :** Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines en fonction de la concentration de l'aspirine



**Figure 33 :** Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines en fonction de la concentration du brocoli.

La courbe d'étalonnage obtenue est bien linéaire ce qui suggère que notre extrait est doté d'une importante activité antiinflammatoire (**figure 36**).

L'équation de courbe est décrite comme suit :  $Y = 283,158x - 12,001$   $r^2 = 0,974$

Les résultats de l'activité anti- inflammatoire de *Brassica oleracea* sont représentés en comparaison avec l'aspirine (utilisé comme médicament de référence) et sont présentés sur le tableau ci-dessous (**Tableau IV**).

La concentration de l'extrait pour une inhibition de 50% des protéines (IC50) est déterminée par la courbe dose-réponse.

**Tableau IV : Les valeurs des concentrations inhibitrices à 50% (IC50)**

<b>Espèce</b>	<b>Aspirine</b>	<b>Brocoli</b>
<b>IC50 (mg/ml)</b>	0.302	0.219

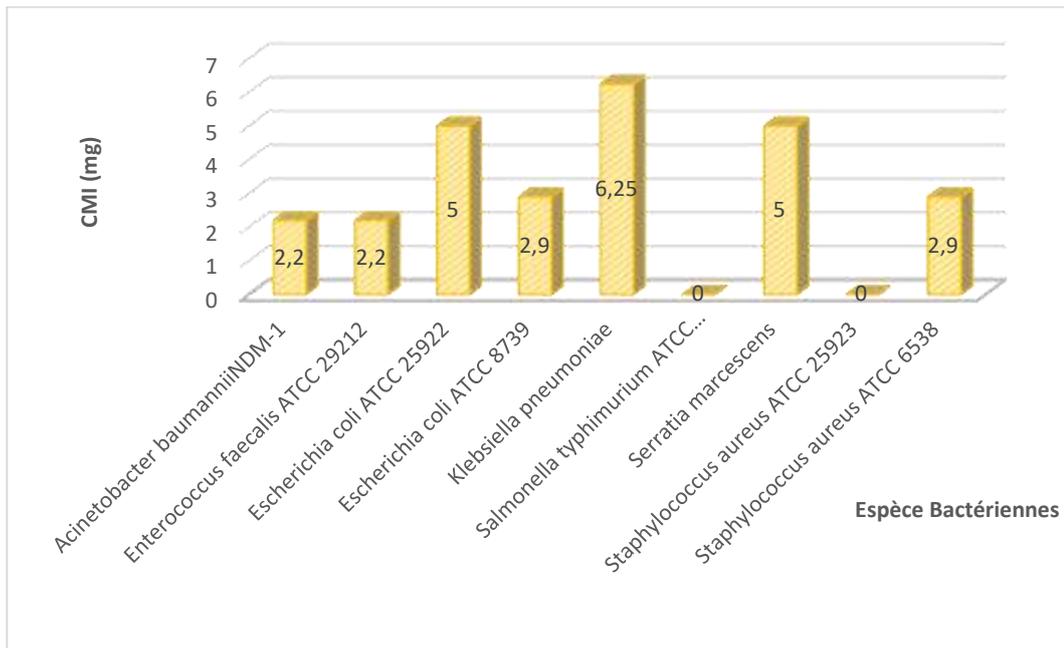
**IC** : Inhibitrice Concentration

L'extrait méthanolique des graines de brocoli possède une activité anti-inflammatoire qui représente **0.219 (mg/ml)**. Ce résultat est supérieur à celui du standard (acide acétylsalicylique) qui représente **0.302 (mg/ml)**.

### **III.1.3.3. Détermination de l'activité antibactérienne du Brocoli**

L'activité antibactérienne contre les microorganismes (souches bactériennes a gram positive et négative) a été évaluées qualitativement et quantitativement par la présence ou l'absence de diamètres de zone d'inhibition (IZD) et les valeurs de concentration minimale inhibitrice (MIC) par la méthode de diffusion de puits d'agar et la méthode de micro-dilution.

Dans notre étude l'activité antibactérienne de l'extrait des graines de brocoli a été réalisée, en mesurant la concentration minimale inhibitrice (CMI) seulement (**Figure 34**).



**Figure 34 :** Sensibilité et CMI (mg/ml) des souches bactériennes testées aux extraits méthanolique des graines de brocoli.

L'analyse des résultats de la sensibilité des souches bactériennes testées aux extraits méthanolique des graines de brocoli confirment que l'espèce végétale étudiée est douée de propriétés anti bactériennes.

Selon les résultats obtenus, il a été identifié que *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sont des bactéries **résistantes** aux extrait méthanolique du brocoli « R ».

Alors que pour la majorité des souches testées par l'extrait méthanolique des graines de brocoli montrent que ce dernier possède une activité antibactérienne plus importante, vis-à-vis *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Acinetobacter baumannii* NDM-1, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 avec des concentration minimale inhibitrice « CMI » de 6.25,5,5,2.9,2.9,2.2 et 2.2mg/ml, respectivement.

### **III.2. DISCUSSION**

Les résultats relatifs au criblage phytochimique de l'extrait méthanolique des graines de brocoli montre que *Brassica oleracea* est riche en métabolites secondaire tel que les alcaloïdes, les composés phénoliques, les tanins hydrolysables, flavonoïdes de type chalcones, dihydrochalcones, auronnes, catéchines ou isoflavones. Nous remarquons aussi l'absence des tanins catéchiqques.

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 des graines de brocoli dans l'extrait méthanolique des graines de brocoli.

Selon l'étude **G et al, en 2013** L'analyse phytochimique de l'extrait de brocoli a révélé 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 (flavonoïdes, tanins), 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 dans 10 lots rejetés des graines de brocoli et de résidus industriels de brocoli tels que les fleurons, les tiges et le mélange de fleurons et de tiges. La caractérisation et la quantification simultanées ont indiqué la présence de 12 glucosinolates (principalement de la glucoraphanine) et de 5 polyphénols dans les sous-produits du brocoli. La teneur en glucosinolates variait de 0,2 à 2% de matière sèche (MS), tandis que les polyphénols étaient inférieurs à 0,02% de MS.

