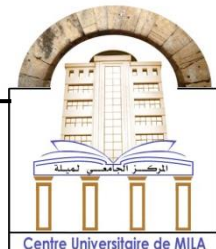


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

Etude d'un antioxydant naturel : Aspects physiologiques et pharmacologiques

Présenté par :

- BOUDAUDI Nassima
- BENCHEKHCHOUKH Imane
- DOUIBI Amina

Devant le jury :

Présidente : Dr. Manallah Ahlem

Centre.Univ.A.Boussouf - Mila

Examinatrice : Dr. GHOUT Agha

Centre.Univ.A.Boussouf – Mila

Promoteur : Dr. BOUHALI Imed Eddine

Centre.Univ.A.Boussouf – Mila

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciement

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volenté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de **Dr.Bouhali Imed Eddine**, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous remercions par ailleurs vivement les membres du jury de nous avoir fait l'honneur de juger notre travail, **Dr.Ghout Aghena** pour avoir accepté d'examiner le travail et **Dr.Manallah Ahlem** d'avoir accepté de présider le jury.

ملخص

أظهرت مركبات الفلافونويد كجزيئات طبيعية نتائج واعدة بشكل خاص في تطوير الأغذية والأدوية. من بين الفلافونويدات التي حظيت باهتمام الباحثين وكذلك اهتمامنا الأجنبيين وهو فلافون ينحدر من الفلافونويدات إحدى فئات متعددة البوليفينول. يعرف كيميائياً باسم 4، 5، 7 - ثلاثي هيدروكسي ، فلافون. يتم تصنيع هذا المستقلب الثانوي خلال منهج الشيكيميك انطلاقاً من مستقلبات أولية من مصدر سكري. يستخلص من عدة أنواع نباتية مثل البقدونس، البابونج، الثوم، الكرّز والعنب. تتم عملية الاستخلاص الاعتيادية باستعمال المذيبات العضوية، وقد تم ابتكار طرق جديدة لتحسين عملية الاستخلاص مثل تقنية الاستخلاص بالمياه دون الحرج. بعد عمليتي الاستخلاص والتنقية يحصل الأجنبيين في شكل مسحوق بلوري أصفر غير قابل للذوبان في الماء ولكنه قابل للذوبان في المذيبات العضوية، مما يحد من امتصاصه.

يتصف الأجنبيين بالعديد من الفعاليات الدوائية، بما في ذلك مفعوله كمضاد للأكسدة ومضاد للالتهابات. في هذا العمل، أجرينا بحثاً شاملاً من خلال أبحاث مختلفة بهدف إظهار تأثير الأجنبيين كمضاد للأكسدة ومضاد للالتهابات في العديد من الأمراض بما في ذلك الأمراض الانتكاسية العصبية، الأمراض الالتهابية، أمراض القلب والأوعية الدموية، السرطان، والتسمات المختلفة؛ من خلال تقييم بعض المؤشرات الحيوية للإجهاد التأكسدي MDA ، SOD ، GSH ، CAT ، GPX، وبعض المؤشرات الحيوية للالتهاب: IL-10 ، IL-8 ، IL-6 ، IL-1β ، TNFα ، 2NOS ، COX-i ، PGE-2 . كشفت الدراسات عن ارتفاع نسبة العوامل المضادة للأكسدة SOD ، GSH ، GPX والعوامل المضادة للالتهاب IL-8 ، IL-6 ، IL-1α ، iNOS ، COX-2 ، PGE-2 أو/و انخفاض نسبة العوامل المسببة للأكسدة MDA و التهاب IL-10 المصاحبة للعلاج أو المعالجة المسبقة بالأجنبيين. مما يؤكد التأثير الوقائي والعلاجي للأجنبيين في إطار الإجهاد التأكسدي والالتهاب.

الكلمات المفتاحية: الأجنبيين ، الإجهاد التأكسدي ، مضاد الأكسدة ، الالتهاب ، مضاد الالتهاب.

Résumé

Les flavonoïdes se sont révélés particulièrement prometteurs en tant que molécules naturelles dans l'alimentation ou le développement de médicaments. Parmi les flavonoïdes, celui qui a retenu l'attention de chercheurs et nous est l'apigénine, C'est une flavone descendant des flavonoïdes une classe des polyphénols, chimiquement il est connue sous le nom de 4', 5, 7,-trihydroxy-flavone. Ce métabolite secondaire est synthétisé par voie de l'acide shikimique à partir des métabolites primaires, carbohydrates. Il est extrait de nombreuses espèces végétales tel que : le persil, la camomille, l'ail ,les cerises et les raisins. L'extraction éventuelle de l'apigénine se fait par solvants organiques, cependant des méthodes d'amélioration sont inventées comme l'extraction d'eau sous-critique. Après extraction et purification l'apigénine et retenu sous forme d'une poudre cristalline jaune insoluble dans l'eau mais soluble dans les solvants organiques ce qui limite son absorption.

De nombreuses activités pharmacologiques, notamment antioxydants et antiinflammatoires, sont attribuées à l'apigénine. Dans ce travail, une recherche bibliographique étendue dans différents basée sur plusieurs recherches. Notre objectif est de montrer l'effet antioxydant et anti-inflammatoire de l'apigénine dans de nombreuses pathologies y compris les maladies neurodégénératives, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires, le cancer, les divers intoxications, en évaluant des biomarqueurs de stress oxydant, MDA, SOD, GSH, GPX, CAT et des biomarqueurs d' inflammation , IL-6, IL-1 β , TNF α , iNOS, COX-2, PGE-2, IL-8, IL10.

Les études révèlent une augmentation des facteurs antioxydants, SOD, GSH, GPX, CAT et des facteurs anti-inflammatoires IL-6, IL-1 β , TNF α , iNOS, COX-2, PGE-2, IL-8, et/ou une diminution des facteurs pro-oxydants, MDA et des facteurs pro-inflammatoire IL10 associée au traitement ou prétraitement par l'apigénine. Ceci confirme l'effet préventif et curatif de l'apigénine dans le contexte du stress oxydatif et inflammation.

Mots clés : Apigénine, stress oxydatif, antioxydant, inflammation, anti-inflammatoire

Abstract

Flavonoids have shown particular promise as natural molecules in food or drug development. Among the flavonoids, the one that caught the attention of researchers and us is apigenin, it is a flavone descending from flavonoids a class of polyphenols, chemically it is known under the name of 4', 5, 7, - trihydroxy -flavone. This secondary metabolite is synthesized via shikimic acid from primary metabolites, carbohydrates. It is extracted from many plant species such as: parsley, chamomile, garlic, cherries and grapes. The possible extraction of apigenin is done by organic solvents, however, improvement methods are invented such as subcritical water extraction. After extraction and purification the apigenin is retained in the form of a yellow crystalline powder insoluble in water but soluble in organic solvents which limits its absorption.

Many pharmacological activities, including antioxidant and anti-inflammatory, are attributed to apigenin. In this work, an extensive bibliographic research in different bases on several searches. Our objective is to show the antioxidant and anti-inflammatory effect of apigenin in many pathologies including neurodegenerative diseases, inflammatory diseases, cardiovascular diseases, cancer, various intoxications, by evaluating biomarkers of oxidative stress, MDA, SOD, GSH, GPX, CAT and inflammation biomarkers, IL-6, IL-1 β , TNF α , iNOS, COX-2, PGE-2, IL-8, IL10.

Studies reveal an increase in antioxidant factors, SOD, GSH, GPX, CAT and anti-inflammatory factors IL-6, IL-1 β , TNF α , iNOS, COX-2, PGE-2, IL-8, and/or a decrease in pro-oxidant factors, MDA and pro-inflammatory factors IL10 associated with treatment or pre-treatment with apigenin. This confirms the preventive and curative effect of apigenin in the context of oxidative stress and inflammation.

Key words: Apigenin, oxidative stress, antioxidant, inflammation, anti-inflammatory

Liste des figures

Numéro de figure	Titre	Page
01	Structure de l'apigénine.	02
02	Exemples d'alcaloïdes, principaux types structuraux.	04
03	Les sous classes de flavonoïdes.	09
04	La filiation de l'apigénine.	09
05	Biosynthèse de l'apigénine et de ses dérivés.	11
06	Principaux aliments contenant de l'apigénine.	12
07	Diagramme schématique du système d'extraction à l'eau sous-critique.	15
08	Isolement de l'apigénine à partir d'extraits aqueux sous-critiques.	15
09	L'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination de l'apigénine.	19
10	La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.	31
11	Sources des radicaux libres.	31
12	Conséquences des ERO sur les molécules biologiques.	32
13	Elimination des radicaux libres par la vit.E, la vit.C et le glutathion.	37
14	Cibles enzymatiques anti oxydantes de l'apigénine au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel.	42
15	Les trois étapes de la traversée de l'endothélium par les leucocytes.	50
16	Actions sur la cellule inflammatoire et conséquences.	53
17	Les cytokines anti et pro-inflammatoires.	55
18	Rôle possible de l'apigénine dans l'induction d'un effet anti-inflammatoire en modulant l'expression de cytokines et d'autres molécules inflammatoires au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel.	64

Liste des tableaux

Numéro du tableau	Titre	Page
01	Classification des terpénoïdes, formules brutes correspondant aux formes hydrocarbonés linéaires possédant un nombre d'insaturation égal au nombre d'unités isoprènes plus 1	05
02	Les principales chimiothérapies et/ou médicaments de support métabolisés par les enzymes clés du CYP inhibées par l'apigénine, dans le cadre du cancer	22
03	Origine des espèces réactives de l'oxygène. Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées	30
04	Exemple de pathologies liées aux stress oxydatif	35
05	Effet modulateur de l'apigénine sur les marqueurs du stress oxydatif révélé dans quelques études	43
06	Effet modulateur de l'apigénine sur les marqueurs de l'inflammation révélé dans quelques études.	64

Liste des abréviations

IPP : Isopentényl diphosphate.

DMAPP : Diméthylallyl diphosphate.

E4P : Erythrose-4-phosphate.

PEP : Et le pyruvate de phosphoénol.

DAHP synthase : Dihydroarabino heptulosonate-7- phosphate synthase.

TAL : Tyrosine ammonia lyase.

4-CL : 4-coumaroyl coenzyme-A ligase.

CHS : Chalcone synthase.

CHI : Chalcone isomérase.

FNS : Flavone synthase

POMT7 : Apigénine 7-Ométhyl transfér.

IR : Infrarouge.

UV : Ultraviolet.

GC : chromatographie en phase gazeuse.

NaOMe : Méthylate de sodium.

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

HCl : Acide chlorhydrique.

aOAc : Acétate de sodium

H₃BO₃ : Acide borique

DMSO :Diméthylsulfoxyde

ABC :ATP binding cassette (transporteurs à cassette liant l'ATP).

MDR :Multi drug resistance.

MRP : Multi drug resistance protein.

BCRP :Breast cancer resistance protein.

CYP :Cytochrome p 450.

HPLC : Chromatographi en phase liquide a haute performance.

PDGF :Facteur de croissance dérivé des plaquettes.

HSV-2 : Herpes-virus-2.

ADV-3 : Adenovirus-3.

HBV : Virus de l'hépatite B.

ADN :Acide desoxyribonucléique.

MAPK :Mitogen –activated protéine kinase.

JAC kinase :Janus (just another kinase).

NF- κ B :Nuclear factor kappa B.

P50 :Protéine 50.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

$O_2^{\cdot -}$: Anion superoxyde.

$OH^{\cdot}$: Radical hydroxyle.

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène.

$ROO^{\cdot}$:Radical peroxyde.

RO₂H : Hydroperoxyl.

RO :Radical alkoxyl.

ARN :Acide ribonucleique.

AGPI :Acide gras polyinsaturé.

$L^{\cdot}$: Radical alkyle.

$LOO^{\cdot}$: Radical peroxyde.

LOOH : Hydroperoxyde.

$LO^{\cdot}$: Radicaux alkoxyles.

$HO^{\cdot}$: Radical hydroxyl

NOX :NADPH oxydase.

iNOS : NO synthases inductibles.

ONOO⁻ : Peroxynitrite.

SOD : Superoxyde dismutase.

GPX : Glutathion peroxydase.

H₂O : Molécule d'eau.

GSH : Glutathion.

GSSG : Glutathion-disulfure.

α -TOCH : L' α -tocophérol.

MDA : Malonedialdéhyde.

TBA : Acide 2-thiobarbiturique.

4-HNE : 4-hydroxynonéal.

LDL : Lipoprotéine de faible densité.

DNPH : Dinitro phényl hydrazine.

DTNB : Acide dithionitrobenzoïque.

TNB : Acide thionitrobenzoïque.

8-OHdG : 8-Oxoguanosine.

SAT : Statut antioxydant total.

GC : Guanine et cytosine.

TA : Thymine et adénine.

GSH-PX : Glutathion peroxydase (GSH-PX).

CAT : Catalase.

GR : Glutathion réductase.

HeLa : Lignée cellulaire immortelle.

MRP1 : Multidrug resistance protein 1.

Cu²⁺ : L'ion cuivre.

Fe²⁺ : L'ion fer.

Fe : Le fer.

UV :ultra violet.

O₂ : Oxygène.

H₂O :Molécule d'eau.

HO-1 :Lhème oxygénase .

GCL :Glutamate systeine ligase.

GCLC : Glutamate systeine ligase catalytique.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%.

CO :Monoxyde de carbone.

AST : Aspartate amino transférase.

ALT : Alanine amino transférase.

ALP : Phosphatase alcaline.

LDH : Lactate déshydrogénase.

GST : Glutathion S transférase.

GS : Glutathion synthase .

IL : Interleukines.

TNF : Tumor necrosis factor.

C2-kinine : Facteurs chimiotactiques, vasoactifs.

IL-1/IL-6/TNF α : Cytokines.

IL-8 : Interleukine 8.

LTB₄, LTD₄ :

MCP-1 : Monocyte chemo attractant.

IL-5 : Interleukine 5.

IL-1, IL-6 : Interleukine 1et6.

TNF α :Tumor nicrosis factor.

MBP : Major basic protein.

ECP : Protéine cationique de l'éosinophile

IL-10 : Interleukine10.

TGFβ : Tumor Growth Factor.

Le PAF-Acether :facteur d'activation plaquettaire.

MPO : Myelopéroxydase neutrophile.

EPO : Peroxydase spécifique.

NO : Monoxyde d'azote.

NK : Natural killer.

VS : Vitesse de sédimentation.

NFS : Numération-formule sanguine.

SAA : Procalcitonine, du sérum amyloïde.

RI : La réaction inflammatoire.

CRP : Protéine C-réactive.

MBP : Major basic protein.

NO : Monoxyde d'azote.

PCT : Procalcitonine.

AGP : α1-glycoprotéine acide.

Lp-PLA2 : La lipoprotéine phospholipase.

VPM : Volume plaquettaire moyen.

CF : La calprotectine fécale.

COX : Cyclooxygenase.

LOX :lipoxygenase.

PLA : Acide polylactique.

LPS : Lipopolysaccharide.

MCP-1α : Monocyte chemoattractant protein 1.

MIP-1α : Macrophage inflammatory protein 1 alpha.

INF-γ : Interferon gamma.

NF-κB : Nuclear factor kappa B.

Nrf2 : Nuclear factor erythroid 2 related factor 2

AP-1 : Activator protein.

HIF-1 α : Hypoxia inducible-factor1.

PPAR- γ : Peroxisome proliferator activated receptor gamma.

STAT-3 : Signal transducer and activator transcription.

Sp- 1 : Protéine sérique.

CXCL 1 : Chemokine ligand 1.

XIAP : X-linked inhibitor apoptotic .

NOS : NO synthase

Sommaire

INTRODUCTION.....	01
Partie 01 : revue bibliographique sur l'apigénine	02
1. Définition et structure de l'apigénine.	02
2. La filiation de l'apigénine	03
2.1. Classification des métabolites secondaires.....	03
2.1.1. Les alcaloïdes	03
2.1.2. les terpénoïdes	04
2.1.3. Les composés phénoliques (polyphénols).	06
2.2. Classification des polyphénols.	06
2.3. Classification des flavonoïdes	06
3. La biosynthèse de l'apigénine	10
4. les sources de l'Apigénine	11
Extraction de l'apigénine.	12
5.1. Extraction par la méthode éventuelle.	12
5.1.1. Matériel et méthodes	12
5.1.2. Résultats.	14
5.2. Extraction à l'eau sous-critique.	14
6. Propriétés physico-chimiques de l'apigénine.....	16
Etude de la pharmacocinétique de l'apigénine.....	16
7.1. l'absorption de l'apigénine provenant de l'alimentation	17
7.1.1. Propriétés physico-chimiques de l'apigénine et leur effet sur l'absorption.	17
7.1.2. Absorption globale de l'apigénine provenant de l'alimentation ...	18
7.1.3. Absorption et distribution de l'apigénine dans le tractus gastro-intestinal...	19
7.1.4. Apigénine et microbiote intestinal humain	21
7.2. Variabilité de l'absorption et de la biodisponibilité de l'apigénine...	22

7.3. La capacité d'interactions médicamenteuses entre l'apigénine et les médicaments.....	22
7.4. Clairance et élimination de l'apigénine et de ses métabolites	23
8. Potentiel physiologique et pharmacologique de l'apigénine	24
8.1. Potentiel physiologique de l'apigénine en tant que nutraceutique.....	24
Potentiel pharmacologique de l'apigénine	25
9. Innocuité et toxicité de l'apigénine	27
Partie 02 : Apigénine - stress oxydatif.....	29
1. Définition du stress oxydatif.....	29
2. Définition des radicaux libres	30
3. Principales étiologies de stress oxydatif	31
3.1. Origine du stress oxydatif.....	31
3.2. Sources des radicaux libres.....	32
4. Mécanismes d'action des radicaux libres	32
4.1. Oxydation de l'ADN.....	33
4.2. Oxydation des protéines.....	33
4.3. Peroxydation lipidique.....	33
4.4 .Oxydation des glucides	34
5. Rôles physiologiques des ROS et les RNS	34
6. Pathologies liées au stress oxydatif.....	35
7. Système de défense antioxydant.....	37
7.1. Système antioxydant enzymatique	36
7.2. Antioxydants non enzymatique	36
8. Les marqueurs biologiques du stress oxydant.....	39
8.1. Les principaux biomarqueurs du stress oxydant	39
8.1.1. Marqueurs d'oxydation lipidique	39
8.1.2. Marqueurs d'oxydation protéique	39

8.1.3. Marqueurs d'oxydation nucléaire.....	40
9 .Effet de l'apigénine sur le stress oxydatif.....	41
Partie 03 : Apigénine – Inflammation.....	47
1. Définition	47
2. Principales étiologies de l'inflammation	49
3. Mécanismes de l'inflammation.	49
3 .1 Initiation.	50
3.2. Amplification.....	51
3.2.1 Rôle des cellules.....	50
3.2.2. les agents chimiotactiques.....	51
3.2.3. Activation des cellules.....	52
3.2-4. Rôle des médiateurs.....	53
3.2.4. Rôle des médiateurs	53
4. Les marqueurs biologiques de l'inflammation.	57
4.1. Critères d'un bon marqueur biologique de l'inflammation.	58
4.2. Les biomarqueurs actuels de l'inflammation.....	58
4.2.1a vitesse de sédimentation (VS).....	58
4.2.3. Protéines de l'inflammation.....	59
5. Effet de l'apigénine sur l'inflammation.	62
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.	63
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.	64

Introduction

INTRODUCTION

La nature est une source inépuisable de modèles et d'inspiration, l'usage des plantes médicinales pour se guérir a pris naissance depuis bien longtemps en médecine traditionnelle grecque, romaine, indienne, chinoise et arabo-musulmane. En France et d'après une enquête réalisée dans le cadre d'une étude sur l'utilisation des plantes en médecine traditionnelle, 71% des personnes interrogées utilisent les plantes médicinales et aromatiques pour se faire soigner. De nombreuses formes médicamenteuses à base de plantes ou de substances végétales ne cessent de croître à l'échelle mondiale **(Wicht & Anton, 2003)**.

Les propriétés biologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser **(Yano et al., 2006)**. Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant **(Mata et al., 2007)**. Parmi les diverses possibilités, les flavonoïdes se sont révélés particulièrement prometteurs en tant que molécules naturelles dans l'alimentation ou le développement de médicaments **(Kale et al., 2008; Androutsopoulos et al., 2010; Batra & Sharma, 2013)**. Parmi les flavonoïdes, celui qui a retenu l'attention de chercheurs comme nous est l'apigénine, une flavone qui est remplacée par des groupes hydroxy aux positions 4', 5' et 7' **(National Center for Biotechnology Information, 2021)**. Cette molécule d'origine végétale présente un intérêt clinique depuis les années 1950, suite aux observations selon lesquelles elle est capable de moduler la libération d'histamine et est bronchodilatatrice **(Hava & Janku, 1958 ; Spicak & Subrt, 1958)**. Cependant, Comme de nombreux produits naturels traditionnellement utilisés, il est connu que l'Apigénine a de fortes activités anti-inflammatoires, anti oxydantes, antibactériennes et antivirales et est donc considérée comme ayant de nombreux avantages pour la santé. Certains des prétendus usages/bénéfices pour la santé de l'apigénine comprennent le pouvoir de réduire la dépression/l'anxiété, l'insomnie et la tension artérielle, des effets antidiabétiques, neuroprotecteurs et anticancéreux **(Home , 2021)**

Notre étude consiste à étudier l'aspect physiologique et pharmacologique de l'apigénine via la recherche bibliographique sur son action sur le phénomène du stress oxydatif et inflammatoire.

Partie 01.
revue
bibliographique
sur l'apigénine

1. Définition et structure de l'apigénine

L'apigénine est un composé naturel. Il a pris son nom du genre *Apium* chez les Apiaceae (famille du céleri, de la carotte ou du persil, également connue sous le nom d'Umbelliferae) (Pham, 2017). Ce composé a des groupes hydroxyle aux positions C-5 et C-7 du cycle A et C-4' du cycle B, et appartient à une classe de flavonoïdes appelés flavones (Figure 01). (Bhagwhat *et al.*, 2011). La formule moléculaire de l'apigénine est C₁₅H₁₀O₅ et le poids moléculaire est 270,24 g/mol ; c'est une poudre cristalline jaune insoluble dans l'eau et soluble dans le diméthylsulfoxyde et à chaud (Merck, 1989).

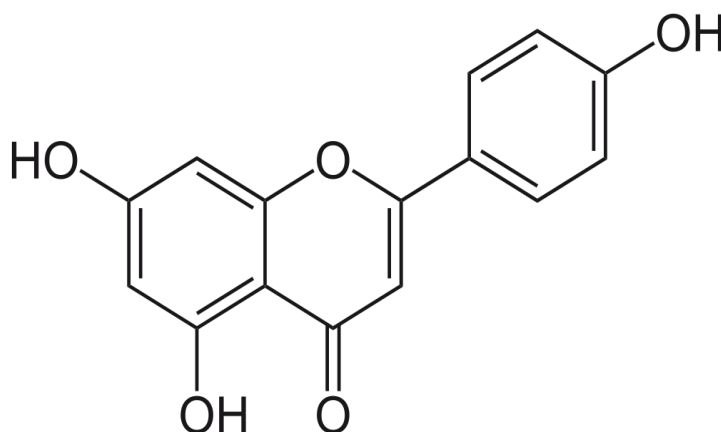


Figure 01. Structure de l'apigénine (Bhagwhat *et al.* 2011)

Comme la plupart des flavonoïdes, l'apigénine est présente dans la nature sous forme d'hétérosides (Meyer *et al.*, 2006). :

- l'apiine, (apigénine-7-apioglucoside) isolée dans le persil et le céleri
- l'apigétrine (apigénine-7-glucoside), présente dans la fausse chicorée, la matricaire camomille
- la vitexine (apigénine-8-C-glucoside)
- l'isovitexine (apigénine-6-C-glucoside ou homovitexine, saponarétine)
- la rhoifoline (apigénine-7-O-néohespéridoside)

2. La filiation de l'apigénine

L'apigénine est l'un des métabolites secondaires qui sont des composés de faible masse moléculaire (<1000 Da généralement). Ces composés ne jouent pas un rôle fondamental pour les plantes comme les métabolites primaires, mais ils sont impliqués dans l'adaptation des plantes à leur environnement, notamment dans les interactions biotiques

(Ramakrishna & Ravishankar 2011 ; Naik & al-Khayri, 2016). Ils sont connus comme principes actifs pour la production de médicaments, d'additifs alimentaires et d'arômes, ou de parfums, ils contribuent notamment à la formation des odeurs et des couleurs chez les plantes (Ramakrishna & Ravishankar, 2011 ; Murthy *et al.* 2014).

2.1. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires des plantes se répartissent en 3 groupes chimiques : les alcaloïdes, les terpénoïdes et les composés phénoliques (Cheynier *et al.*, 2013).

2.1.1. Les alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte et doué, à faible dose, de propriétés pharmacologiques (**Figure 02**). L'appartenance aux alcaloïdes est confirmé par les réactions communes de précipitation avec les réactifs généraux des alcaloïdes (ex: réactif de Dragendorff). On distingue :

- **Les pseudo-alcaloïdes**

Ils ne possèdent pas d'azote intra-cyclique et l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale.

- **Les proto-alcaloïdes**

L'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Ils sont élaborés à partir d'acides aminés

- **Les alcaloïdes vrais**

Ils sont classés selon la nature de leur cycle. L'atome d'azote est inclus dans un hétérocycle. Biosynthétiquement formés à partir d'acides aminés ils possèdent une activité pharmacologique marquée. (**Tahouo, 2016**).

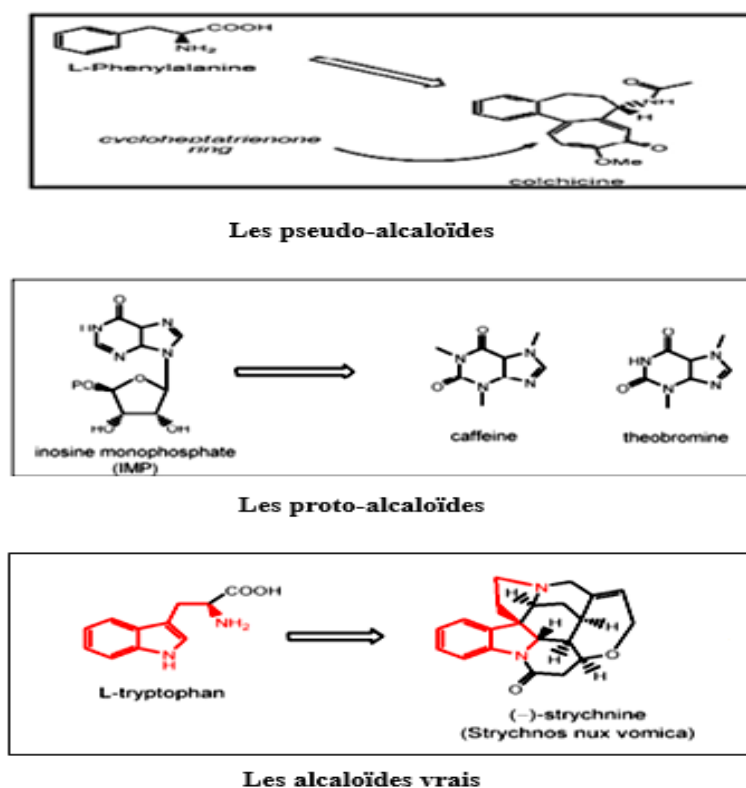


Figure 02. Exemples d'alcaloïdes, principaux types structuraux (Tahouo, 2016)

2.1.2. Les terpénoïdes

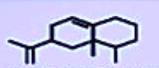
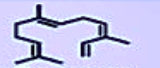
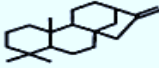
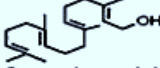
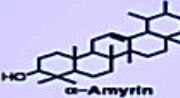
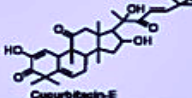
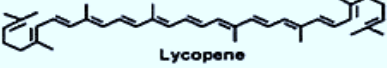
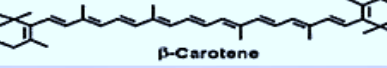
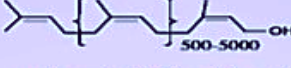
Les terpénoïdes constituent la famille de produits naturels la plus diverse structurellement, stéréochimiquement et fonctionnellement avec plus de 55 000 molécules identifiées à ce jour dans toutes les formes de vie (Christianson, 2008). Des centaines de nouvelles structures sont reportées chaque année (Sacchetti & Poulter, 1997 ; Withers & Keasling, 2007 ; Penuelas & Munne-Bosch, 2005). Leurs structures varient d'une simple chaîne linéaire d'hydrocarbures jusqu'à des agencements complexes de cycles carbonés (Connolly & Hill, 1991). Tous les terpénoïdes proviennent des précurseurs simples à 5 atomes de carbone, l'isopentényl diphosphate (IPP) et son isomère le diméthylallyl diphosphate (DMAPP) assemblés et modifiés de milliers de façons (Dewick, 1999). En raison de leur diversité structurale, les terpénoïdes constituent un groupe hétérogène de molécules avec différentes propriétés physiques et chimiques

(Bohlmann & Keeling, 2008 ; Schwab *et al.* 2008). Enfin, les terpénoïdes sont les constituants principaux des huiles essentielles, des résines et des cires de nombreuses plantes.

La structure carbonée de base des terpénoïdes est constituée d'un assemblage d'un nombre variable d'unités 2-méthylbutane (aussi appelées unités isoprène - C₅). Ces assemblages peuvent être modifiés par ajout/soustraction de groupes méthyles ou ajout d'atomes d'oxygène. (Bohlmann & Keeling, 2008).

Les terpénoïdes sont classés selon le nombre d'unités isoprène dans leur structure de base comme illustré par le **tableau 01** (McGarvey & Croteau, 1995). Les terpénoïdes peuvent également être classés selon le nombre de structures cycliques qu'ils contiennent (cyclique, monocyclique, bicyclique) et l'arrangement des cycles (labdanes par exemple).

Tableau 01. Classification des terpénoïdes, formules brutes correspondant aux formes hydrocarbonés linéaires possédant un nombre d'insaturation égal au nombre d'unités isoprènes plus 1 (Benabdelkader, 2012).

Classe	Formule brute	n° d'isoprène	Exemples
Hémiterpènes	C ₅ H ₈	1	 Isoprene  Methylbutenol
Monoterpènes	C ₁₀ H ₁₆	2	 Linalool  Limonene  α-Pinene
Sesquiterpènes	C ₁₅ H ₂₄	3	 5-epi-Aristolochene  α-Farnesene
Diterpènes	C ₂₀ H ₃₂	4	 Kaurene  Geranylgeraniol
Triterpènes	C ₃₀ H ₄₈	6	 α-Amyrin  Cucurbitacin-E
Tétraterpènes	C ₄₀ H ₆₄	8	 Lycopene  β-Carotene
Polyterpènes	(C ₅ H ₈) _n	45-30000	 500-5000 le caoutchouc (cis-1,4-polyisoprène)

2.1.3. Les composés phénoliques (polyphénols)

Les polyphénols constituent une vaste diversité de composés bioactifs (**Cheyrier et al. 2013**). Ils sont définis comme des « dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide shikimique ou/et de celui d'un polyacétate » (**Bruneton, 2009**).

2.2. Classification des polyphénols

Les composés phénoliques sont classés en fonction de leur squelette carboné (**Pham, 2017**). Selon **Harborne (1989)**, les polyphénols peuvent être divisés au moins en 10 classes différentes selon leur structure chimique de base. Ils peuvent s'étendre de molécules simples, tels que les acides phénoliques, aux composés fortement polymérisés, tels que des tannins (**Lugasi et al. 2003**). Les plus connus sont :

- Phénylpropanoïdes,
- Lignanes,
- Stilbènes,
- Flavonoïdes,
- Anthraquinones

2.3. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont un squelette de base formé par deux cycles en C6 (A et B) reliés entre eux par une chaîne en C3 qui peut évoluer en un hétérocycle (cycle C) (**Figure 03**). Ils donnent des couleurs allant du jaune clair au jaune or. Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est-à-dire liée à des oses et autres substances (**Heller & Forkmann, 1993**).

Ils peuvent être subdivisés en différentes sous-classes en fonction du carbone du cycle C sur lequel le cycle B est attaché, et du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C. Les flavonoïdes dans lesquels le cycle B est lié en position 3 du cycle C sont appelés isoflavones, Ceux dans lesquels le cycle B est lié en position 4, les néoflavonoïdes, tandis que ceux dans lesquels le cycle B est lié en position 2 peuvent être subdivisés en plusieurs sous-groupes sur la base des caractéristiques structurales du cycle C. Ces sous-groupes sont : les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanols ou catéchines et anthocyanes. Enfin, les flavonoïdes à cycle C ouvert sont appelés chalcones.

- **Les chalcones**

Les chalcones et les dihydrochalcones sont des flavonoïdes à structure ouverte ; ils sont classés comme flavonoïdes car ils ont des voies de synthèse similaires (Tazzini, 2014).

- **Les flavanonols ou flavane-3-ols (Catéchines)**

Cette classe regroupe les diverses catéchines (catéchine, epicatéchine, epicatéchine gallate, gallocatéchine gallate, gallocatéchine) ainsi que les proanthocyanidines. Ces molécules présentent un groupe OH en position 3. (Tabart, 2011).

- **Les flavonols**

Cette sous-classe de flavonoïdes est la plus importante et est très largement répandue dans le règne végétal et dans l'alimentation. Ces molécules dérivent principalement de trois formes non glycosylées autour desquelles des sucres viennent se greffer. Les formes non glycosylées, appelées « aglycones » sont la quercétine, la myricétine et le kampférol. Ils sont caractérisés par la présence d'une double liaison entre C2 et C3, d'une fonction carbonyle en position 4 et d'un groupement hydroxyle en position 3. Chez les plantes, ils sont responsables de la coloration des organes de la plante dans les couleurs allant du blanc au jaune pâle (Tabart, 2011)

- **Les isoflavones**

Elles ont des structures similaires aux œstrogènes. Le cycle aromatique B est lié en C3 au lieu de C2 comme chez les autres flavonoïdes. Des groupements OH sont présents en position C7 et C3'. La principale source alimentaire est le soja (Tabart, 2011).

- **Les flavanones**

Les flavanones sont des composés présentant de fortes similitudes de structures avec les flavonols mais ne comportant aucun groupement OH en position 3, ni de double liaison entre C2 et C3. On y classe la naringénine et l'hespéridine, responsables du goût amer des agrumes. (Tabart, 2011).

- **Les anthocyanes**

Les anthocyanes ou anthocyanines sont des pigments naturels solubles dans l'eau, de couleur rouge à bleu. Ces molécules sont présentes dans un certain nombre de végétaux, principalement dans les pétales et dans les fruits rouges en leur conférant des couleurs allant du rouge au bleu. La coloration des fleurs et des fruits est leur rôle le plus connu. Ils se trouvent également dans d'autres organes comme les racines, tiges, feuilles et graines. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle. Elles possèdent toutes une structure commune : le squelette flavylum. Ce motif a la particularité d'être un chromophore. En raison de leurs propriétés physicochimiques, ces pigments font l'objet d'études en agroalimentaire en tant que colorants et alicaments. Ils représentent la forme extrême d'oxydation de l'hétérocycle central. Les formes non glycosylées se nomment « anthocyanidines » et il existe 6 formes non glycosylées abondamment retrouvées dans le règne végétal : pélargonidine, cyanidine, péonidine, delphinidine, pétunidine et malvidine **(Tabart, 2011)**.