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 méthanolique 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**.

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).

*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).

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).

Le pouvoir antioxydant des tannins est très remarquable due à leurs noyaux phénols et la présence des groupes di- ou tri-hydroxyles sur le cycle B et les groupes méta 5,7 di-hydroxyles sur le cycle A (Rahman et al., 2006).

Notre extrait méthanolique des graines de brocoli possède une activité anti-inflammatoire qui représente **0.219 (mg/ml)**. Ce résultat est supérieur à celui du standard utilisé (acide acétylsalicylique) qui représente **0.302 (mg/ml)**.

L'acide acétylsalicylique (l'aspirine) est préparée par synthèse chimique, il appartient à la famille des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) forment un groupe hétérogène des substances, qui exerce des effets anti-inflammatoires en diminuant la synthèse des prostaglandines par inhibition de la cyclo-oxygénase (COX)(**Vergne et al., 2000**).

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, notamment : hémorragie intestinale, des troubles digestifs, ou un antécédent d'ulcère (**Derrier et Mercatello 1997**).

Il est dès lors intéressant de savoir que la nature nous offre une foule de plantes médicinales, ceux-ci pourraient avoir moins d'effets secondaires néfastes.

Le brocoli est bien connu pour sa haute teneur en composés bioactives qui lui permet l'acquisition de l'activité anti-inflammatoire tels que l'acide acétylsalicylique, et les flavonoïdes notamment la quercétine (**Borowski et al., 2008**)

L'activité anti inflammatoire de brocoli ici puissante grâce à la présence de la quercétine. L'effets anti-inflammatoire de ce dernier implique plusieurs voies de signalisation (**Chirumbolo 2010**). Elle est désignée comme inhibitrice des médiateurs inflammatoires en modulant certaines enzymes tels que les prostaglandines et les lipoxygénases produites par les cyclooxygénases en réduisant ainsi les leucotriènes (**Xiao et al., 2011**). Ce polyphénol peut moduler l'activité des kinases impliquées dans les réponses inflammatoires comme la p38 et l'ERK (**Geraets et al., 2007**), ainsi que l'expression du facteur pro-inflammatoire des cytokines tumorales (TNF- $\alpha$ ), via l'inhibition du facteur de transcription NF- $\kappa$ B (**Chirumbolo 2010**), empêchant ensuite la stimulation de certaines interleukines inflammatoires tels qu'IL-1- $\beta$  (**Yoon et al., 2011**).

Les flavonoïdes jouent un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations (inhibant la lipoxygénases la phospholipase et la cyclo-oxygénase), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension (quercétine), des thromboses (flavonols), des allergies et des affections bactériennes et viraux (anti-HIV) (**NABILA, 2011**) .

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 $\beta$ , le TNF- $\alpha$ , l'oxyde nitrique (NO) et la prostaglandine E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) 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 $\kappa$ B (Heiss et al., 2001) ; (Moon et al., 2009) , (Lin et al., 2008) ;(Qin et al., 2018) ; (Ruhee et al., 2019); (Shan et al., 2010) ; (Woo et Kwon 2007).

Par conséquent, l'inhibition de l'activation de NF $\kappa$ B par le SFN est une approche importante pour prévenir des effets délétères.

Selon l'étude de Bahadoran et al, en 2013, montre que l'efficacité potentielle du sulforaphane dérivé des jeunes graines de brocoli a été confirmée comme une option de traitement viable pour le diabète de type 2. Ce dernier cible certains récepteurs activés par les proliférateurs de peroxysomes, qui contribuent à l'homéostasie du glucose dans des conditions d'hyperglycémie et l'oxydation.

Les effets de la poudre des grains de brocoli sur la résistance à l'insuline chez les patients diabétiques de type 2 ont été étudiés dans le cadre d'une nouvelle approche qui comprenait l'utilisation de ses constituants bioactifs (flavonoïdes, sulforaphane). Les résultats ont montré qu'une poudre des graines de brocoli contenant une forte concentration de sulforaphane peut réduire considérablement la concentration sérique d'insuline et prévenir les complications du diabète (Bahadoran et al., 2012).

Néanmoins, prises ensemble, le SFN qui joue un rôle protecteur contre la néphropathie diabétique dans des modèles animales et que son effet est médié par l'activation de Nrf2 (Zheng et al., 2011) ; (Wu et al., 2015).

Le sulforaphane en tant que stimulateur de Nrf2 exerce des effets rénoprotecteur 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

humain HK-2 avec ré-stimulation glycémique. Il atténuait aussi l'activation de p38 et PI3K/Akt473 (**Kim et al., 2019**).

De plus, le SFN a partiellement amélioré le débit sanguin rénal et l'O cortical et médullaire de tension, et réduit le niveau de ROS (**Thomas et al., 2018**).

Plusieurs études précliniques suggèrent que le SFN pourrait être une nouvelle thérapie potentielle pour les maladies rénales en stimulant la voie Nrf2. Le SFN est un composé néphroprotecteur majeur dérivé du brocoli, et le mécanisme néphroprotecteur peut être associé à la régulation du stress oxydatif et de l'inflammation (**Houghton et al., 2016**).

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 appréciées 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 (provoquant 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) (**Zuryń et al., 2016**).

Ces derniers sont capables d'inhiber la carcinogenèse. Ils inhibent en plus l'angiogenèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales (**Sharma et al., 2008**).

Le sulforaphane est utilisé comme complément alimentaire antioxydant. Il induit des enzymes de phase I et de phase II pour prévenir la carcinogenèse et présente également une action antitumorale en phase post-initiation suggérant des rôles supplémentaires dans la prévention du cancer (**Sm et al., 2015**).

Le sulforaphane prévient la neurodégénérescence et a ainsi son effet sur la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson (**Tarozzi et al., 2013**).

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.

**Le et al, en 2019** ont démontré in vitro que le brocoli exerce une bioactivités 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.

Selon **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*.