- **Les flavones**

Cette famille est la moins couramment trouvée dans le règne végétal. Ces composés sont présents principalement dans les céréales et certains légumes. La structure de base est la 2-phénylchromène-4-one. Elles présentent une double liaison entre C2 et C3. Les principales flavones sont l'apigénine et la lutéoline **(Tabart, 2011)**.

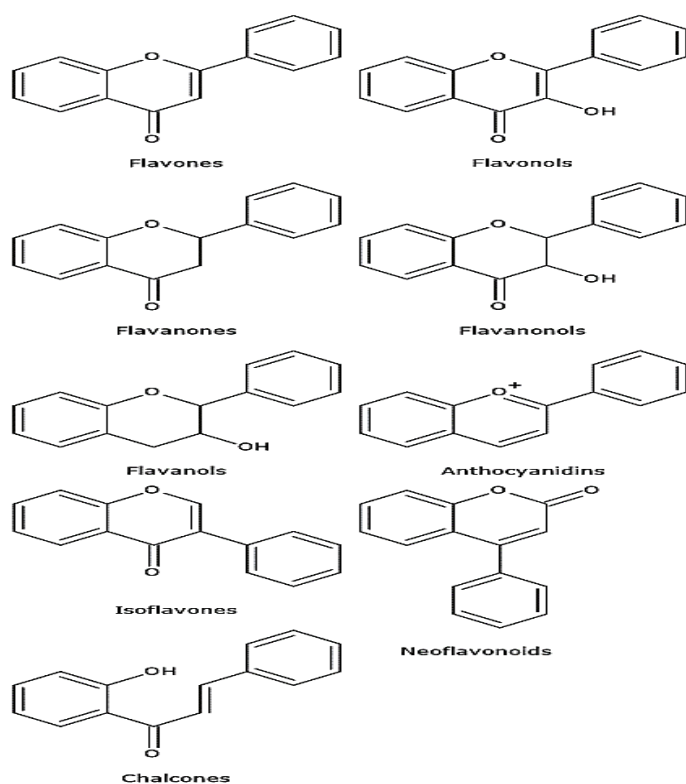


Figure 03. Les sous classes de flavonoïdes (Tazzini, 2014)

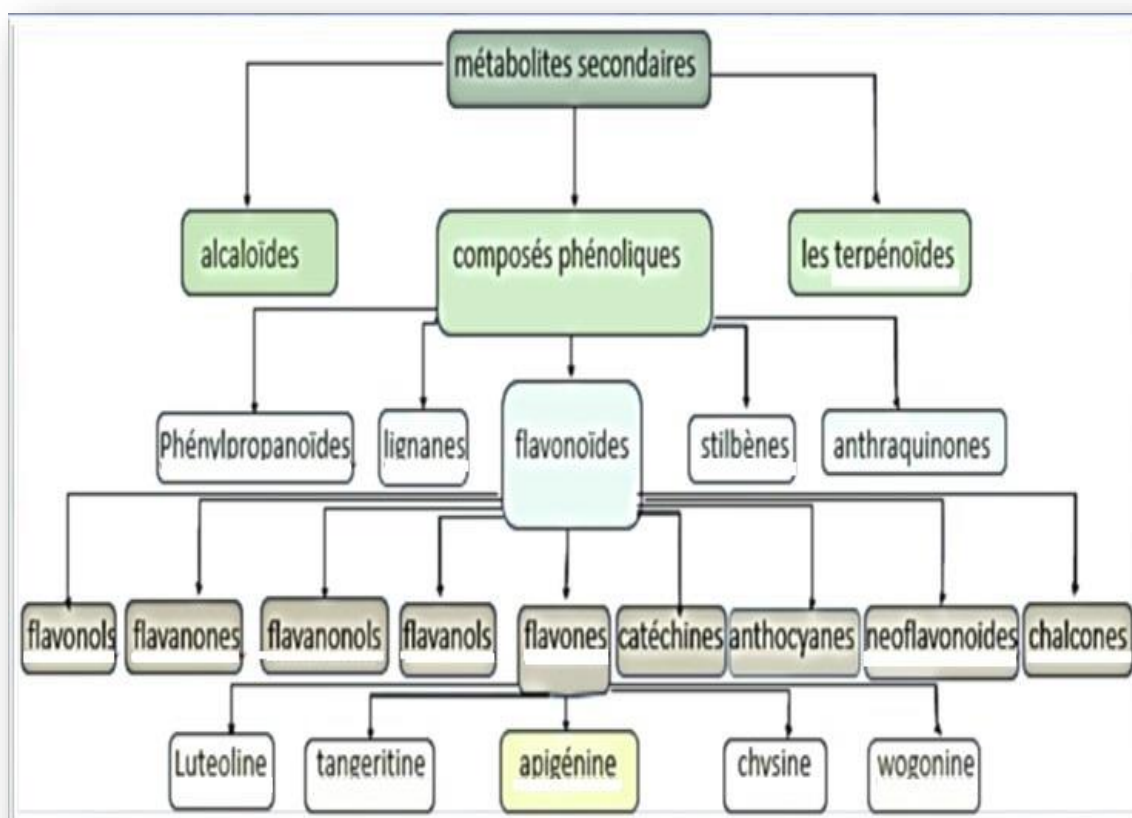


Figure 04. La filiation de l'apigénine

2. La biosynthèse de l'apigénine

Une grande variété de métabolites secondaires est synthétisée par les plantes supérieures à partir des métabolites primaires (par exemple carbohydrates, lipides et acide aminés) et sont le résultat d'une co-évolution entre les plantes et leur environnement biotique (Ramakrishna & Ravishankar, 2011 ; Murthy *et al.*, 2014).

Tous les flavonoïdes sont essentiellement synthétisés dans les plantes à partir d'une voie de base unique appelée voie de l'acide shikimique. Cette voie convertit l'érythrose-4-phosphate (E4P) et le pyruvate de phosphoénol (PEP) du précurseur de glucides simples en acides aminés aromatiques. L'E4P et le PEP agissent comme des molécules d'initiation qui fusionnent sous l'influence de la dihydroarabino heptulosonate-7-phosphate synthase (DAHPS synthase) pour former la dihydroarabino heptulosonate-7-phosphate. Le produit est ensuite transformé en déhydroquinate, déhydro shikimate, acide shikimique et anneau aromatique contenant des acides aminés (phénylalanine et tyrosine) sous l'influence des enzymes respectives indiquées dans la figure 5. Les classes de flavonoïdes les plus abondantes dans les plantes sont dérivées de la désamination de la phénylalanine et de la tyrosine en acide cinnamique. L'acide cinnamique subit plusieurs étapes de biosynthèse en aval produisant de la naringénine (Figure 5). La naringénine est l'intermédiaire clé de la voie flavone/anthocyanine, servant de précurseurs communs pour un grand nombre de flavonoïdes en aval, comme décrit précédemment. (Wen *et al.*, 2014 ; Wang *et al.*, 2011). Une voie proposée complète et bien définie pour la biosynthèse de l'apigénine et de ses dérivés est donnée dans la figure 05. On pense que certaines glycosyl transférases, hydroxyl transférases et méthyl transférases sont impliquées dans la O ou C-glycosylation, la méthylation et l'hydroxylation de l'apigénine pour former ses dérivés. Des études récentes ont montré que les dérivés O-méthylés de l'apigénine comme la genkwanine peuvent être synthétisés dans *E. coli* lors de l'introduction de six gènes dérivés de plantes, à savoir ; tyrosine ammoniac lyase (TAL), 4-coumaroyl coenzyme-A ligase (4-CL), chalone synthase (CHS), chalone isomérase (CHI), flavone synthase (FNS) et apigénine 7-Ométhyl transférase (POMT7) dans eux. Recombinant *E. coli* était capable de produire 41 µg/L de genkwanin -Ométhyl apigénine) en culture. (Lee *et al.*, 2015).

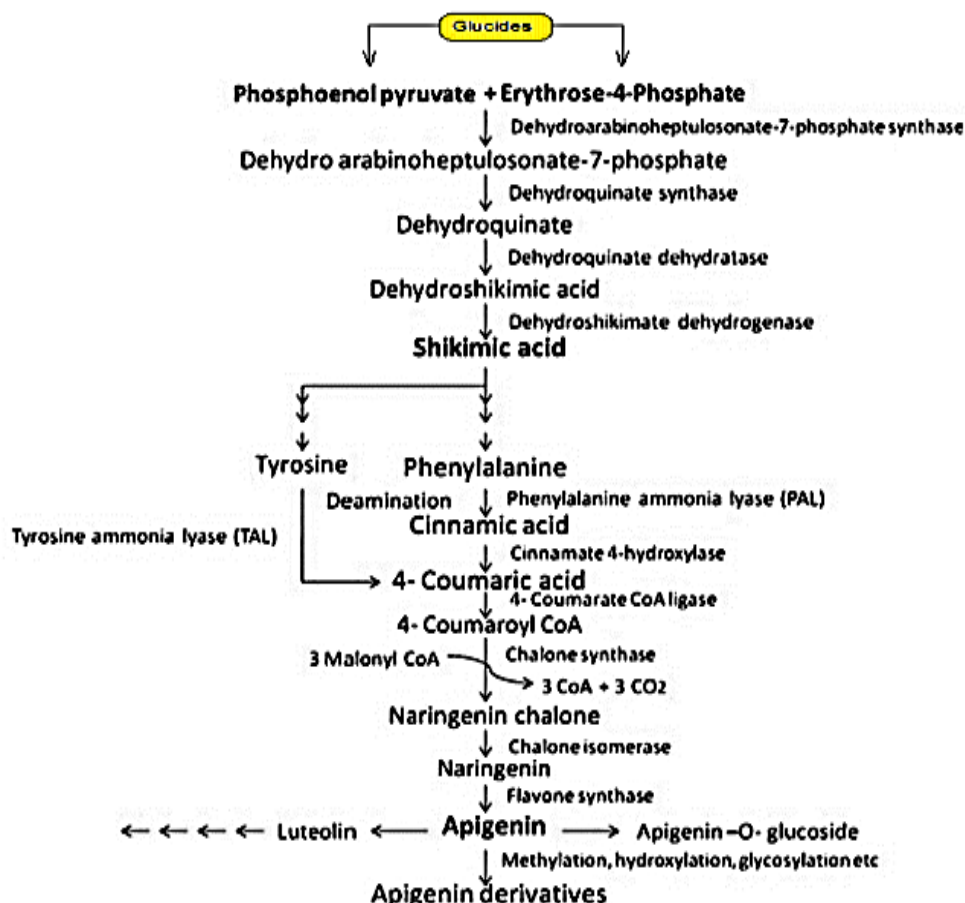


Figure 05. Biosynthèse de l'apigénine et de ses dérivés (Ali et al., 2017)

4. Les sources de l'apigénine

L'apigénine est un flavone alimentaire présent dans de nombreuses plantes, fruits, légumes et boissons, notamment ; le persil, le plantain, l'achillée millefeuille, le romarin, le cannabis, la passiflore Origan, et aussi la camomille l'ail les cerises, les pommes, les dates et les raisins. Il est aussi trouvé dans le vin rouge et le thé (Pham, 2017).

L'apigénine se trouve comme un ingrédient unique dans la camomille (*Matricaria chamomilla*), une herbe annuelle originaire d'Asie occidentale et d'Europe. Les boissons préparées à partir de camomille contiennent de 0,8% à 1,2% d'apigénine. L'apigénine est abondante dans une variété d'autres sources alimentaires (Sibel & Seddef, 1999) comme les graines de céleri (78,65 mg/100 g), les épinards (62,0 mg/100 g), le persil (45,04 mg/100 g), marjolaine (4,40 mg/100 g), origan italien (3,5 mg/100 g), sauge (2,40 mg/100 g), camomille (3 à 5 mg/100 g) et pistache (0,03 mg/100 g), mais les sources les plus riches sont les sources séchées respectives (Mckay, 2006).

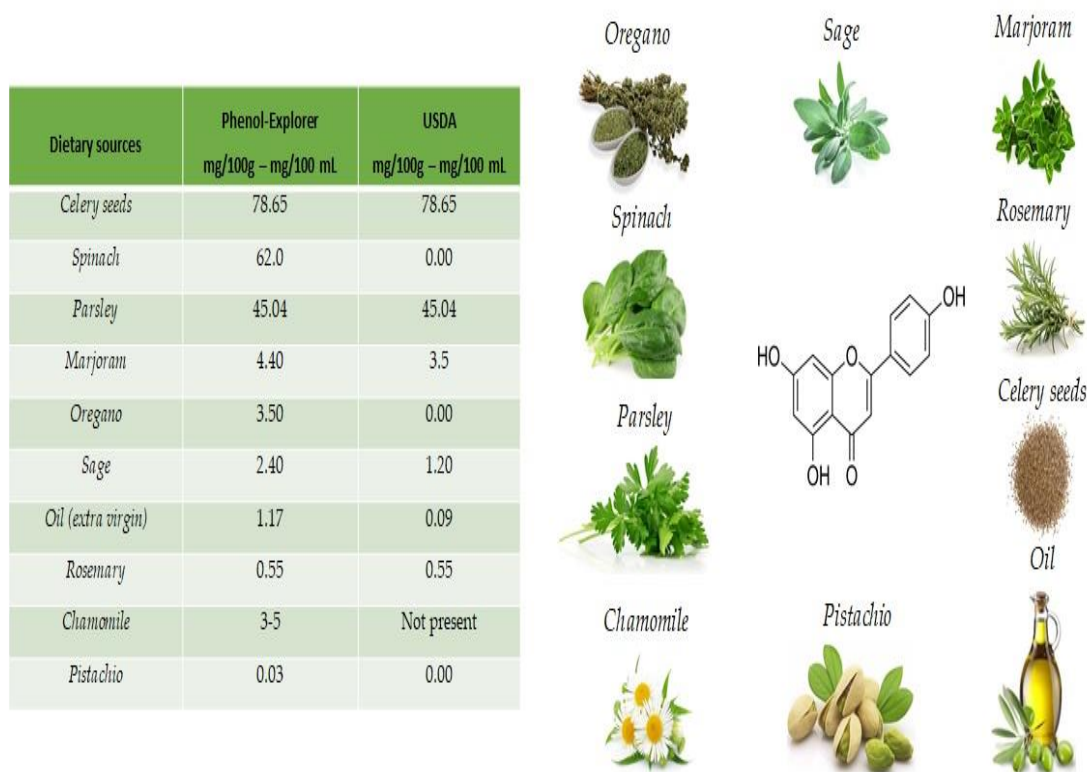


Figure 06. Principaux aliments contenant de l'apigénine, selon la base de données Phenol-Explore (<http://phenol-explorer.eu/>) et USDA Database pour la teneur en flavonoïdes de certains aliments (<https://www.ars.usda.gov/>) (Cannataro *et al.*, 2021).

5. Extraction de l'apigénine

5.1 Extraction de l'apigénine par la méthode éventuelle

Dans cet exemple l'apigénine est extraite à partir de l'algue rouge *Acanthophora spicifera* qui est largement répandue dans les zones tropicales et subtropicales.

5.1.1 Matériel et méthodes

- Collecte et préparation d'échantillon d'algues

Acanthophora spicifera a été collecté sur la côte d'Al-Shoaiba, la mer rouge, Arabie saoudite. L'échantillon d'algues était abondant de l'été 2011 au printemps 2012. Il a été identifié en se référant aux études de **Papenfuss (1968)**, **Cribb (1983)** et **Russell (1992)**. Les échantillons frais collectés ont été nettoyés sous l'eau courante du robinet pour éliminer le sable, le sel et les épiphytes ; ensuite ils ont été séchés à température ambiante puis broyés en une poudre grossière à l'aide d'un mélangeur électrique.

- **Prélèvement d'échantillon**

Un échantillon de poudre d'algues séchées (150 g) a été extrait successivement dans un appareil Soxhlet en utilisant d'abord de l'éther de pétrole pour éliminer la chlorophylle des algues, puis les tissus d'algues ont été extraits avec de l'acétone pour éluer le contenu en flavonoïdes. L'extrait d'acétone a été filtré à travers un papier filtre Whatman n° 1, puis il est concentré à un volume approprié.

- **Séparation et identification des flavonoïdes**

Les flavonoïdes, dans la fraction d'extrait brut d'acétone, ont été détectés sur des plaques chromatographiques en couche mince : 20 × 20 cm, gel de silice 60 (Merck) et élués avec 20 ml du système solvant : méthanol : chloroforme : acétate d'éthyle (1:7 : 2) pour chaque plaque chromatographique. Les zones de flavonoïdes ont été grattées avec une spatule et éluées trois fois avec du méthanol : chloroforme (1 : 1) jusqu'à épuisement complet. Le flavonoïde élué a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis testé pour sa pureté à l'aide de plaque chromatographique à couche mince. L'analyse physicochimique (infrarouge (IR), ultraviolet (UV) et chromatographie en phase gazeuse (GC - spectre de masse) a été réalisée à l'unité de recherche en toxicologie et microanalyse, Faculté des sciences, Université du canal de Suez pour élucider la structure du flavonoïde séparé.

Le spectre de masse GC a été réalisé avec une chromatographie en phase gazeuse. Les conditions étaient les suivantes : température initiale à 100°C/6 minutes, vitesse niveau 1 à 3°C/min et température finale à 120°C, vitesse niveau 2 à 6°C/min et température finale à 260°C, et en utilisant le spectre de masse (Hewlett Packard 5970 Séries). Le spectre IR a été réalisé en utilisant la spectroscopie IR (Perkin-Elmer 1430 Ratio Recording Infrared Spectrophotometer). Le spectre UV a été déterminé par spectroscopie UV (T 90 + UV/Visible Spectrometer, PG Instruments Ltd) dans du méthanol en plus des réactifs de décalage méthylate de sodium (NaOMe), chlorure d'aluminium (AlCl₃), acide chlorhydrique (HCl), acétate de sodium (NaOAc) et l'acide borique (H₃BO₃) (Mabry, 1970).

5.1.2 Résultats

Les données obtenues à partir du spectre IR, UV et de masse du composé isolé de l'algue rouge *A. spicifera* étaient typiques de celles rapportées pour l'échantillon authentique d'apigénine. (Shoubaky et al. 2016)

Les techniques traditionnelles d'extraction des composés phytochimiques impliquent l'utilisation de solvants organiques, et nécessitent généralement un long temps d'extraction (Luque de Castro et García-Ayuso, 1998 ; Wang & Weller, 2006). Les techniques modernes d'extraction (extraction assistées par ultrasons, extraction assistée par micro-ondes, extraction par fluide sous-critique, extraction supercritique avec dioxyde de carbone, etc.) sont commodément utilisées pour l'extraction de composés biologiquement actifs provenant de sources naturelles. Parmi celles-ci, les extractions avec des fluides sous- ou supercritiques sont les plus attrayants en raison du fait que ceux-ci s'appuient généralement sur des solvants sûrs, permettant en même temps un bon rendement d'extraction et des temps de traitement plus courts (Rodríguez-Meizoso et al., 2006 ; Kumar et al., 2011).

5.2. Extraction à l'eau sous-critique

Selon cet exemple, après le séchage des fleurs de la camomille qui ont été récoltées le mois d'Avril. L'extraction à l'eau sous-critique a été réalisée dans un extracteur/réacteur d'eau sous-critique fait maison. Capacité totale du récipient en acier inoxydable haute pression (6) était de 1,7 L. La pressurisation de la cuve a été réalisée avec 99,999 % d'azote (Messer, Allemagne) par vanne (3). L'azote a été utilisé afin d'empêcher l'oxydation à haute température. L'exploitation de la pression dans la cuve était surveillée par un manomètre intégré (2) (Inol, Slovénie, modèle IM 811A12).

Le récipient d'extraction a été chauffé à travers une plaque chauffante (1500 W) qui a permis un taux de chauffage de environ 10°C/min. La température du procédé a été mesurée par un thermocouple Pt100 (4) et régulé par un régulateur de température (8) (Nigos, Serbie, modèle 1011P). Plate-forme vibrante (7) a été utilisé afin d'augmenter le transfert de masse et d'éviter une surchauffe locale au contact de l'élément chauffant (11). L'agitation était assurée dans la gamme de fréquence de la plate-forme vibrante comprise entre 2 Hz et 6 Hz.

La durée d'extraction dans toutes les expériences était de 30 min, à l'exception des expériences sur l'influence du temps (Cvetanovic *et al.*, 2016).

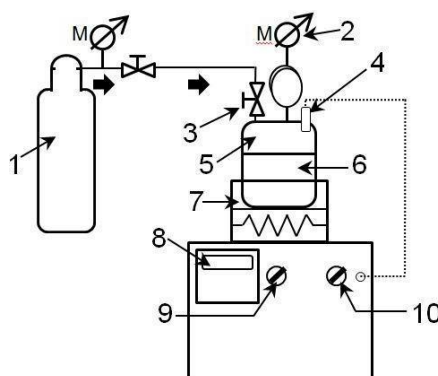


Figure 07. Diagramme schématique du système d'extraction à l'eau sous-critique

(1) bouteille d'azote ; (2) manomètre ; (3) vanne de gaz d'entrée ; (4) thermocouple pour la mesure de la température ; (5) couvercle du vase d'extraction ; (6) cuve d'extraction ; (7) plate-forme vibrante ; (8) régulateur de température numérique ; (9) interrupteur principal ; (10) interrupteur pour la plate-forme vibrante ; (11) plaque chauffante (Cvetanović *et al.*, 2016).

Après l'extraction, la cuve de traitement a été immédiatement refroidie dans un bain-marie à flux continu à 20 °C. La dépressurisation a été effectuée en ouvrant une vanne et en purgeant de l'azote à travers une vanne. Les extraits obtenus ont été filtrés et conservés au réfrigérateur jusqu'à l'analyse. (Cvetanovic *et al.*, 2016).

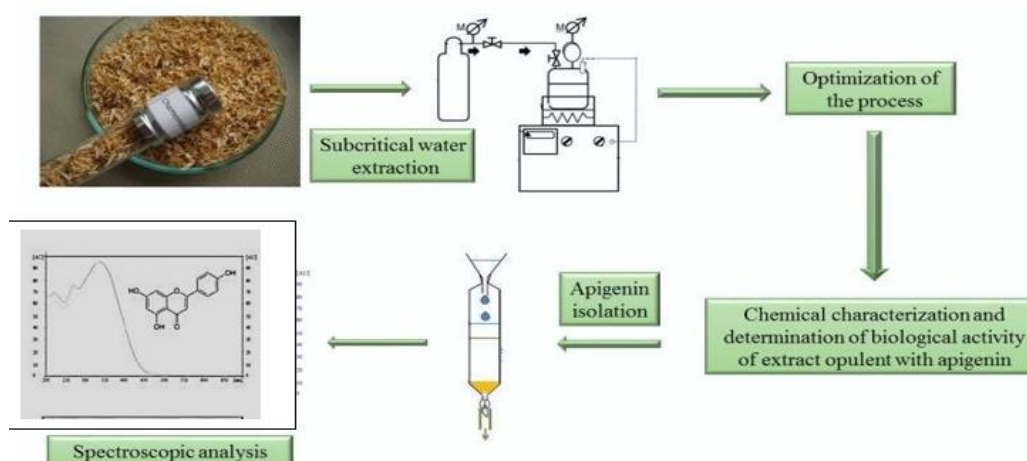


Figure 08. Isolement de l'apigénine à partir d'extraits aqueux sous-critiques
(Cvetanovic *et al.*, 2016)

6. Propriétés physico-chimiques de l'apigénine

Classification internationale de la molécule : CAS : 000520-36-5

Formule brute : C₁₅H₁₀O₅

Nom chimique : 5,7,4'-trihydroxyflavan-2-one

Poids moléculaire : PM= 270,2 g/mol

Potentiel de lipophile : 3,02

Solubilité : soluble dans le DMSO et dans l'éthanol.

Absorption dans l'ultraviolet (UV) : aux longueurs d'ondes $\lambda = 268,335\text{nm}$.

Point de fusion : > 300 °C (lit.)

Point d'ébullition : 333,35 °C (estimation approximative)

Densité 1,2319 (estimation approximative)

Indice de réfraction 1.6000 (estimation)

Température de stockage 2-8°C

Solubilité DMSO : 27 mg/ml

Forme de poudre

Couleur jaune (**chemicalbook, 2017 ; Monger, 2003**)

7. Etude de la pharmacocinétique de l'apigénine

La pharmacocinétique, décrite parfois comme l'action de l'organisme sur un médicament, se réfère au devenir du médicament, depuis son entrée jusqu'à sa sortie de l'organisme, l'évolution en fonction du temps de son absorption, sa biodisponibilité, sa distribution, son métabolisme, et son excrétion.

7.1 Absorption de l'apigénine

7.1.1 Propriétés physico-chimiques de l'apigénine et leur effet sur l'absorption

Les flavonoïdes en tant que sous-classe sont peu biodisponibles dans l'alimentation en raison de leur faible solubilité dans l'eau, de leur instabilité chimique et de leur métabolisme rapide dans le corps.

L'apigénine elle-même est cependant lipophile et un acide faible et sera donc plus perméable aux membranes cellulaires sous forme non ionisée dans des environnements

acides, ceci lui permettant d'être mieux absorbée dans des environnements à pH plus faible le long du tractus gastro-intestinal, y compris l'estomac (**Leonarduzzi et al., 2010**).

Dans la plage de pH du tractus intestinal, l'apigénine hydrophobe est toujours capable de pénétrer les membranes lipidiques, ce qui permet une absorption sur toute la longueur des intestins, mais le fait plus efficacement dans le duodénum (**Tang et al., 2017**).

L'apigénine est une molécule de classe II selon le système de classification biopharmaceutique (BCS) (**Tsume et al., 2014**), présentant une faible solubilité dans l'eau et une perméabilité élevée.

La solubilité dans l'eau augmente avec l'ionisation dans des environnements plus basiques. La solubilité aqueuse maximale de l'apigénine se produit à un pH de 7,5, jusqu'à une concentration de 0,183 mg/ml (**National center for Biotechnology Information, 2021**).

7.1.2 Absorption globale de l'apigénine provenant de l'alimentation

Des études observationnelles portant sur la consommation d'apigénine dans les aliments entiers de l'alimentation humaine **indiquent** un apport quotidien compris entre 0,45 et 1,17 mg, variant selon l'âge et la démographie. (**Meyer et al., 2006 ; Somerset& Johannit, 2008**). Meyer et ses collègues ont étudié la biodisponibilité de l'apiine (apigénine-7-O-apiosylglucoside) après un seul bolus de persil, une source de nourriture avec une concentration extrêmement élevée d'apigénine (**Meyer et al., 2006**).

Des échantillons de sang et d'urine de 11 adultes allemands (âgés de 23 à 41 ans) ont été prélevés après un repas composé de 2 g de persil/kg de poids corporel, équivalent d'environ 17 mg d'apigénine (**Meyer et al., 2006**).

Les concentrations plasmatiques d'apigénine variaient de 28 à 337 n mol/L 6 à 10 h après la consommation et tombaient sous la détection à 28 h (**Meyer et al., 2006**). Un total de 0,039 mg ($\pm 0,03$) d'apigénine a été récupéré sur 24h à partir d'échantillons d'urine. Ces faibles concentrations plasmatiques et urinaires sont attendues sur la base de certains des paramètres pharmacocinétiques tels que le métabolisme rapide, l'excrétion d'apigénine non absorbée dans les voies non urinaires ou l'hydrolyse par la microflore colique (**Meyer et al., 2006**).

7.1.3 Absorption et distribution de l'apigénine dans le tractus gastro-intestinal

Un résumé schématique des processus physiologiques conduisant à l'absorption, à la distribution, au métabolisme et à l'élimination de l'apigénine est présenté à la **figure 09**. Comme mentionné ci-dessus, l'apigénine est ingérée sous une forme glycosylée. Ces glucosides d'apigénine doivent être métabolisés en forme aglycone par des enzymes dans l'estomac et/ou l'intestin grêle, comme les β -glucosidases épithéliales, ou dans la microflore endogène du côlon, avant l'absorption systémique (**Srinivas, 2015**). *Ex vivo*, des études de déglycosylation hydrolytique de l'apigénine et de la lutéoline dans leurs formes aglycones respectives à l'aide de modèles de rat suggèrent une variabilité du taux de déglycosylation en fonction de l'emplacement dans le tractus gastro-intestinal (**Lu et al., 2010**).

L'administration orale d'extraits de *Chrysanthemum morifolium*, qui contiennent des niveaux élevés d'apigénine sous sa forme 7-O- β -D-glucosidique, a été étudiée chez le rat. Il y a une déglycosylation précoce substantielle et assez rapide après ingestion dans l'estomac et l'intestin supérieur, l'absorption commençant dans le duodénum ; l'estomac semble être un site d'hydrolyse précoce et de rétention du composé. Ces auteurs ont conclu que l'intestin supérieur, en particulier le jéjunum, joue le rôle majeur dans l'absorption des flavonoïdes. (**Lu et al. 2010**). Cependant, d'autres études ont montré que pour l'apigénine, les quantités absorbées étaient les plus élevées dans le côlon (40 %) et les plus faibles dans l'iléon terminal (21 %). (**Chen et al., 2003**)

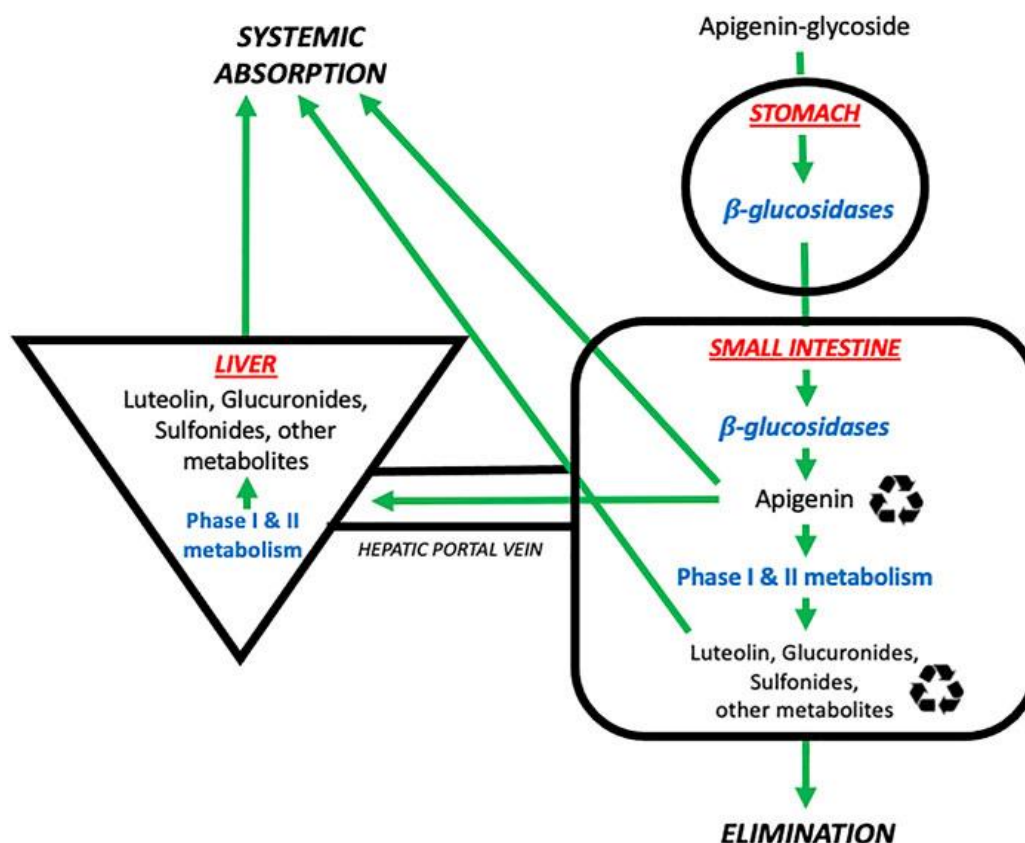


Figure 09. L'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination de l'apigénine

L'apigénine est présente dans l'alimentation sous des formes glycosylées présentes dans la nature (par exemple, 7-O-glucoside, 6-C-glucoside ou 8-C-glucoside). Ces glycosides sont ensuite métabolisés par β -glucosidases dans l'estomac et l'intestin grêle pour générer de l'apigénine libre (c'est-à-dire la forme aglycone). L'apigénine libre peut être directement absorbée par voie systémique ou subir un métabolisme de phases I et II en aval dans l'intestin grêle et le foie pour générer des métabolites hydroxylés tels que la lutéoline ou des métabolites glucuronidés et sulfonés. Ces métabolites entrent dans quatre voies possibles : a) absorption systémique directe, b) élimination (principalement via l'urine, dans une moindre mesure les fèces), c) recyclage entérique local, ou d) recyclage entérohépatique via la bile. () Indique que les molécules sont sujettes à un recyclage par voie entérique et/ou entéro-hépatique. (Thilakarathna & Rupasinghe, 2013).

L'absorption intestinale *in vivo* était médiée par le transport passif et actif médié par les porteurs dans le duodénum et le jéjunum, ainsi que par la perméabilité membranaire dépendante de la concentration. L'absorption dans l'iléon et le côlon s'est faite en grande partie par transport passif, de manière indépendante de la concentration. **(Zang *et al.*, 2012)**

Certains flavonoïdes, dont l'apigénine, sont capables de moduler le péristaltisme des muscles lisses intestinaux, facilitant potentiellement leur absorption. Des études in vitro chez le cobaye montrent que l'apigénine interfère avec l'excitation musculaire et/ou l'excitation-contraction, pour diminuer la sensibilité à la distension et la performance péristaltique de manière concentration-dépendante, favorisant ainsi le processus d'absorption. **(Gharzouli & Holzer, 2004)**

L'excrétion et le recyclage biliaires permettent une demi-vie significativement augmentée du composé et une exposition prolongée de la muqueuse intestinale **(Chen et al., 2003 ; Min et al., 2017)** En plus, du recyclage entérohépatique, l'apigénine peut également subir un recyclage entérique local, de manière concentration et métabolite dépendante **(Hu et al., 2003)**. Ces processus de recyclage entérohépatique /entérique auront tendance à favoriser la persistance de l'apigénine dans le tractus gastro-intestinal mais à réduire l'absorption systémique nette.