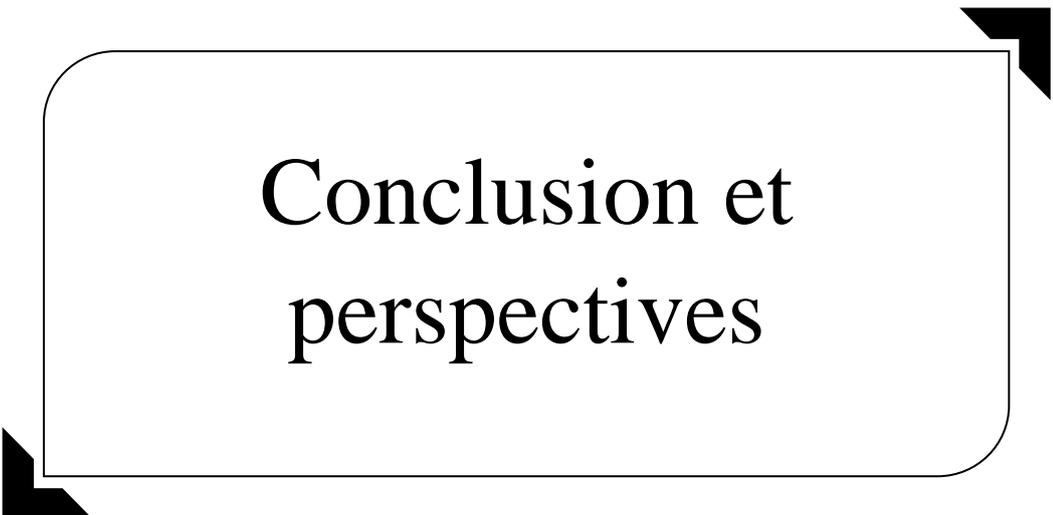
D'autre part Selon les résultats de ce dernier, les activités antimicrobiennes des fleurs et des tiges de brocoli ont été discutées au lieu des graines, cette étude a présenté que *B. subtilis* était sensible à l'extrait éthanolique des pousses de brocoli « ESB » à faible concentration (0,39 mg/ml) et 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 = 2.2 mg/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**).

D'après **Olaghier et al, en 2020** le ciblage de la voie Nrf2 a été considéré comme une approche prometteuse pour développer des traitements contre le COVID-19



# Conclusion et perspectives

## CONCLUSION

Les fleurons et les pousses de brocoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) ont acquis une reconnaissance en tant qu'aliments nutritifs. C'est une excellente source des minéraux, des vitamines, des protéines, des composés phytochimiques comme les phénols, les glucosinolates et leurs produits de dégradation.

Afin de pallier le manque de rapports scientifiques caractérisant les graines locales de *B. oleracea*, nous nous sommes intéressés par la valorisation de l'extrait méthanolique.

Le criblage phytochimique de l'extrait méthanolique des graines de brocoli a mis en évidence la présence des alcaloïdes, de composés phénoliques, des tanins galliques et des flavonoïdes. Les tests phytochimique révèlent l'absence des tanins condensés.

L'extrait méthanolique des graines a fait l'objet de dosages par g de matière sèche :

- La teneur en phénols totaux est de l'ordre de **0,578 mg** d'équivalent d'acide gallique.
- Le taux des tanins totaux est obtenu à **1,278 mg** d'équivalent d'acide tannique
- La concentration en flavonoïdes est estimée à **2,586 mg d'équivalent de** la quercétine

Nous avons évalué quelques activités biologiques des graines de *B. oleracea* :

- L'activité antibactérienne la plus importante de l'extrait des graines est enregistrée vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae* (CMI = **6,25 mg/ml**) suivis par *Serratia marcescens*, et *Escherichia coli* (CMI= **5mg/ml**). Cependant *Salmonella typhimurium* et *Staphylococcus aureus* sont des bactéries résistantes à l'extrait de brocoli.
- L'activité anti-inflammatoire, par la méthode de dénaturation des protéines, est plus importante pour les graines de brocoli que pour l'aspirine utilisé comme référence, avec respectivement des **CI50** de l'ordre de **0.219 mg/ml** et **0.302 mg/ml**.
- L'extrait des graines possède une activité anti radicalaire (DPPH) inférieure à celle enregistrée pour le standard. Cependant, l'activité antioxydante de brocoli est proche de celle de la vitamine C, avec respectivement IC50 à **0.058 mg /ml** et **0.040 mg/ml**.

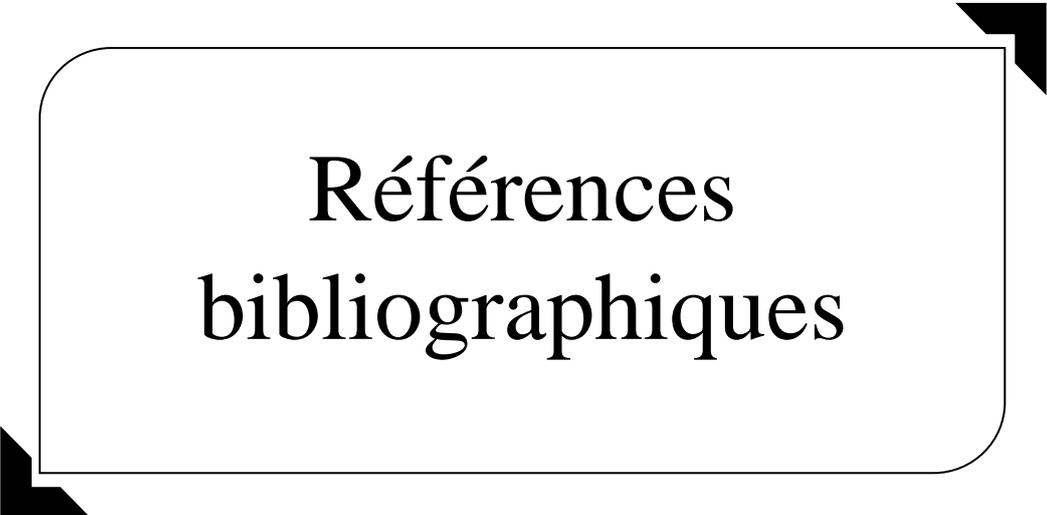
Les résultats obtenus rapportent que l'extrait des graines de brocoli peut avoir une efficacité contre certaines infections bactériennes. En raison de leur forte teneur en flavonoïdes et autres composés phénoliques, les graines peuvent convenir à de nombreuses

applications alimentaires et pharmacologique telles que l'encapsulation comme substitut aux antioxydants et anti-inflammatoire synthétiques.