L'extrait de flavonoïdes composé de glycosides d'apigénine n'a pu être détecté dans la lumière gastro-intestinale, après 12 h. Aussi il n'a pu être détecté dans les reins à aucun moment. Mais l'apigénine a été trouvée dans le foie à 1,5 et 12 h **(Pforte et al., 1999)**. Après administration orale unique d'apigénine radiomarquée à des rats, 51,0 % de la radioactivité a été récupérée dans les urines, 12,0 % dans les fèces, 1,2 % dans le sang, 0,4 % dans les reins, 9,4 % dans l'intestin, 1,2 % dans le foie, et 24,8% dans le reste du corps dans les 10 jours **(Gradolatto et al., 2005)**. L'apigénine peut être trouvée dans les globules rouges humains, qui pourraient jouer un rôle central dans la distribution et la biodisponibilité des flavonoïdes circulants.

7.1.4. Apigénine et microbiote intestinal humain

Comme indiqué précédemment, une partie de l'apport d'apigénine est excrétée dans les fèces et l'aglycone d'apigénine a été détectée dans le contenu luminal du caecum, ainsi la communauté bactérienne du côlon est exposée à l'apigénine alimentaire.

Une fois que l'apigénine pénètre dans le côlon, elle devient le substrat du pool de diverses enzymes produites par le microbiote intestinal. Il a été découvert que le microbiote intestinal humain héberge des enzymes susceptibles de dégrader l'apigénine.

Certaines bactéries intestinales commensales sont capables de dégrader l'apigénine par elles-mêmes. *Bacteroides distasonis* s'est avéré capable de convertir l'apigénine-7-O-glucoside à l'apigénine ; cependant, ce n'était pas le cas d'*E. Coli* (Hanske et al., 2009). *Eubacterium ramulus*, une bactérie intestinale humaine strictement anaérobie, est capable de métaboliser l'apigénine, ainsi que la quercétine, la naringénine, la daidzéine et la génistéine (Blaut & Clavel, 2007).

7.2. Variabilité de l'absorption et de la biodisponibilité de l'apigénine

La variabilité intra-individuelle de l'absorption des petites molécules dans le tractus intestinal est en partie liée à la présence et à l'activité des pompes à efflux dans l'épithélium intestinal, telles que les transporteurs ABC. Les transporteurs ABC limitent la biodisponibilité des flavonoïdes en régulant l'efflux des cellules intestinales dans la lumière pour l'excrétion. Dans les modèles de monocouche de cellules Caco-2, les concentrations alimentaires potentielles d'apigénine (0,01 à 1,0 $\mu\text{mol/L}$) ont inhibé de manière significative l'expression des transporteurs ABC ABCB-MDR1 (glycoprotéine P), ABCC-MRP2, ABCC-MRP3 et ABCG-BCRP. Cet effet était synergique avec le co-traitement de la quercétine, un autre flavonoïde végétal. On pense que cette inhibition est médiée par le blocage direct du site de liaison à l'ATP ou des mécanismes allostériques. L'apigénine et la quercétine améliorent leur propre biodisponibilité et celle de l'autre en régulant à la baisse l'activité des transporteurs ABC (Ravisancar et al. 2019)

7.3 La capacité d'interactions médicamenteuses entre l'apigénine et les médicaments

L'apigénine sous sa forme aglycone peut subir un métabolisme de phase I par les enzymes CYP. La structure chimique des flavonoïdes (c'est-à-dire les doubles liaisons C2-C3 et l'hydroxylation du cycle A) fait de ces petites molécules une classe de puissants inhibiteurs du CYP1A1, du CYP1A2 et du CYP1B1 dans des modèles de levure, de rat et d'humain (Androutsopoulos et al., 2010).

L'utilisation concomitante d'apigénine et de certains médicaments pourrait entraîner soit une interaction médicamenteuse de classe CD, soit des contre-indications complètes telles que définies dans la ressource professionnelle de la santé Lexicomp (Lexicomp, 2021). Les interactions médicamenteuses impliquant des médicaments qui sont des substrats des enzymes CYP affectés par l'apigénine sont potentiellement plus inquiétantes, ce qui entraîne une toxicité ou des effets supratherapeutiques des médicaments prescrits à des

niveaux élevés d'apigénine. Dans le cadre du cancer, les principales chimiothérapies et/ou médicaments de support métabolisés par les enzymes clés du CYP inhibées par l'apigénine sont listés dans le tableau2 (Kleinschmidt & Delany, 2015). Il est important de noter que lorsqu'il existe des pro médicaments qui sont métabolisés par des CYP inhibant l'apigénine, il existe un risque d'effets sous-thérapeutiques du médicament actif. De même, les médicaments métabolisés pour être éliminés par les CYP inhibés par l'apigénine présenteront des effets thérapeutiques accrus mais également un risque de toxicité plus élevé.

Tableau02. Les principales chimiothérapies et/ou médicaments de support métabolisés par les enzymes clés du CYP inhibées par l'apigénine, dans le cadre du cancer (Kleinschmidt & Delany, 2015).

Nafcillin, Rifampin, Primaquine, Carbamazepine, Secobarbital, Pentobarbital, Phenobarbital, Phenytoin, Nelfinavir, Ritonavir, Lansoprazole, Omeprazole, Antipyrine, Coffee, Cruciferous vegetables, Insulin, Sulfapyrazole, St. John's Wort, Teniflunomide Artemisinin antimalarials, Rifampin, Carbamazepine, Phenobarbital, Phenytoin, Antiretrovirals, Efavirenz, Nelfinavir, Nevirapine, Ritonavir, Cyclophosphamide, Metamizole, St. John's Wort, Statins, Vitamin D Rifampin, Rifapentine, Amobarbital, Carbamazepine, Pentobarbital, Phenobarbital, Phenytoin, Secobarbital, Nelfinavir, Nevirapine, Ritonavir, Dexamethasone, Prednisone, Aminoglutethimide, Antipyrine, Aprepitant, Avastin, Bosentan, Smoking, Cyclophosphamide, Enzalutamide, Glutethimide, Nifedipine, St. John's Wort, Statins Analgesics, Antipyrine, Salicylates, Antibiotics, Artemisinin antimalarials, Rifampin, Rifapentine, Carbamazepine, Phenobarbital, Phenytoin, Efavirenz, Nelfinavir, Ritonavir, Dexamethasone, Prednisone, Enzalutamide, St. John's Wort Acetone, ATRA, Ethanol, Isoniazid, Smoking, St. John's wort, Styrene, Toluene Nafcillin, Rifabutin, Rifampin, Rifapentine, Troleandomycin, Amobarbital, Carbamazepine, Felbamate, Oxcarbazepine, Pentobarbital, Phenobarbital, Phenytoin, Roflozole, Topiramate, Valproic acid, Aprenavir, Efavirenz, Etravirine, Nelfinavir, Nevirapine, Ritonavir, Tipranavir, Bexarotene, Enzalutamide, Imatinib, Mitotane, Vinorelbine, Dexamethasone, Methylprednisolone, Prednisolone, Prednisone, Alitretinoin, Antipyrine, Aprepitant, Amodafinil, Artemisinin antimalarials, Avastin, Bosentan, Ethanol, Ginkgo biloba, Metamizole, Miconazole, Modafinil, Organochlorine compounds, Phenytoin, Pioglitazone, St. John's Wort, Statins, Sulfapyrazole, Troglitazone	Ciprofloxacin, enoxacin, Norfloxacin, Macrolides, Duloxetine, Fluvoxamine, Acyclovir, efavirenz, Peginterferon-α-2a, Amiodarone, Mexiletine, Propafenone, Ticlopidine, Verapamil, Rofecoxib, Tofenamide acid, Allopurinol, Cimetidine, Disulfiram, Famotidine, Grapefruit juice, Methoxsalen, Oral contraceptives, Zafirlukast 17-α-ethynylestradiol, Clopidogrel, Clotrimazole, Mifepristone (RU-486), Phencyclidine, Sertraline, Tenofovir, ThioTEPA, Ticlopidine, Voriconazole Clarithromycin, Erythromycin, Troleandomycin, Isoniazid, Metronidazole, Rifampin, Sulfamethoxazole, Trimethoprim, Fluoxetine, Fluvoxamine, Paroxetine, Sertraline, Felbamate, Valproic acid, Fluconazole, Itraconazole, Ketoconazole, Miconazole, Sulfaphenazole, Voriconazole, Efavirenz, Ritonavir, Fluvastatin, Lovastatin, Amiodarone, Cimetidine, Disulfiram, Grapefruit juice Clarithromycin, Erythromycin, Troleandomycin, Chloramphenicol, Isoniazid, Citalopram, Fluoxetine, Fluvoxamine, Moclobemide, Paroxetine, Sertraline, Antiepileptics, Felbamate, Oxcarbazepine, Topiramate, Valproic acid, Fluconazole, Ketoconazole, Voriconazole, Esomeprazole, Lansoprazole, Omeprazole, Pantoprazole, Rabeprazole, Cimetidine, Clopidogrel, Grapefruit juice, Indomethacin, Oral contraceptives, Ritonavir, Ticlopidine Clomethiazole, Diethyldithiocarbamate, Disulfiram, 4-Methylpyrazole, Orphenadrine Clarithromycin, Erythromycin, Telithromycin, Troleandomycin, Azithromycin, Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Isoniazid, Norfloxacin, Fluoxetine, Fluvoxamine, Nefazodone, Norfloxacin, Paroxetine, Sertraline, Amiodarone, Dronedarsone, Quinine, Clotrimazole, Fluconazole, Itraconazole, Ketoconazole, Miconazole, Posaconazole, Voriconazole, Cimetidine, Ranitidine, Aprenavir, Atazanavir, Cobicistat, Denoprevir, Elvitegravir, Fosamprenavir, Indinavir, Lopinavir, Nelfinavir, Paritaprevir, Ritonavir, Saquinavir, Tipranavir, Amlodipine, Diltiazem, Nifedipine, Verapamil, Ergotamines, Ticagrelor, crizotinib, Idelalisib, Imatinib, Irinotecan, Boceprevir, Telaprevir, Cyclosporine, Tacrolimus, Aprepitant, Chlorzoxazone, Cilostazol, cocaine, Conivaptan, Ethinylestradiol, Felbamate, Fosamprenavir, Grapefruit Juice, Istradefylline, Ivacaftor, Lomitapide, Mifepristone (RU-486), Nicotine, Olanzapine, Propofol, Ranolazine, Tofisopam, Zileuton
--	--

7.4. Clairance et élimination de l'apigénine et de ses métabolites

Après administration orale, environ 50 % de l'apigénine a été récupérée dans l'urine et environ 12 % dans les matières fécales (Gradolatto *et al.*, 2005). Des espèces inchangées, glucuronidées et, dans une moindre mesure, sulfonées, ont été retrouvées dans tous les excréments. Bien que la plupart des produits aient été excrétés dans les 24 premières heures, environ 25 % de la dose initiale d'apigénine ont été conservés 10 jours après le traitement. La clairance plasmatique a été estimée à 2 ml/h. Pour les humains, des espèces d'apigénine monoglucuronidées et monosulfonées ont été récupérées dans l'urine et identifiées par HPLC (Nielsen & Dragsted, 1998).

Il existe des différences dans les taux de clairance entre l'apigénine et son principal métabolite, la lutéoline. Après l'administration intraveineuse de 5,4 mg/kg d'apigénine chez le rat, la clairance de la lutéoline était de $0,450 \pm 0,03$ L/h/kg (**Chen et al., 2012 ; Ninfali et al., 2013**). La clairance de l'apigénine était de $0,065 \pm 0,005$ L/h/kg (**Chen et al., 2012 ; Ninfali et al., 2013**). Des études utilisant des hépatocytes primaires de rat suggèrent que ce taux d'élimination plus rapide de la lutéoline est probablement dû au métabolisme rapide. (**Chen et al., 2012 ; Ninfali et al., 2013**).

8. Potentiels physiologiques et pharmacologiques de l'apigénine

8.1. Potentiel physiologique de l'apigénine en tant que nutraceutique

Les aliments sont les sources des macronutriments (protéines, lipides et glucides) et de micronutriments (vitamines et minéraux) ; en plus Ils apportent à l'organisme diverses espèces de molécules non nutritionnelles appelées phytochimiques, qui ont des effets bénéfiques sur la santé (**Miccadei, 2008**).

Les effets bénéfiques de l'alimentation sur le bien-être humain consistent à recommander des produits sains et des aliments sains riches en phytochimiques pour prévenir des maladies. Parmi les phytochimiques, l'apigénine est l'un des plus réputés, grâce à ses caractéristiques nutritionnelles et organoleptiques. Ce qui pourrait conduire à une éventuelle inclusion dans des formulations nutraceutiques (**Hostetler et al., 2017 ; Kaleem et al., 2018**).

La définition du nutraceutique est inventée et déterminée par Stephen en 1995 "tout aliment, ou partie d'aliment, considéré fournir des avantages pour la santé, y compris la prévention et traitement de la maladie ». Brower (1998) a défini les nutraceutiques comme des compléments alimentaires produit par isolement ou purification par culture microbienne qui donne des avantages pour la santé. La définition de ce nouveau concept a été proposée pour mieux évaluer le terme standard du mot nutraceutique et pour le distinguer des compléments alimentaires et de nombreuses autres molécules dérivées d'aliments végétaux qui assurent des effets bénéfiques pour la santé. Les nutraceutiques doivent être administrés de manière pharmaceutique appropriée pour garantir une biodisponibilité et une efficacité élevées, et utilisés dans des domaines qui vont « au-delà de l'alimentation et avant les médicaments » (**Santini et al., 2014**). Les aliments

fonctionnels sont conçus ou complétés pour améliorer la valeur nutritionnelle et aliments médicaux ayant une valeur intrinsèque ou ajoutée des propriétés médicales.

Dans le passé, l'apigénine a été considérée en tant qu'agents chimiopréventifs. Des études approfondies réalisées chez des patients et des individus en bonne santé ont montré que l'apigénine possède des propriétés anticancéreuses. Ainsi dans une étude menée par **Nielsen et al. (1999)**, chez des sujets consommant des régimes riches en persil l'apigénine était systématiquement absorbée ; ils constatent, des niveaux plus élevés de glutathion réductase érythrocytaire et de superoxyde dismutase. Cependant, les taux de catalase érythrocytaire et de glutathion peroxydase sont restés inchangés. (**Nielsen et al., 1999**). Ainsi les flavonoïdes y compris l'apigénine induisent des réductions des taux plasmatiques de lipoprotéines de basse densité (LDL), inhibent l'agrégation plaquettaire et réduisent la prolifération cellulaire (**Surh, 2003 ; Thiery-Vuillemin et al., 2005**). Une étude transversale chez des femmes japonaises, démontre une relation inverse entre l'apport total en flavonoïdes tel que l'apigénine et la concentration en cholestérol total et en lipoprotéines de basse densité dans le plasma. Arai *et al.* 2000 et aussi Janssen *et al.* 1998 ont évalué l'impact de la consommation alimentaire quotidienne d'apigénine (84 ± 6 mg provenant du persil) et de quercétine (377 ± 10 mmol provenant des oignons) sur l'agrégation plaquettaire et d'autres mesures hématologiques dans une étude de sept jours portant sur dix-huit hommes et femmes en bonne santé. Aucune altération significative du nombre de plaquettes induites par le collagène ou l'ADP, du facteur VII, de l'activité du plasminogène et de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène-1 ou des concentrations de fibrinogène n'a été observée. Ces études mettent en évidence les propriétés inhérentes de l'apigénine et aident à la catégoriser comme un composé bénéfique aux propriétés bénéfiques pour la santé et prévenant des maladies.

8.2. Potentiel pharmacologique de l'apigénine

Un grand nombre d'études menées au fil des ans ont indiqué que l'apigénine possède de nombreuses activités pharmacologiques intéressantes. C'est un anti-oxydant puissant (**Shukla & Gupta, 2010**). Elle peut également être un agent thérapeutique efficace pour lutter contre des maladies comme l'inflammation (**Zhang et al., 2014**) , les maladies auto-immunes, neurodégénératives dont elle mené d'un potentiel neuroprotecteur dans la maladie d'Alzheimer, avec curcumine, acide docosaénoïque, épigallocatechine, gallate, acide α -lipoïque, et resvératrol (**Venigalla et al., 2015**). Même dans plusieurs

types de cancers (**Shukla et al., 2015 ; Singh et al., 2015**), elle ralentit la synthèse des œstrogènes et leur effet favorisant sur la prolifération des cellules cancéreuses (bloque une étape de la chaîne de fabrication des œstrogènes, aussi bien dans des cellules cancéreuses en culture que dans d'autres types de cellules où la synthèse des œstrogènes est habituellement très active (**Fondation pour la Recherche Médicale, 2003**) .

Apigénine est antiangiogénique comme la lutéoline. Elle inhibe la migration des cellules musculaires lisses vers le néo-vaisseau et l'invasion cellulaire en agissant sur la liaison du facteur de croissance PDGF à son récepteur (**Bédard, 2008**). Elle a une faible toxicité intrinsèque sur les cellules normales par rapport aux cellules cancéreuses, par rapport à d'autres flavonoïdes structurellement apparentés.

L'apigénine a trouvé une application profonde dans le traitement de plusieurs affections. Elle possède une activité Antiviral ; elle montre une forte activité contre les virus à ADN : Herpes-virus-2 (HSV-2), Adenovirus-3 (ADV-3), virus de l'hépatite B (HBV) par son antigène de surface (**Chiang et al., 2005**).