Nos résultats suggèrent d'une part, que les graines de *B. oleracea* pourrait être une source des nouvelles molécules pharmacologiques ou dérivés semi-synthétiques et d'autre part, l'espèce pourrait avoir de nouveaux potentiels thérapeutique et prophylactique pour traiter ou prévenir certaines pathologies.

### **Quelques perspectives peuvent être mise en évidence à partir de notre recherche**

- Identifier et déterminer les concentrations en molécules actives dans des extraits de de tiges et des fleurs de *Brassica oleracea*.
- Révéler d'autre activités biologiques et potentiels phyto-thérapeutique des graines de brocoli, in vivo et in vitro, et identifier les biomolécules responsables.
- Il serait intéressant d'étudier les dérivés semi-synthétiques des composés phénoliques de brocoli à fin d'augmenter la biodisponibilité et l'effet pharmacologique.
- Etudier l'efficacité des biomolécules actives contre le cancer et les modes d'action moléculaires sous-jacents chez des modèles animaux.
- Penser à valoriser les biomolécules extraites des graines en combinaison avec d'autres substances actives pour un effet synergique plus efficace.
- Valorisation des graines de brocoli en vue de promouvoir d'autres applications dans les industries alimentaires et nutraceutiques, comme complément alimentaire
- Etudes cliniques, in vivo (sur des modèles animaux) en tant qu'agent chimio-préventif du cancer et de diabète.
- Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour explorer les fonctions biologiques non reconnues tels que les potentiels cardiovasculaires protecteurs, hépato protecteurs, neuroprotecteurs ou inhibiteurs d'enzymes.
- L'abondance relative de la glucoraphanine dans les sous-produits du brocoli a fait un matériau de départ prometteur pour la fabrication de compléments alimentaires à potentiels thérapeutique à partir des graines de brocoli.



Références  
bibliographiques

## 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.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

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

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

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.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

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 G<sub>2</sub>/M Arrest in Cervical Cancer Cells through CyclinB1 Downregulation and GADD45 $\beta$ /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 $\beta$  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>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/613661/tab/taxo))

Clément, K., C. Vaisse, N. Lahlou, S. Cabrol, V. Pelloux, D. Cassuto, M. Gourmelen, 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*

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

*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>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Fuente, Beatriz de la, Gabriel López-García, Vicent Mánéz, 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>.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- 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*

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

*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. Egger, 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. Üçpınar, 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"**

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

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](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- $\kappa$ 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

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

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>.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

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>.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

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 Thyrtsted, 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>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Pelaia, Corrado, Caterina Tinello, Alessandro Vatrella, Giovambattista De Sarro, et Girolamo Pelaia. 2020. « Poumon Attaqué Par La Tempête de Cytokines Induite Par Le COVID-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-KB 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-n-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.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

B., Hossain, M. A. (2006). A short history of brucellosis: special emphasis in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine* 4 (1), 1-6. » *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine* 4 (janvier). <https://doi.org/10.3329/bjvm.v4i1.1517>.

Raghunath, Azhwar, Kiruthika Sundarraj, Raju Nagarajan, Frank Arfuso, Jinsong Bian, Alan P. Kumar, Gautam Sethi, et Ekambaram Perumal. 2018. « Antioxidant Response Elements: Discovery, Classes, Regulation and Potential Applications ». *Redox Biology* 17:297-314. doi: 10.1016/j.redox.2018.05.002.

Rapa, Shara Francesca, Biagio Raffaele Di Iorio, Pietro Campiglia, August Heidland, et Stefania Marzocco. 2020. « Inflammation and Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease Potential Therapeutic Role of Minerals, Vitamins and Plant-Derived Metabolites ». *International Journal of Molecular Sciences* 21(1):263. doi: 10.3390/ijms21010263.

Ratajczak, Mariusz Z., Kamila Bujko, Andrzej Ciechanowicz, Kasia Sielatycka, Monika Cymer, Wojciech Marlicz, et Magda Kucia. 2021. « SARS-CoV-2 Entry Receptor ACE2 Is Expressed on Very Small CD45– Precursors of Hematopoietic and Endothelial Cells and in Response to Virus Spike Protein Activates the Nlrp3 Inflammasome ». *Stem Cell Reviews and Reports* 17 (1): 266-77. <https://doi.org/10.1007/s12015-020-10010-z>.

Rochette, Luc, Charles Guenancia, Aurélie Gudjoncik, Olivier Hachet, Marianne Zeller, Yves Cottin, et Catherine Vergely. 2015. « Anthracyclines/Trastuzumab: New Aspects of Cardiotoxicity and Molecular Mechanisms ». *Trends in Pharmacological Sciences* 36 (6): 326-48. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.03.005>.

Rokkas, Theodore, Panos Sechopoulos, Dimitrios Pistiolas, Georgios Margantinis, et Georgios Koukoulis. 2010. « Helicobacter Pylori Infection and Gastric Histology in First-Degree Relatives of Gastric Cancer Patients: A Meta-Analysis ». *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 22 (9): 1128-33. <https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e3283398d37>.

Rollin, Patrick, et Arnaud Tatibouët. 2011. « Glucosinolates: The Synthetic Approach ». *Comptes Rendus Chimie, Chimie et biochimie des hydrates de carbone - seconde partie*, 14 (2): 194-210. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2010.05.002>.

Roman, Juan, González, Inostroza, et Andrea Mahn. 2020. « Molecular Modeling of Epithiospecifier and Nitrile-Specifier Proteins of Broccoli and Their Interaction with Aglycones ». *Molecules* 25 (février): 772. <https://doi.org/10.3390/molecules25040772>.

Ruhee, Ruheea Taskin, Sihui Ma, et Katsuhiko Suzuki. 2019. « Sulforaphane Protects Cells against Lipopolysaccharide-Stimulated Inflammation in Murine Macrophages ». *Antioxidants (Basel, Switzerland)* 8 (12): E577. <https://doi.org/10.3390/antiox8120577>.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

Ruhee, Ruheea Taskin, Llion Arwyn Roberts, Sihui Ma, et Katsuhiko Suzuki. 2020. « Organosulfur Compounds: A Review of Their Anti-Inflammatory Effects in Human Health ». *Frontiers in Nutrition* 7: 64. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00064>.

Ruhee, Ruheea Taskin, et Katsuhiko Suzuki. 2020. « The Integrative Role of Sulforaphane in Preventing Inflammation, Oxidative Stress and Fatigue: A Review of a Potential Protective Phytochemical ». *Antioxidants* 9 (6): 521. <https://doi.org/10.3390/antiox9060521>.

### **"S"**

Sa, Khaleel, Raslan Na, Alzokaky Aa, Ewees Mg, Ashour Aa, Abdel-Hamied He, et Abd-Allah Ar. 2019. « Contrast Media (Meglumine Diatrizoate) Aggravates Renal Inflammation, Oxidative DNA Damage and Apoptosis in Diabetic Rats Which Is Restored by Sulforaphane through Nrf2/HO-1 Reactivation. » *Chemico-Biological Interactions* 309 (juin): 108689-108689. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.06.002>.

Saleh, Haidy A., Eman Ramdan, Mohey M. Elmazar, Hassan M. E. Azzazy, et Anwar Abdelnaser. 2021. « Comparing the Protective Effects of Resveratrol, Curcumin and Sulforaphane against LPS/IFN- $\gamma$ -Mediated Inflammation in Doxorubicin-Treated Macrophages ». *Scientific Reports* 11 (1): 545. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80804-1>.

Salehi, A., M. Ocampo, J. Verhaagen, et D. F. Swaab. 2000. « P75 Neurotrophin Receptor in the Nucleus Basalis of Meynert in Relation to Age, Sex, and Alzheimer's Disease ». *Experimental Neurology* 161 (1): 245-58. <https://doi.org/10.1006/exnr.1999.7252>.

Šamec, Dunja, Iva Pavlović, Ivana Radojčić Redovniković, et Branka Salopek-Sondi. 2018. « Comparative Analysis of Phytochemicals and Activity of Endogenous Enzymes Associated with Their Stability, Bioavailability and Food Quality in Five Brassicaceae Sprouts ». *Food Chemistry* 269 (décembre): 96-102. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.133>.

Santín-Márquez, Roberto, Adriana Alarcón-Aguilar, Norma Edith López-Diazguerrero, Niki Chondrogianni, et Mina Königsberg. 2019. « Sulforaphane - Role in Aging and Neurodegeneration ». *GeroScience* 41 (5): 655-70. <https://doi.org/10.1007/s11357-019-00061-7>.

Senanayake, Gamarallage V. K., Ali Banigesh, Lingyun Wu, Paul Lee, et Bernhard H. J. Juurlink. 2012. « The Dietary Phase 2 Protein Inducer Sulforaphane Can Normalize the Kidney Epigenome and Improve Blood Pressure in Hypertensive Rats ». *American Journal of Hypertension* 25 (2): 229-35. <https://doi.org/10.1038/ajh.2011.200>.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

Shan, Yujuan, Ruifang Zhao, Wei Geng, Na Lin, Xiaoxue Wang, Xiaoyan Du, et Shuran Wang. 2010. « Protective Effect of Sulforaphane on Human Vascular Endothelial Cells against Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Damage ». *Cardiovascular Toxicology* 10 (2): 139-45. <https://doi.org/10.1007/s12012-010-9072-0>.

Sharma, R. K., B. Singh, et A. Sahoo. 2008. « Exploring Feeding Value of Oak (*Quercus Incana*) Leaves: Nutrient Intake and Utilization in Calves ». *Livestock Science* 118 (1): 157-65. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.01.022>.

Shiva, Ram Bhandari, et Kwak Jung-Ho. 2014. « Seasonal variation in phytochemicals and antioxidant activities in different tissues of various Broccoli cultivars ». *African Journal of Biotechnology* 13 (4): 604-15. <https://doi.org/10.5897/AJB2013.13432>.

Silva, Ana Carolina Oliveira, Elidiane Fonseca Santana, Antonio Marcos Saraiva, Felipe Neves Coutinho, Ricardo Henrique Acre Castro, Maria Nelly Caetano Pisciotano, Elba Lúcia Cavalcanti Amorim, et Ulysses Paulino Albuquerque. 2013. « Which Approach Is More Effective in the Selection of Plants with Antimicrobial Activity » *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: ECAM* 2013:308980. doi: 10.1155/2013/308980.

Silva, Ana P. Sant'Anna da, Luís C. Nascimento da Silva, Caíque S. Martins da Fonseca, Janete M. de Araújo, Maria T. Dos Santos Correia, Marilene da Silva Cavalcanti, et Vera L. de Menezes Lima. 2016. « Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Organic Extracts from *Cleome Spinosa* Jacq ». *Frontiers in Microbiology* 7: 963. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00963>.

Silverman, Neal, et Tom Maniatis. 2001. « NF- $\kappa$ B Signaling Pathways in Mammalian and Insect Innate Immunity ». *Genes & Development* 15 (18): 2321-42. <https://doi.org/10.1101/gad.909001>.

Sm, de Figueiredo, Binda Ns, Nogueira-Machado Ja, Vieira-Filho Sa, et Caligiorne Rb. 2015. « The antioxidant properties of organosulfur compounds (sulforaphane) ». *Recent patents on endocrine, metabolic & immune drug discovery* 9 (1). <https://doi.org/10.2174/1872214809666150505164138>.