La présence d'apigénine dans la passiflore la rend utile pour traiter l'asthme, la névralgie, le zona, l'insomnie intransigeante et la maladie de Parkinson (**Ornano et al., 2016**). De même, la teneur élevée en apigénine de la camomille en fait un bon agent antiphlogistique, antispasmodique et antibactérien. Pendant des siècles, le thé à la camomille a été utilisé comme remède de la médecine populaire. La consommation de 3 à 4 tasses de thé à la camomille par jour a été utilisée pour soulager l'indigestion ou calmer la gastrite et comme produit de soin de la peau réduisant l'inflammation cutanée et les problèmes dermatologiques (**Fatma et al., 1979**). Les études apportant des preuves objectives des propriétés bénéfiques de l'apigénine sur la santé humaine sont assez limitées ; cependant, certaines études épidémiologiques et cliniques prouvent que l'apigénine est utile pour lutter contre les maladies coronariennes. Elle est Vasorelaxante (**Dong et al., 2011**) qui entraîne une relaxation artérielle et inhibe la contraction de l'aorte induite par de fortes concentrations de calcium et potassium, ainsi que par l'épinéphrine (**Feng-Nein et al., 1991**). Elle inhibe l'agrégation plaquettaire, Elle a un effet Anxiolytique. C'est un ligand compétitif pour les récepteurs benzodiazépiniques centraux, sédatif sans effet anticonvulsivant ni myorelaxant, hypnotique (**Zanoli et al., 2000**). Il a un effet hypouricémiant par inhibition de la xanthine oxydase (**NORO et al., 1983**)

L'apigénine est efficace contre l'irritation gastro-intestinale, les troubles dermatologiques, pour soulager la douleur du travail et pour fournir des effets

antidépresseurs, calmants et relaxants. En outre, plusieurs études révèlent que les propriétés anticancéreuses de l'apigénine sont médiées par des réponses aux dommages de l'ADN par le stress oxydatif, l'inhibition de l'angiogenèse et de l'inflammation, la suppression de la croissance cellulaire et l'induction de l'apoptose et de l'autophagie. Au niveau moléculaire, l'apigénine reste un inhibiteur bien connu de plusieurs protéines-tyrosine et sérine-kinases, notamment MAPK, PI3K-Akt, Src kinase, caséine kinase 2, kinases régulées par le cycle cellulaire, JAK kinases affectant diverses voies de signalisation, y compris IGF-croissance axe, NF- κ B, Stat-3, p53, etc. D'autres cibles putatives de l'apigénine comprennent les protéines de choc thermique (**Ornano et al., 2016 ; Stassi et al., 1998**), la télomérase (**Alquasoumi et al., 2013**), l'acide gras synthase (**Venditti et al., 2018**), les métalloprotéinases matricielles (**Forkmann, 1991**) et les arylhydrocarbures récepteur HER2/neu, qui ont tous un rapport avec l'initiation de plusieurs tumeurs malignes humaines. (**Herrmann, 1995**)

9. Innocuité et toxicité de l'apigénine

Les flavonoïdes sont supposés être sûrs sur le plan nutritionnel. L'apigénine possède une faible toxicité (**Patel et al., 2007**) Cependant, l'évaluation de la toxicité aiguë de l'apigénine n'a entraîné aucune mortalité ni signes de toxicité chez les souris/rats à des doses orales allant jusqu'à 5000 mg/kg (**Shoubaky et al., 2016**). De plus, l'évaluation *in vitro* de la cancérogénicité prouvé que l'apigénine n'a aucun effet toxique ou mutagène (**Czeczot et al., 1990 ; Birt et al., 1986**). Curieusement, après 30 min de traitement *in vitro*, l'activité hémolytique de l'apigénine a été signalée comme étant plus faible supérieur à la limite acceptable de 5 % signifiant sa potentielle sécurité des doses intraveineuses (**Banerjee et al., 2015**). Glycosides d'apigénine dans les sources alimentaires n'ont pas été signalées comme ayant des substances toxiques, cependant, la consommation à fortes doses ou prolongée l'utilisation en tant que compléments alimentaires ou pharmaceutiques doit être considéré. Chez les souris Swiss mâles, l'apigénine stimule le stress oxydatif suivi de lésions hépatiques à des doses de 100 et 200 mg/kg, lorsqu'il est administré par voie intra-péritonéale en une seule dose (**Singh et al., 2012**). De même, dans une étude *in vitro*, le traitement d'une lignée cellulaire normale de foie de truite avec de l'apigénine pendant 24 h a provoqué une hydroxylation qui pourrait entraver la croissance cellulaire à une concentration de 25 μ M (**Tsuji, 2008**).

Des rats ont été traités avec apigénine par voie intragastrique à la dose de 8000mg/kg pendant deux semaines. Aucun symptôme toxique évident ou décès n'a été remarqué.

Selon le test de toxicité aiguë, on suppose que la DL50 du test de toxicité aiguë chez le rat est supérieure à 8000 mg/kg, ce qui suggère que les rats présentent une tolérance élevée à l'apigénine. D'autre part, l'apigénine a été administrée à des rats à des doses de 0, 2, 4, 6 et 8,0 g/kg pendant 45 jours. Aucun changement significatif n'a été observé dans les paramètres biochimiques du sang ; l'alanine aminotransférase (ALT) et l'aspartate aminotransférase (AST). De plus, les rats traités avec de l'apigénine pendant 13 semaines n'ont pas non plus affecté significativement Le poids corporel et apport alimentaire total, confirmant en outre que l'apigénine est sans danger pour les rats **(Sui, 2009)**.

Partie 02

Apigénine-

Stress oxydatif

Le stress oxydatif n'est pas une maladie mais il crée les conditions de la maladie ou les accélère. Le diagnostic et le suivi sont donc importants dans le cadre de la médecine préventive, de la santé, du suivi des traitements et des pathologies. Le stress oxydatif est impliqué dans le développement de nombreuses pathologies et dans le processus de vieillissement. Un certain engouement a pu faire penser que les antioxydants pouvaient être la solution pour traiter et prévenir les maladies les plus graves, et bien vieillir (**Boubali, 2017**).

L'apigénine est caractérisé par un large spectre d'activités biologiques. Les principaux résultats de la recherche *in vitro* et *in vivo*, y compris les modèles animaux et les études humaines, confirment ses effets bénéfiques rapportés dans plusieurs pathologies telles que les maladies du système nerveux comme la maladie d'Alzheimer, le cancer, le diabète.....etc. (**Salehi et al., 2019**).

Dans cette partie, on s'intéresse du grand potentiel antioxydant caractéristique de l'apigénine. Des modifications des biomarqueurs du stress oxydant et de l'évolution clinique ont été étudiées lors de l'administration de l'apigénine, soit dans des modèles animaux, soit dans des essais cliniques. En outre, la capacité de l'apigénine à traverser la barrière hémato-encéphalique lui confère des propriétés neuro-protectrices. Dans le cancer, l'apigénine semble exercer plusieurs effets bénéfiques, ainsi dans les maladies cardiaques et d'autres maladies. Enfin, les effets antitoxiques de l'apigénine ont été évalués dans des modèles expérimentaux.

1. Définition

Le stress oxydatif ou le stress oxydant, est défini comme un déséquilibre entre la production d'oxydants et les mécanismes de défense antioxydant au sein d'un même organisme, ce qui conduit à des dommages dans les biomolécules comme les lipides, les protéines et les acides nucléiques (**Niki, 2018 ; Tu et al., 2019**). Ces dommages sont impliqués dans le développement de nombreuses pathologies chroniques telles que le diabète, le cancer, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives (**Matschke et al., 2019**). En effet, tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène produisent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui jouent un rôle important dans les fonctions physiologiques des organismes. Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité des radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas de ressources anti

oxydantes (vitamines, oligoéléments, enzymes) suffisantes pour les éliminer (Niki, 2018 ; Tu *et al.*, 2019).

2. Définition des Radicaux libres

Les radicaux libres sont des substances chimiques très réactives comportant un nombre impair d'électrons (**Figure 10**). Ces derniers peuvent semer le désordre dans la structure des protéines cellulaires, des lipides membranaires et des acides nucléiques. Ces radicaux peuvent éventuellement entraîner la mort cellulaire et des maladies telles que : Les maladies cardiaques, le cancer (Pincemail *et al.*, 1999) et la maladie d'Alzheimer.

L'appellation espèces réactives de l'oxygène (ERO) inclut les radicaux libres de l'oxygène Anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), radical hydroxyle ($OH^{\bullet}$) et certains dérivés oxydés non radicalaires tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Badeau, 2006).

Ces espèces sont formées de façon continue dans l'organisme sain, en particulier par fuite d'électrons à partir de la chaîne respiratoire. Elles peuvent également être générées suite à une respiration excessive, un exercice physique ou un stress, ou même à une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants : tabac, alcool, amiante... etc. (Aurousseau, 2002).

Tableau03 : Origine des espèces réactives de l'oxygène. Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées (Migdal & Serres, 2011).

Réduction tétravalente de l'oxygène		$O_2 + 4 e^- + 4 H^+ \rightarrow 2 H_2O$
$O_2^{\bullet-}$	Anion superoxyde	1 $O_2 + 1 e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène	2 $O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} (+ 2 H^+) \rightarrow H_2O_2 + O_2$
$\cdot OH$	Radical hydroxyle	3 $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow \cdot OH + Fe^{3+} + OH^-$ 4 $H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$ 5 $H_2O_2 + 2 GSH \rightarrow 2 H_2O + GSSG$
$RO_2^{\bullet}$	Radical peroxyde	6 $R^{\bullet} + O_2 \rightarrow RO_2^{\bullet}$
RO_2H	Hydroperoxyde	7 $RO_2^{\bullet} + RH \rightarrow RO_2H + R^{\bullet}$
$RO^{\bullet}$	Radical alkoxyde	8 $RO_2H + Fe^{2+} \rightarrow RO^{\bullet} + Fe^{3+} + OH^-$

3. Principales étiologies du stress oxydatif

3.1. Origine du stress oxydatif

Le stress oxydatif peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents prooxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs prooxydants (Tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets (Magder, 2006).

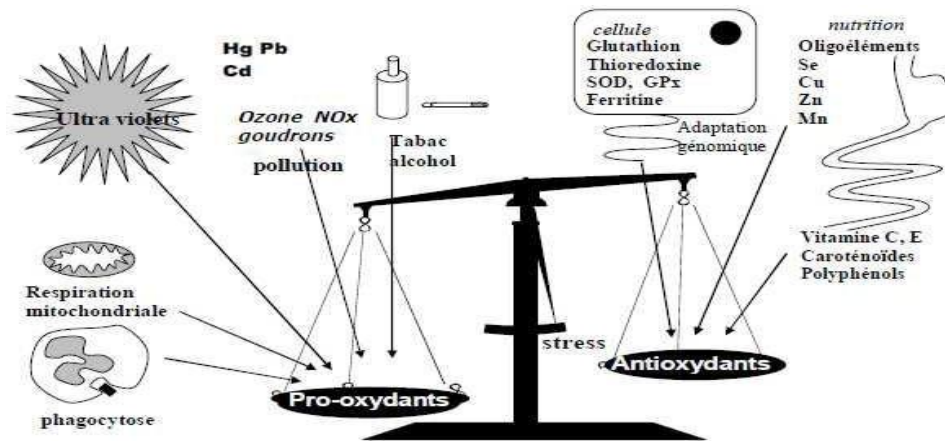


Figure 10. La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006).

3.2 Sources des radicaux libres

Les êtres humains sont constamment exposés aux radicaux libres. En effet, les sources de radicaux libres sont variées : la pollution atmosphérique, la cigarette, le rayonnement UV, les radiations ionisantes, les radiations cosmiques, le métabolisme cellulaire (activité mitochondriale, réactions enzymatiques), l'inflammation et les métaux toxiques (Favier, 2006).



Figure 11. Sources des radicaux libres. (Favier, 2006)

4. Mécanismes d'action des radicaux libres

Les radicaux libres entraînent des dommages de toutes les macromolécules cellulaires, y compris les protéines, les hydrates de carbone, les lipides et les acides nucléiques (l'ADN et l'ARN), ce qui est à l'origine des maladies chroniques et dégénératives. Les ERO interagissent avec des acides aminés spécifiques des chaînes peptidiques, ce qui entraîne des modifications structurelles dues à la fragmentation de la chaîne peptidique et à l'altération de la charge électrique, par conséquent, une inactivation des protéines se produit (Noorietal, 2012).

L'abstraction d'un atome d'hydrogène à partir des acides gras polyinsaturés des phospholipides membranaires, initie le processus de peroxydation lipidique qui favorise la propagation des réactions des radicaux libres (Edziri & Sharma, 2012).

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) brisent les brins d'ADN et provoquent la dégradation et l'oxydation des sucres et des bases azotées, qui se traduisent par des mutations génétiques (Sharma et al., 2012).

Les différents dommages engendrés par ces radicaux libres sur les macromolécules biologiques sont résumés dans la figure suivante.

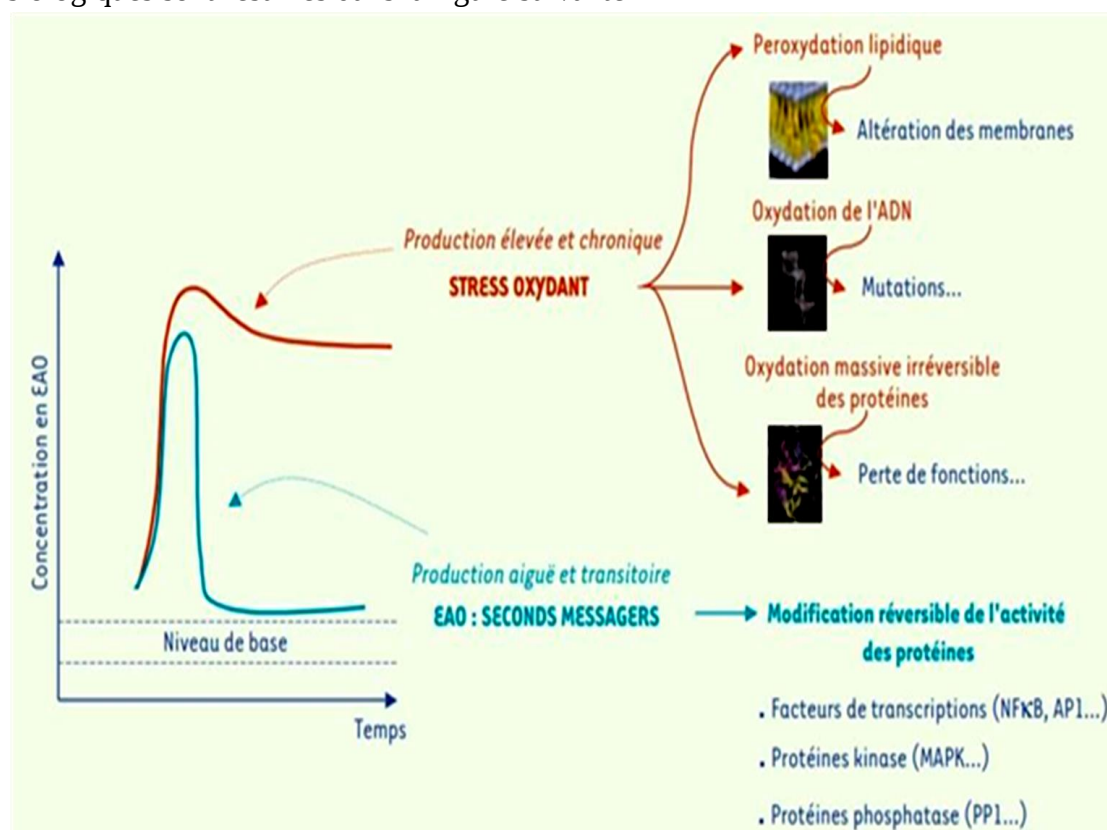


Figure 12. Conséquences des ERO sur les molécules biologiques. (Carriere et al., 2017).

Les radicaux libres sont hautement réactifs, ils ont été considérés comme des agents cytotoxiques en raison des dommages oxydatifs qu'ils peuvent provoquer à la cellule. Lorsqu'ils réagissent avec des classes importantes de molécules biologiques, y compris les acides nucléiques, les protéines, les lipides et les glucides (**Favier, 2003**).

4.1. Oxydation de l'ADN

Les ROS entraînent la formation de 8-hydroxyguanine et 8-hydroxy-2-déoxyguanosine provoquant une rupture de l'ADN. Des perturbations sur la multiplication, la transmission ou la réplication sont notées. L'accumulation des dommages moléculaires et cellulaires serait responsable du vieillissement. Sur le long terme, ces ruptures peuvent provoquer le développement d'un cancer (**Jadot, 1994 ; Pasquier, 1995**).

4.2. Oxydation des protéines

L'oxydation des protéines par les ROS consiste à introduire un groupe carbonyle dans la protéine. Cette réaction est influencée par les cations métalliques comme l'ion cuivre (Cu^{2+}) et l'ion fer (Fe^{2+}), elle conduit à la modification de la chaîne protéique et donc un changement structural des protéines dont les conséquences majeures sont

- la perte de la fonction catalytique (protéine non fonctionnelle).
- l'inactivation des enzymes (alcool déshydrogénase, pyruvate kinase).
- l'altération des récepteurs et des transporteurs.
- l'oxydation accrue des protéines provoque une diminution de la protéolyse cytosolique et plus particulièrement de l'activité des protéasomes (**Sergent et al., 2001; Garait, 2006**).

4.3. Peroxydation lipidique

Les membranes riches en acides gras polyinsaturés AGPI, sont très sensibles à l'oxydation par les ROS en raison de leur degré élevé d'insaturation (**Hulbert, 2005**). L'oxydation des lipides comporte trois phases : l'initiation, la propagation et la terminaison afin de modifier la fluidité, et la perméabilité membranaire (**Durand et al. 2013**).

➤ L'initiation

Les ERO arrachent un atome d'hydrogène provenant d'un groupement méthylène ($-\text{CH}_2-$) porté par un AGPI, et aboutit à la formation d'un radical alkyle ($\text{L}^\bullet$) ce dernier

va induire des remaniements électroniques conduisant à la formation d'un radical diényl caractérisé par la présence de deux doubles liaisons conjuguées (**Michael, 2007**).