Su, Zheng-Yuan, Chengyue Zhang, Jong Hun Lee, Limin Shu, Tien-Yuan Wu, Tin Oo Khor, Allan H. Conney, Yao-Ping Lu, et Ah-Ng Tony Kong. 2014. « Requirement and Epigenetics Reprogramming of Nrf2 in Suppression of Tumor Promoter TPA-Induced Mouse Skin Cell-Transformation by Sulforaphane ». *Cancer Prevention Research (Philadelphia, Pa.)* 7 (3): 319-29. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-13-0313-T>.

Subedi, Lalita, KyoHee Cho, Yong Un Park, Hyuk Joon Choi, et Sun Yeou Kim. 2019. « Sulforaphane-Enriched Broccoli Sprouts Pretreated by Pulsed Electric Fields Reduces Neuroinflammation and Ameliorates Scopolamine-Induced Amnesia in Mouse Brain through Its Antioxidant Ability via Nrf2-HO-1 Activation ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2019:e3549274. doi: 10.1155/2019/3549274.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

Sumner, James B. 1926. « THE ISOLATION AND CRYSTALLIZATION OF THE ENZYME UREASE: PRELIMINARY PAPER ». *Journal of Biological Chemistry* 69(2):435-41. doi: 10.1016/S0021-9258(18)84560-4.

### **"T"**

Tanaka, Toru, Masami Kawase, et Satoru Tani. 2003. « Urease Inhibitory Activity of Simple  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Ketones ». *Life Sciences* 73 (23): 2985-90.  
[https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(03\)00708-2](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(03)00708-2).

Tannenberg, Rudi K., Heather L. Scott, Anthony E. G. Tannenberg, et Peter R. Dodd. 2006. « Selective Loss of Synaptic Proteins in Alzheimer's Disease: Evidence for an Increased Severity with APOE  $\epsilon$ 4 ». *Neurochemistry International* 49 (7): 631-39. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2006.05.004>.

Tarozzi, Andrea, Cristina Angeloni, Marco Malaguti, Fabiana Morroni, Silvana Hrelia, et Patrizia Hrelia. 2013. « Sulforaphane as a Potential Protective Phytochemical against Neurodegenerative Diseases ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2013: 415078. <https://doi.org/10.1155/2013/415078>.

Thomas, Minty. 2018. « Fabrication d'extraits Bioactifs Bénéfiques Pour La Santé et Riches En Glucoraphanine à Partir de Rejets Industriels de Brassica Oleracea (Brocoli) En Utilisant La Technologie Verte ». <https://corpus.ulaval.ca/jspui/handle/20.500.11794/35438>.

Thomas, Minty, Ashraf Badr, Yves Desjardins, Andre Gosselin, et Paul Angers. 2018. « Characterization of Industrial Broccoli Discards (Brassica Oleracea Var. Italica) for Their Glucosinolate, Polyphenol and Flavonoid Contents Using UPLC MS/MS and Spectrophotometric Methods ». *Food Chemistry* 245 (avril): 1204-11. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.021>.

Tung, Yu-Tang, Meng-Thong Chua, Sheng-Yang Wang, et Shang-Tzen Chang. 2008. « Anti-Inflammation Activities of Essential Oil and Its Constituents from Indigenous Cinnamon (Cinnamomum Osmophloeum) Twigs ». *Bioresource Technology* 99 (9): 3908-13. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.07.050>.

### **"U"**

Uddin, Md. Sahab, Anna Stachowiak, Abdullah Al Mamun, Nikolay T. Tzvetkov, Shinya Takeda, Atanas G. Atanasov, Leandro B. Bergantin, Mohamed M. Abdel-Daim, et Adrian M. Stankiewicz. 2018. « Autophagy and Alzheimer's Disease: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Implications ». *Frontiers in Aging Neuroscience* 10. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnagi.2018.00004>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### "V"

Vallejo, Fernando, F. A. Tomás-Barberán, et C. García-Viguera. 2002. « Potential Bioactive Compounds in Health Promotion from Broccoli Cultivars Grown in Spain ». *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82(11):1293-97. doi: 10.1002/jsfa.1183.

Vergne, P., P. Bertin, et R. Trèves. 2000. « Aspirine, douleurs et inflammation ». *La Revue de Médecine Interne* 21 (mars): S89-96. [https://doi.org/10.1016/S0248-8663\(00\)88730-5](https://doi.org/10.1016/S0248-8663(00)88730-5).

Villaño, Débora, Maria Teresa López-Chillón, Pilar Zafrilla, et Diego A. Moreno. 2019. « Bioavailability of Broccoli Sprouts in Different Human Overweight Populations ». *Journal of Functional Foods* 59 (août): 337-44. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.05.052>.

Villaño, Débora, Maria Teresa López-Chillón, Pilar Zafrilla, et Diego A. Moreno. 2019. « Bioavailability of Broccoli Sprouts in Different Human Overweight Populations ». *Journal of Functional Foods* 59:337-44. doi: 10.1016/j.jff.2019.05.052.

### "W"

Wei, Liyang, Jinjin Wang, Ling Yan, Shanshan Shui, Lei Wang, Wenxiu Zheng, Shuai Liu, Changhong Liu, et Lei Zheng. 2020. « Sulforaphane Attenuates 5-Fluorouracil Induced Intestinal Injury in Mice ». *Journal of Functional Foods* 69 (juin): 103965. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103965>.

WHO Consultation on Obesity (1997: Geneva, Switzerland), World Health Organization Division of Noncommunicable Diseases, et Family and Reproductive Health World Health Organization. Programme of Nutrition. 1998. « Obesity : Preventing and Managing the Global Epidemic : Report of a WHO Consultation on Obesity, Geneva, 3-5 June 1997 ». WHO/NUT/NCD/98.1. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/63854>.

Woo, Kyung Jin, et Taeg Kyu Kwon. 2007. « Sulforaphane Suppresses Lipopolysaccharide-Induced Cyclooxygenase-2 (COX-2) Expression through the Modulation of Multiple Targets in COX-2 Gene Promoter ». *International Immunopharmacology* 7 (13): 1776-83. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2007.09.018>.