➤ **La propagation**

Le radical diényl se combine avec l'oxygène pour former un radical peroxyde ($\text{LOO}^\bullet$). Ce dernier est capable de réagir avec une molécule lipidique voisine entraînant la formation d'un hydro peroxyde (LOOH) et d'un nouveau radical alkyle ($\text{L}^\bullet$) qui assure la propagation de la réaction. La présence des métaux de transition permet aux LOOH de se décomposer spontanément, aboutissant à la formation de radicaux alkoxydes ($\text{LO}^\bullet$), peroxydes ($\text{LOO}^\bullet$) et aussi les aldéhydes (**Hong et al., 2004**).

➤ **La terminaison**

Après avoir atteint une vitesse maximale d'oxydation, le radical ($\text{L}^\bullet$) réagit avec un autre radical libre ($\text{LOO}^\bullet$) ou ($\text{L}^\bullet$) permettant la neutralisation des radicaux (**Marnett et al., 1999**).

4.4. Oxydation des glucides

Les radicaux libres ($\text{HO}^\bullet \dots$) sont capables de couper les molécules de sucres et de susciter ainsi des liaisons entre sucres et protéines provoquant des épaissements membranaires. Les radicaux libres de l'oxygène provoquent aussi une fragmentation des polymères de glucides (**Pasquier, 1995**).

5. Rôles physiologiques des ROS et les RNS

Malgré leur mauvaise réputation, les espèces réactives de l'oxygène ROS et de l'azote RNS à des basses concentrations sont impliquées dans la régulation et la signalisation cellulaire, elles peuvent physiologiquement induire l'apoptose qui est un mécanisme essentiel dans l'homéostasie cellulaire, ou encore dans la réponse inflammatoire immunitaire (**Vamecq et al., 2004 ; Liochev, 2013**). De nombreux fixent à leurs récepteurs induisant des ERO qui participent alors à la transduction et à l'amplification du signal (**Migdal & Serres, 2011**).

Toutes les ERO les espèces réactives de l'azote (ERA) interagissent les unes avec les autres afin de détruire le pathogène après la phagocytose du pathogène, les phagocytes augmentent considérablement leur consommation d'oxygène.

L'oxygène est réduit par la NADPH oxydase (NOX2) phagocytaire en $O_2^{\bullet-}$ qui est lui-même bactéricide, et par formation d'autres espèces comme le H_2O_2 et en présence de métaux de transition, peut donner naissance au puissant radical hydroxyle ($HO^{\bullet}$). En parallèle, les myéloperoxydases (MPO), en milieu acide catalysent l'oxydation des ions halogénures par H_2O_2 pour former $HOCl$ et enfin, les NO synthase inductibles (iNOS) forment des ERA et notamment le $NO^{\bullet}$ qui réagit avec l' $O_2^{\bullet-}$ et donne naissance au peroxynitrite $ONOO^-$ (Migdal & Serres, 2011).

6. Pathologies liées au stress oxydatif

Tableau 04. Exemple de pathologies liées aux stress oxydatif (Bensakhria, 2018).

Maladies où le stress oxydatif est la cause primordiale **Cancers, Auto-immunité, Cataracte.**

Maladies où le stress oxydatif est le facteur déclencheur	Maladies où le stress oxydatif est le facteur déclencheur
Maladies entraînant un stress oxydatif secondaire	Diabète, Insuffisance rénale, Maladie de Parkinson

7. Système de défense antioxydant

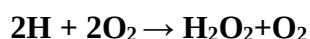
Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques. On divise les antioxydants en deux grandes classes : les antioxydants endogènes (enzymatiques) et les antioxydants exogènes (non enzymatiques), selon qu'ils soient produits ou non par l'organisme.

Les antioxydants endogènes se retrouvent sous forme d'enzymes produites par l'organisme telle que la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase, toutes trois présentes dans le cytoplasme, le milieu Extra cellulaire et la mitochondrie. Ces enzymes jouent un rôle très important dans le maintien de la santé (Baba & McGrath, 2008). Les antioxydants exogènes sont fournis par l'alimentation. On retrouve le bêta-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E), le lycopène et les polyphénols. Il y a aussi divers minéraux tels le zinc, le sélénium, le cuivre, le manganèse et le fer.

7.1. Système antioxydants enzymatique

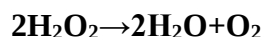
➤ Le superoxyde dismutase (SOD)

La SOD est une métalloprotéine capable d'éliminer l'anion superoxyde par une action de dismutation. Cette réaction aboutit, à partir de deux molécules superoxydes, à la formation d'une molécule d'oxygène et d'une molécule de peroxyde d'hydrogène (Garrel *et al.* 2007).



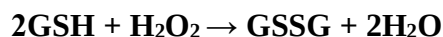
➤ La catalase

La catalase est une enzyme tétramérique, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH, Elles catabolisent les peroxydes d'hydrogènes en molécules d'eau pour prévenir la formation de radicaux hydroxyles (Mates *et al.* 1999).



➤ La glutathion peroxydase (GPX)

Les principales enzymes capables de détruire le peroxyde d'hydrogène sont les catalases dont le fer est le cofacteur et les glutathion peroxydases à cofacteur sélénium (Favier, 2003). La glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du H_2O_2 en H_2O et O_2 . Lors de cette réaction deux molécules de glutathion (GSH) sont oxydées en glutathion-disulfure (GSSG) (Mates *et al.* 1999).



7.2. Antioxydants non enzymatique

Contrairement aux antioxydants enzymatiques, la plupart de ces composés ne sont pas produits par l'organisme et peuvent provenir de nourriture. Ces composés comprennent de petites molécules telles que les vitamines, Les caroténoïdes, les polyphénols, le glutathion et l'ubiquinone. Les antioxydants non enzymatiques sont

caractérisés par de faibles poids moléculaire et la capacité à prévenir et/ou à réduire les dommages au stress oxydatif (Nimse *et al.*, 2015).

➤ La vitamine E

Elle possède quatre isomères de tocophérol, α , β , γ et δ avec une activité anti oxydante variable (Luciano *et al.* 2017). La vitamine E présente dans les huiles végétales, les pépins, le germe et les grains de blé (Blumbergetal, 2018). L' α -tocophérol (α -TOCH) est la forme la plus active de la classe des tocophérols, elle est liposoluble, se fixe sur la membrane cellulaire et inhibe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides en capturant le radical lipidique peroxyde ($\text{LOO}^\bullet$), alkoxyl ($\text{LO}^\bullet$) et alkyl ($\text{L}^\bullet$) (Figure 13). Elle devient à son tour un radical moins actif que le $\text{LOO}^\bullet$ et pourra alors être pris en charge par une autre molécule antioxydante (Liu *et al.* 2018).

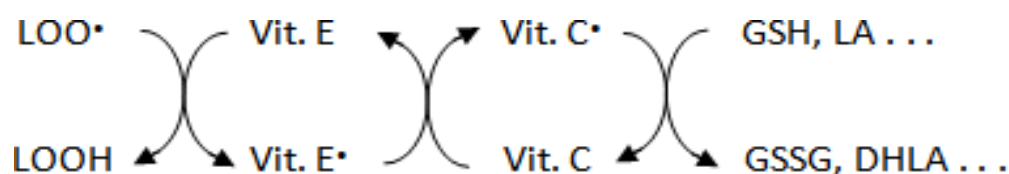


Figure 13. Elimination des radicaux libres par la vit.E, la vit.C et le glutathion (Ashor *et al.* 2016).

➤ L'acide ascorbique ou vitamine C

Il est hydrosoluble. Même si la plupart des mammifères peuvent la synthétiser, l'organisme humain en a perdu la capacité au cours de l'évolution. Il doit donc la puiser chaque jour dans les aliments. Les principales sources de vitamine C sont les fruits (en particulier les baies) et les légumes-feuilles (Ashoret *al.* 2016). La Vitamine C est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés aussi bien hautement réactifs tels que les radicaux $\text{d'OH}^\bullet$ et $\text{d'O}_2^\bullet$ (Smirnoff, 2018). Sa capacité de donation d'électrons dans une large gamme de réactions enzymatiques et non enzymatiques. La Vitamine C empêche l'oxydation des lipoprotéines de faible densité LDL produites par divers systèmes générateurs de radicaux libres. Elle peut aussi réduire le radical α -tocophérol (Xiong *et al.* 2017). Ce qui lui permet de jouer son rôle d'antioxydant à plusieurs reprises (Ashor *et al.* 2016).

➤ Le glutathion(GSH)

C'est un tri peptide (L- γ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine) dont la fonction thiol lui confère un rôle d'antioxydant (Paculaet *al.* 2017). Le glutathion intervient comme

agent détoxiquant dont il participe à la neutralisation de certains radicaux libres et il agit comme cofacteur de l'enzyme glutathion peroxydase (GPx). Le glutathion réduit (GSH), réduit le H_2O_2 et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la GPx (**Paculaet al. 2017**). Le glutathion peut aussi réduire d'autres radicaux libres tels que $LO^\bullet$, $LOO^\bullet$ et $l'O_2^{\bullet-}$, comme il peut réduire d'autres radicaux de nitrogène et de carbone pour former le radical gluathionthiyle ($GS^\bullet$). Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car plus le flux d' H_2O_2 est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté (**Herzogetal, 2019**).

➤ Les caroténoïdes

Ce sont des pigments liposolubles jaunes, orangée à rouge, synthétisés par les plantes et les microorganismes. En plus de leur activité de provitamine A, les caroténoïdes sont généralement de bons capteurs des radicaux hydroxyles et peroxydes ce qui les rend susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique (**Zuluaga et al. 2017**). En outre, les caroténoïdes ont un rôle spécifique de capter l'oxygène singlet ($1O_2$) en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules ou ions stables, ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets de la lumière solaire (**Eggersdorfer et Wyss, 2018**).

➤ Les polyphénols

Plusieurs études ont montré qu'il y a un rapport inverse entre la prise d'aliments riches en polyphénols (les fruits et les légumes) et le risque des maladies reliées à l'âge comme les maladies neuro dégénératives et les maladies cardiovasculaires (**Hahn et al. 2017 ; Fraga et al. 2019**). Cette relation est souvent attribuée aux puissantes activités anti-oxydantes des flavonoïdes et d'autres polyphénols associées à leurs propriétés redox permettant d'éliminer ou capture les effets d'espèces réactives de l'oxygène ainsi que de chélater les différents métaux de transition et inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des ERO comme la Xanthine oxydas (**Xu et al.,2017; Serino & Salazar, 2019**).

➤ Les oligoéléments

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes

anti oxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium. Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action pro oxydante (réaction de Fenton, d'Haber-Weiss). (Jill *et al.*, 1992).

8. Les marqueurs biologiques du stress oxydant

Un marqueur biologique est une entité chimique ou événement cellulaire qui est un indicateur de l'état biologique. Un biomarqueur du stress oxydant permet d'évaluer les ROS.

8.1. Les principaux biomarqueurs du stress oxydant

A. Marqueurs d'oxydation lipidiques

➤ Malonedialdéhyde (MDA)

Il est quantifié par le test des « TBA réactive substance » (TBARS), l'acide 2-thiobarbiturique (TBA) forme un adduit avec le MDA qui permet sa quantification.

➤ 4-hydroxynonénal (4-HNE)

C'est un marqueur plus spécifique.

➤ Isoprénones

➤ Anticorps anti-LDL oxydés.

B. Marqueurs d'oxydation protéique

Les protéines carbonylées notamment la **bityrosine**, la **L-Dopamine** et l'**orthotyrosine** sont dosées par spectrophotométrie après réaction avec la dinitrophénylhydrazine (DNPH). Il se forme la dinitro phényl hydrazone qui absorbe à 380 nm. D'autres méthodes de dosages peuvent être utilisées telles que les techniques immuno enzymatiques et la chromatographie liquide haute performance HPLC.

Le dosage des groupements thiols peut aussi s'avérer important, vu la concordance des résultats avec les réactions d'oxydation protéique. Une des méthodes de dosages utilisées est une méthode colorimétrique après réaction d'oxydoréduction, les groupements SH réduisent le DTNB (acide dithionitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman

en TNB (l'acide thionitrobenzoïque) jaune ayant une absorption maximale à 412-415nm.

C. Marqueurs d'oxydation nucléique

- **8-OHDG (8-Oxoguanosine).** Sa présence dans l'ADN peut aboutir à des Transversions de bases azotées GC vers TA responsable de mutations voire une cancérogenèse. Ce marqueur est recherché dans cellules circulantes (Test des « comètes »). (**Bensakhria., 2018**).

9. Effet de l'apigénine sur le stress oxydatif

Selon des résultats des recherches effectués in vitro et in vivo, sur les modèles animaux et les études humaines, l'apigénine montre effets bénéfiques dans plusieurs pathologies telles que les maladies du système nerveux, le cancer, le diabète et les intoxications. Cet effet se traduit par une augmentation des biomarqueurs anti-inflammatoires et/ou une diminution des biomarqueurs proinflammatoires.

L'apigénine présente des propriétés anti-oxydantes médiées par des enzymes anti-oxydantes telles que SOD, glutathion peroxydase (GSH-PX), catalase (CAT), glutathion réductase (GR) et également par le glutathion réduit (GSH). Les sujets humains supplémentés avec du persil fournissant 3,73 à 4,49 mg d'apigénine pendant 2 semaines ont entraîné une augmentation des niveaux de GR et de SOD par rapport au groupe supplémenté avec un régime riche en flavones (**Nielsen et al., 1999**). L'une des études a démontré que l'apigénine à de faibles concentrations (10, 20 et 40 mg/kg pc) protège le foie des rats contre les dommages oxydatifs induits par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en réduisant la peroxydation lipidique (LPO) et les dommages aux protéines membranaires, ainsi que en réduisant la sécrétion de marqueurs enzymatiques sériques sanguins, à savoir .

Les flavones d'apigénine et ses autres homologues assurent une protection contre l'inflammation dans différents organes, y compris l'athérosclérose dans les cellules endothéliales aortiques humaines. Les auteurs ont également suggéré que la substitution 5,7-dihydroxyle d'un cycle flavonoïde A; le groupe 4-céto du cycle C et La double liaison 2,3 et étaient les principales exigences structurelles pour l'inhibition de l'expression de la molécule d'adhésion. Les substitutions hydroxyle uniquement sur les cycles B et C mais pas sur le cycle A étaient essentielles pour l'activité

antioxydante. Des tests de chimio sensibilité avec des lignées cellulaires HeL à transfectées et transfectées par une protéine multi résistante aux médicaments (MRP1) ont montré que les valeurs IC50 pour l'apigénine, démontrant que la surexpression de MRP1 ne confère pas de résistance à ces bio-flavonoïdes. Les résultats de l'étude suggèrent que les flavonoïdes stimulent le transport du GSH médié par MRP1 en augmentant l'affinité apparente du transporteur pour le GSH et en leur conférant ainsi une propriété antioxydante (**Leslie *et al.*, 2003**).

D'autres études indiquent que l'apigénine, la chrysine et la lutéoline ont régulé à la hausse de manière dose-dépendante l'expression protéique de l'hème oxygénase 1 (HO-1) et de glutamate cystéine ligase (GCL) catalytique (GCLC) et de la sous-unité modificatrice (GCLM). Ils ont également augmenté la teneur en glutathion intracellulaire (GSH) et le rapport entre le GSH et le GSH oxydé (GSSG) en activant la protéine kinase 2 régulée par le signal extracellulaire (ERK2), le facteur 2 lié au facteur nucléaire érythroïde 2 (Nrf2), qui sont tous deux à son tour responsable de l'activation des gènes TRE et EPRE impliqués dans la synthèse de (**Huang *et al.*, 2013**).

L'ampleur de l'induction de HO-1 après l'absorption d'apigénine, et la large distribution de cette enzyme dans les tissus systémiques, sont associées aux activités biologiques intrigantes des sous-produits catalytiques de l'hème. C'est-à-dire le monoxyde de carbone (CO), le fer (Fe) et la bilirubine en fait une molécule importante pour la réponse au stress, car d'une part le CO est connu pour avoir un effet anti-inflammatoire et anti-apoptotique, d'autre part, la ferritine et la bilirubine agissent comme des antioxydants, sachant que la bilirubine améliore l'activité du SOD et CAT et inhibe l'adiponectine) (**Choi *et al.*, 1996**).

Un schéma du mécanisme oxydatif et des cibles possibles de l'apigénine sont illustrés à la **figure14**.