Wu, Hao, Lili Kong, Yanli Cheng, Zhiguo Zhang, Yangwei Wang, Manyu Luo, Yi Tan, Xiangmei Chen, Lining Miao, et Lu Cai. 2015. « Metallothionein Plays a Prominent Role in the Prevention of Diabetic Nephropathy by Sulforaphane via Up-Regulation of Nrf2 ». *Free Radical Biology & Medicine* 89 (décembre): 431-42. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.08.009>.

Wu, Lingyun, M. Hossein Noyan Ashraf, Marina Facci, Rui Wang, Phyllis G. Paterson, Alison Ferrie, et Bernhard H. J. Juurlink. 2004. « Dietary approach to attenuate oxidative stress, hypertension, and inflammation in the cardiovascular system ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (18): 7094-99. <https://doi.org/10.1073/pnas.0402004101>.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

### **"X"**

Xu, Liang, Naoto Nagata, et Tsuguhito Ota. 2018. « Glucoraphanin: A Broccoli Sprout Extract That Ameliorates Obesity-Induced Inflammation and Insulin Resistance ». *Adipocyte* 7 (3): 218-25. <https://doi.org/10.1080/21623945.2018.1474669>.

### **"Y"**

Yang, Ming, Haiyong Wang, Mo Zhou, Weilin Liu, Pengqun Kuang, Hao Liang, et Qipeng Yuan. 2016. « The Natural Compound Sulforaphene, as a Novel Anticancer Reagent, Targeting PI3K-AKT Signaling Pathway in Lung Cancer ». *Oncotarget* 7 (47): 76656-66. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12307>.

Yang, Runqiang, Qianru Hui, Zhenxin Gu, Yulin Zhou, Liping Guo, Chang Shen, et Wenhua Zhang. 2016. « Effects of CaCl<sub>2</sub> on the Metabolism of Glucosinolates and the Formation of Isothiocyanates as Well as the Antioxidant Capacity of Broccoli Sprouts ». *Journal of Functional Foods* 24 (juin): 156-63. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.04.007>.

Yang, Wen, Yue Liu, Qing-Qing Xu, Yan-Fang Xian, et Zhi-Xiu Lin. 2020. « Sulforaphene Ameliorates Neuroinflammation and Hyperphosphorylated Tau Protein via Regulating the PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  Pathway in Experimental Models of Alzheimer's Disease ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2020 (septembre): e4754195. <https://doi.org/10.1155/2020/4754195>.

Yuanfeng, Wu, Lv Chengzhi, Zou Ligen, Sun Juan, Song Xinjie, Zhang Yao, et Mao Jianwei. 2021. « Approaches for Enhancing the Stability and Formation of Sulforaphane ». *Food Chemistry* 345 (mai): 128771. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128771>.

### **"Z"**

Zeng, Fan, Jian-Jun Lu, Xin-Fu Zhou, et Yan-Jiang Wang. 2011. « Roles of P75NTR in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease: A Novel Therapeutic Target ». *Biochemical Pharmacology, Cell Signalomics* 2011: Integrated cellular pathology - Systems biology of human disease, 82 (10): 1500-1509. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2011.06.040>.

Zhang, Jingzhu, Rui Zhang, Zhipeng Zhan, Xinhui Li, Fuyuan Zhou, Aiping Xing, Congmin Jiang, Yanqiu Chen, et Li An. 2017. « Beneficial Effects of Sulforaphane Treatment in Alzheimer's Disease May Be Mediated through Reduced HDAC1/3 and Increased P75NTR Expression ». *Frontiers in Aging Neuroscience* 9. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnagi.2017.00121>.

Zhang, Yuesheng, et Li Tang. 2007. « Discovery and Development of Sulforaphane as a Cancer Chemopreventive Phytochemical ». *Acta Pharmacologica Sinica* 28 (9): 1343-54. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7254.2007.00679.x>.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

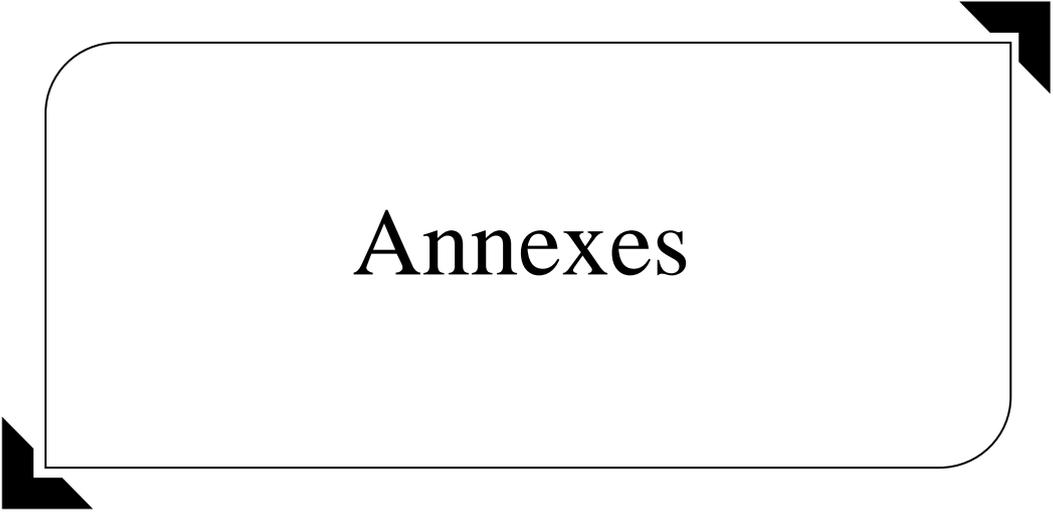
Zhang, Zhiguo, Shudong Wang, Shanshan Zhou, Xiaoqing Yan, Yonggang Wang, Jing Chen, Nicholas Mellen, et al. 2014. « Sulforaphane prevents the development of cardiomyopathy in type 2 diabetic mice probably by reversing oxidative stress-induced inhibition of LKB1/AMPK pathway ». *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 77 (décembre): 42-52. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2014.09.022>.

Zheng, Hongting, Samantha A. Whitman, Wei Wu, Georg T. Wondrak, Pak K. Wong, Deyu Fang, et Donna D. Zhang. 2011. « Therapeutic Potential of Nrf2 Activators in Streptozotocin-Induced Diabetic Nephropathy ». *Diabetes* 60 (11): 3055-66. <https://doi.org/10.2337/db11-0807>.

Zhishen, Jia, Tang Mengcheng, et Wu Jianming. 1999. « The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals ». *Food Chemistry*, mars. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2).

Żuryń, Agnieszka, Anna Litwiniec, Barbara Safiejko-Mroczka, Anna Klimaszewska-Wiśniewska, Maciej Gagat, Adrian Krajewski, Lidia Gackowska, et Dariusz Grzanka. 2016. « The Effect of Sulforaphane on the Cell Cycle, Apoptosis and Expression of Cyclin D1 and P21 in the A549 Non-Small Cell Lung Cancer Cell Line ». *International Journal of Oncology* 48 (6): 2521-33. <https://doi.org/10.3892/ijo.2016.3444>.

Zussman, Jamie, Jennifer Ahdout, et Jenny Kim. 2010. « Vitamins and Photoaging : Do Scientific Data Support Their Use? » *Journal of the American Academy of Dermatology* 63 (3): 507-25. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2009.07.037>.



# Annexes

## ANNEXES

**Annexe1 :**



**Figure 35 : Les graines de Brocoli.**



**Figure 36 : Poudre des graines de brocoli.**

## ANNEXES

### **Annexe 02 :**

**Tableau V : Matériel non Biologique.**

Appareillages	Matériels et verreries	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"><li>- Bain -marie</li><li>- Détecteur UV</li><li>- Erlenmeyer</li><li>- Spectrométrie SHIMADZU UV -1202</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Boîte Pétri</li><li>- Disque De Papier Stériles</li><li>- Ecuillon Stérile</li><li>- Entonnoir</li><li>- Fiole Jaugées</li><li>- Micro-tube</li><li>- Tube à essai</li><li>- Tube Stérile</li><li>- Verre De Montre</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Acétate De Sodium</li><li>- Acide gallique</li><li>- Acide sulfurique</li><li>- Acide Tannique</li><li>- Acide-Acétysalicylique</li><li>- Alcool Amylique Ou Isoamylique</li><li>- Alcool Chlorhydrique</li><li>- Bouchardât</li><li>- Carbonate De Sodium</li><li>-Carbonate De Sodium (- Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)</li><li>-DMSO</li><li>-Dragendorff</li><li>- Eau Bouillante</li><li>- Eau Chaud eau - physiologique</li><li>- Eau Distille-tampon PBS</li><li>-FeCl<sub>3</sub></li><li>- Folin Ciocalteu</li><li>-Folin –Denis (RFD)</li><li>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></li><li>-HCL</li><li>-Magnesium</li><li>- Mayer</li><li>- Méthanol</li><li>- Muller-Hinton Liquide</li><li>- NH<sub>4</sub>OH</li><li>- Nitrite de sodium (NANO<sub>2</sub>)</li><li>- DPPH</li></ul>

## ANNEXES

		<ul style="list-style-type: none"><li>- la Soude Ou Ammoniaque</li><li>- Stiasny</li><li>- Trichlorure d'aluminium</li></ul>
--	--	--

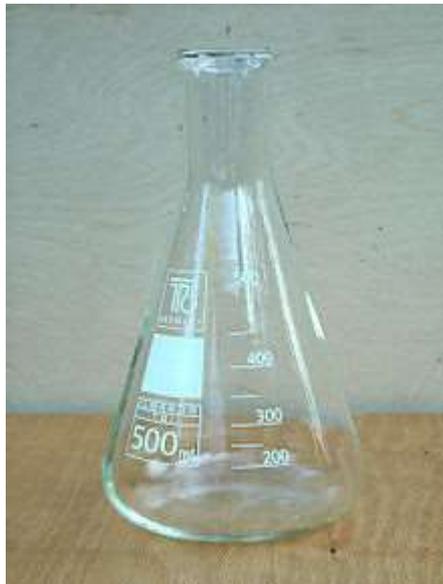


**Figure 37 : Sachées sous vide.**

## ANNEXES



**Figure 38 : Broyeuse électrique (3kg).**



**Figure 39 : Erlenmeyer.**

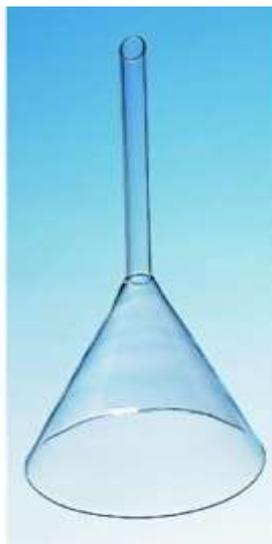


**Figure 40 : Bain Marie.**

## ANNEXES



**Figure 41 : Fiole Jugée.**



**Figure 42 : Entonnoire.**



**Figure 43 : Dragondroff.**



**Figure 44 : Acide sulfurique.**

## ANNEXES



**Figure 45 : Mayer.**



**Figure 46 : Acétate de Sodium.**



**Figure 47 : Acide Chlorhydrique.**



**Figure 48 : Folin Ciocalteu**

## ANNEXES



**Figure 49** : Acide Tannique.



**Figure 50** : Acide Salicylique.



**Figure 51** : DPPH.



**Figure 52** : Spectrométrie SHIMAD.

## ANNEXES

### Annexe 03 :

**Tableau VI : Sensibilité et CMI (mg/ml) des souches bactériennes testées aux extraits méthanolique des graines de brocoli.**

Espèce bactérienne	Gram	Brocoli CMI (mg/ml)
<i>Acinetobacter baumannii</i> NDM-1	Négatif	2.2
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Positif	2.2
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Négatif	5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Négatif	2.9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Négatif	6.25
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Négatif	R
<i>Serratia marcescens</i>	Négatif	5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Positif	R
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Positif	2.9