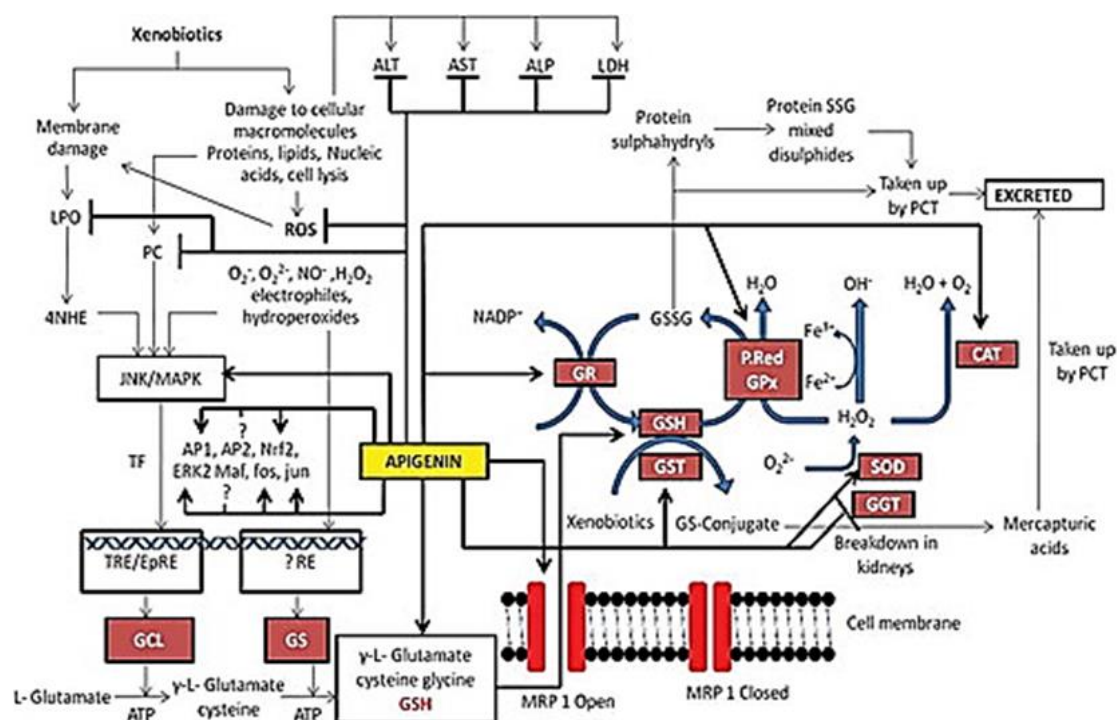


Figure 14. Cibles enzymatiques anti oxydantes de l'apigénine au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel. AST (Aspartate aminotransférase), ALT (Alanine aminotransférase), ALP (Phosphatase alcaline), LDH (Lactate déshydrogénase) GSH (Glutathion), GST (Glutathion S transférase), GPx (Glutathion peroxydase), GR (Glutathion réductase), P.Red (Peroxi-réductase), CAT (Catalase), SOD (Super oxyde dismutase, 4-HNE (4 hydroxy 2 nonéol), LPO (Peroxydation lipidique), GCL (Glutamylcystéine ligase), GS (Glutathion synthase), TF (Facteurs transcriptionnels). les têtes de flèches représentent l'activation tandis que les lignes sans têtes de flèches représentent l'inhibition (Ali et al., 2017).

Tableau 05. Effet modulateur de l'apigénine sur les marqueurs du stress oxydatif révélé dans quelques études

	Pathologies	Modèles expérimentaux et lignées cellulaires	Dose/ posologie	Effet modulateur sur les marqueurs de stress oxydatif.	Références
Maladies du système nerveux	la maladie d'Alzheimer	In vivo des souris AD	40mg /Kg pendant 3 mois	↑SOD, ↑GPX	Zhao et al. (2013)
	le déclin cognitif associé au diabète	In vivo Des rats male wistar	10, 20 et 40 mg/kg	↓MDA, ↑SOD, ↑GSH	Mao et al. (2012)
	l'excitotoxicité induite par le kainate	Souris mâles ICR (Samtako, Osan, Corée) pesant 25 à 30 g	25, 50 mg/kg	↓ROS, ↑GSH	Jin-Yi et al.(2012)
	Le Cancer du col de l'utérus	In vitro Les lignées cellulaires humaines issues du cancer invasif du col de l'utérus, ainsi que la lignée cellulaire épithéliale humaine spontanément immortalisée	10-40-50-100 µM	↓CAT, ↑H ₂ O ₂	Souza et al. (2017)
Cancer	Cancer du pancréas	In vitro : Les lignées cellulaires cellules	44 et 14 % à 50 µM pour BxPC-3	↑SOD, ↑GST, ↑CAT	Johnson González(2013)

	cancéreuses pancréatiques humaines BxPC-3 et PANC-1	et PANC-1, respectivement		
Intoxication par les nanoparticules d'oxyde de nickel dans le foie et les reins	In vivo des rats mâles Wistar	25 mg/kg	↓MDA, ↑SOD, ↑GST, ↑CAT	AtefAdel et al.(2017)
Intoxication testiculaire induite par le bisphénol A (1 mg/kg/pc/j)	In vivo Vingt-cinq rats Wistar mâles adultes (pesant de 150 à 200 g)	(20 mg/kg/ pc/jour)	↑GSH, ↓GST	Messaoudi et al. (2020)
Intoxication induite par le furane	Souris (in vitro)	5, 10 et 20 mg kg (-1) pc par jour	↑GSH, ↑GST, ↑SOD ↓ ROS	Wang et al. (2014)
Intoxication hépatique induite par le tétrachlorure de carbone	Des souris ICR mâles pesant (25 à 30 g)	60 mg/ kg 1 par jour pendant 30 jours.	↓MDA, ↑SOD, ↑GSH	Zhao et al. (2014)
Intoxication induite par l'edifenphos	Des rats albinos mâles adultes sains (pesant entre 150 et 250 g)	10 mg	↑GSH, ↑GST, ↑SOD, ↑CAT	Ajaz Ahmad et al. (2019)
de la toxicité induite par le phosphore d'aluminium (AlP)	Les rats expérimentaux mâles de souche Wistar (âgés de 8 à 9 semaines) pesant de 180 à 250 g	(10, 20, 50 et 100 μM)	↓MDA, ↑SOD,	Jahedsania et al.(2020)

Maladies cardiaques

Maladies cardiométaboliques	In vivo 057BL /6J(high fat died) pendant 8 semaines	10 mg/kg	↓MDA, ↑SOD.	Yajie et al. (2021)
lésions du myocarde induites par l'anoxie/réoxygénation.	In vitro human misenchymal stem cells Pendant 2j rat H9c2 et néonatal	40 µM	↓ROS	Chen et al. (2016)
lésions d'ischémie/reperfusion (I/R) du myocarde.	Des rats mâles Sprague-Dawley (SD) pesant environ 250 à 300 g	5 mg/kg	↓MDA, ↑SOD	Xia Yang et al. (2015)
lithiase urinaire induite par l'éthylène glycol	des rats normaux et urolithiatiques	(0,005, 0,01 et 0,02 g/kg)	↓MDA	Atefeh et al. (2019)
La néphropathie diabétique	In vivo Des rats wistar mal	5mg /kg , 10mg/kg 20mg/kg	↓MDA, ↑SOD, ↑GSH	Malik et al.2017
les dommages induits par le stress oxydatif dans les cellules ostéoblastiques	la lignée cellulaire ostéoblastique de souris MC3T3-E1.	1 µM	↑SOD, ↑SOD2 ↑GPX	Jung (2014)
L'atrophie des muscles squelettique des	In vivo, souris males âgés	25mg/kg/jours 50mg/kg/jours	↓MDA, ↑SOD, ↑GPX	Dongtao et al. (2022)

Autres maladies

personnes âgées		100mg/kg/jours		
La cécité chez les personnes âgées	(in vitro) lignée cellulaire humaine RPE ARPE-19	400 µM pendant 6 h.	↓ROS ↓MDA, ↑SOD, ↑GSH, ↑GPX	Xinrong et al. (2016)
le stress oxydatif induit par les rayonnements gamma	souris albinos suisses.	15 mg/kg	↑SOD, ↑GSH, ↑GPX, ↑CAT	Begum et al. (2012)

Partie 03

Apigénine-
Inflammation

L'apigénine a montré des activités fonctionnelles qui suggèrent qu'elle pourrait jouer un rôle mentionné dans la prévention d'un large spectre de maladies chroniques. Les principaux résultats de la recherche *in vitro* et *in vivo*, y compris les modèles animaux et les études humaines, confirment les effets bénéfiques rapportés dans plusieurs pathologies telles que le diabète, l'amnésie et la maladie d'Alzheimer, la dépression et l'insomnie, le cancer, ...etc. (Salehi *et al.*, 2019).

Dans cette partie, un accent particulier sera mis sur le grand potentiel anti-inflammatoire que possède l'apigénine. Par conséquent, son aptitude à inhiber les principales voies responsables de l'activation de systèmes immunitaire et de l'expression et de la libération de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires sera discutée. De plus, des modifications possibles des biomarqueurs de l'inflammation et de l'évolution clinique ont été étudiées lors de l'administration de l'apigénine, soit dans des modèles animaux, soit dans des essais cliniques. En outre, la capacité de l'apigénine à traverser la barrière hémato-encéphalique a été exploitée pour étudier leurs propriétés neuroprotectrices. Dans le cancer, l'apigénine semble exercer plusieurs effets bénéfiques, même si des données contradictoires sont rapportées quant à son influence sur les cellules T régulatrices. Enfin, les effets de l'apigénine ont été évalués dans des modèles expérimentaux d'allergies et de maladies auto-immunes.

1- Définition de l'inflammation

La réaction inflammatoire est un mécanisme de réponse non spécifique de l'organisme envers une agression exogène ou endogène de nature physique tel que la chaleur, le froid, les rayonnements ionisants... ou des éléments solides ; de nature chimique tel que les piqûres d'insecte, certains produits chimiques ou biologiques comme les composés issus de la réaction immunitaire (complexes immuns, anticorps cytotoxiques, cytokines...) ou de nature microbiens. Elle est la réponse typique du système immunitaire inné caractérisée par les 4 signes cardinaux de Celsius (1er siècle) : « Rubor et tumor cum calore et dolore » (rougeur et gonflement avec chaleur et douleur). Quelques siècles plus tard, Galien y ajouta un 5ème signe : « functio laesa » (perte de fonction) (**Russo-Marie et al., 1998**).

La réaction inflammatoire fait appel à différents systèmes (vasculaire, endocrinien et même nerveux), à différentes cellules (cellules résidentes et recrutées) poly nucléaires neutrophiles, mastocyte, macrophages) et à différents médiateurs chimiques ; médiateurs préformés et néoformés ; histamines, interleukines (IL), Tumor necrosis factor (TNF).... Elle se déroule en 3 étapes :

- Une phase d'initiation qui fait suite à un signal de danger et qui met en jeu des effecteurs primaires.
- Une phase d'amplification avec la mobilisation et l'activation d'effecteurs secondaires.
- Une phase de résolution et de réparation qui tend à restaurer l'intégrité du tissu agressé.

Elle peut être aiguë, voire suraiguë ; se manifeste immédiatement après l'intrusion des micro-organismes et dure jusqu'à 48 h environ ou chronique et dure des semaines, voire des années. (**Zerbato, 2010**)

Normalement l'inflammation est un processus bénéfique dont le but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Mais dans certaines circonstances, à cause de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire,

ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation, elle devient néfaste

2- Principales étiologies de l'inflammation

La réaction inflammatoire peut être la conséquence de :

- **Pathologies infectieuses** : (bactériennes, virale, parasitaire ou fongique (**Beaudeau & Durand, 2011**).
- **Pathologies systémiques** : tel les vascularites comme la maladie de Horton ou la péri-artérite noueuse. Et les connectivites auto-immunes comme le lupus érythémateux systémique et les rhumatismes inflammatoires chroniques comme la polyarthrite rhumatoïde (**Beaudeau & Durand 2011**).
- **Pathologies néoplasiques** : Environ 50% des cancers s'accompagnent à un syndrome inflammatoire biologique (**Beaudeau & Durand 2011**).
- **Autres causes** : maladies cardiovasculaires comme les thromboses veineuses profondes, maladies intestinales inflammatoires comme la maladie de Crohn ou la rectocolite hémorragique, agression par agents physiques ou chimiques : traumatisme, chaleur, froid, radiations, toxines, venins. (**Ouhriche, 2017**)

3 Mécanismes de l'inflammation

3.1 Initiation

La réaction locale immédiatement observée lors d'une agression antigénique (douleur, phase vasculaire) est la conséquence de :

- Activation des plaquettes (adhésion, agrégation, dégranulation). Il en résulte une libération de médiateurs (facteurs vasoactifs) comme la sérotonine, une production des cytokines et des facteurs de croissance actifs sur la phase vasculaire avec recrutement et activation des cellules inflammatoires (comme les neutrophiles et les monocytes).
- Activation des cellules endothéliales grâce à l'expression accrue des molécules de surface et à la libération de médiateurs
- Activation des éléments du système de contact et libération de la bradykinine

- Activation de la coagulation avec formation d'un caillot de fibrine
- Activation de la fibrinolyse qui dissout le caillot de fibrine, et production de plasmine qui active le complément et entraîne la libération par la cascade du complément d'anaphylatoxines C3a, C5a et de la C2-kinine (facteurs chimiotactiques, vasoactifs). La libération de facteurs vasoactifs entraîne une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité vasculaire. Ces deux événements sont responsables de l'apparition d'un œdème. Ces facteurs, additionnés des facteurs chimiotactiques et de l'expression des molécules d'adhérence favorisent le recrutement des cellules inflammatoires. (Zerbato, 2010)

3-2 Amplification

3-2-1 Rôle des cellules

La réaction inflammatoire implique différents types de cellules (endothéliales, sanguines, résidentes tissulaires)

- **Les cellules endothéliales** : elles permettent l'adhésion puis la migration à travers l'endothélium des leucocytes. Ce passage se fait en 3 étapes :

L'adhérence par roulement à l'endothélium appelé aussi Rolling, L'adhérence ferme ou margination, Diapédèse.

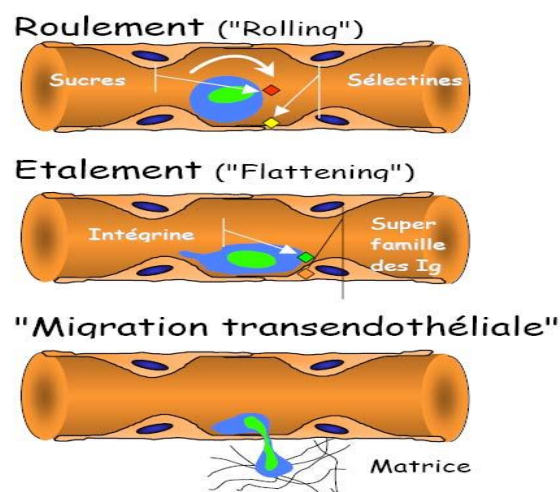


Figure 15. Les trois étapes de la traversée de l'endothélium par les leucocytes.

(Prin et al., 2009)

- **Les cellules sanguines** : lors d'une réaction inflammatoire, on observe un afflux de polynucléaires (neutrophiles qui exercent surtout des activités d'endocytose et de phagocytose, éosinophiles) ou de cellules mononuclées (monocytes, lymphocytes)
- **Les cellules résidentes tissulaires** : sont constituées par les mastocytes et les macrophages qui vont organiser la mise en place de la réponse inflammatoire aiguë ainsi que par les cellules dendritiques qui auront un rôle dans la réponse immunitaire adaptative. Les cellules résidentes tissulaires sont capables d'identifier immédiatement un microorganisme et de répondre en sécrétant des médiateurs pro-inflammatoires et chimiotactiques (**Zerbato, 2010**)
- **Rôle des mastocytes** Après la reconnaissance des microorganismes, ils répondent en sécrétant des médiateurs pro inflammatoires et chimiotactiques. Ils libèrent ainsi 3 groupes de molécules :
 - Des molécules préformées et stockées dans des granules, libérées par dégranulation (exocytose des granules). On y retrouve l'histamine (vasoactive), et d'autres messagers tels la substance P, l'adénosine...ainsi que des enzymes : protéases, glycosidases...
 - Des médiateurs lipidiques néoformés synthétisés à partir de l'acide arachidonique comme les prostaglandines, les leucotriènes et les thromboxanes.
 - 3. Des cytokines : IL-1/IL-6/TNF α aussi appelé le trio inflammatoire (**Zerbato, 2010**)
- **Rôle des macrophages**
 - Après sa reconnaissance, le macrophage phagocyte le microorganisme. Mais son rôle ne s'arrête pas là, en effet, il participe aussi à l'organisation de la réponse inflammatoire en sécrétant de nombreuses cytokines comme le trio inflammatoire, des chimiokines comme IL-8 (interleukine 8) qui recrutent des granulocytes neutrophiles...Enfin, ils contrôlent l'architecture tissulaire en préparant les tissu lésé. (**Zerbato, 2010**)

3-2-2 les agents chimiotactiques

Les principaux agents chimiotactiques, sont :

- les chimiokines
- les composants C5a et C3a du complément
- le PAF (facteur activant les plaquettes)

Ces molécules permettent un recrutement efficace des cellules de l'immunité et aussi un contrôle du type de leucocyte recruté ; De fait que de nombreuses cellules sont sensibles aux médiateurs lipidiques tels que le PAF-acether, les leucotriènes B4 et D4 (LT B4, LT D4...) ou les prostaglandines. Mais de degrés différents, Par exemple, les neutrophiles sont plus sensibles à l'IL-8 (interleukine 8) ; les monocytes sont plus sensibles à MCP-1 (monocyte chemo attractant) ; éosinophiles sont plus sensibles à l'IL-5 (interleukine 5) et l'éotaxine. Ceci justifie d'afflux préférentiel d'une population cellulaire au sein du foyer inflammatoire (Figure 4) **(Zerbato, 2010)**

3-2-3 Activation des cellules

Les cellules immunitaires se communiquent par des médiateurs chimiques, elles sont à la fois des émetteurs et des récepteurs de signaux dépendants des chémokines et des cytokines. L'activation de cellules recrutées et de cellules résidentes tissulaires par , les différents médiateurs libérés tels les cytokines, les chémokines, les fractions du complément, les médiateurs lipidiques... entraîne un ensemble d'évènements : survie, apoptose ou nécrose cellulaire, phagocytose des microorganismes, de débris cellulaires, exocytose de produits préformés ou sécrétion sélective de produits néoformés... la production de chémokines et de cytokines comme l'IL-1, l'IL-6, le TNF α . favorisent l'entretien et l'amplification de la réaction inflammatoire. **(Zerbato,2010).**

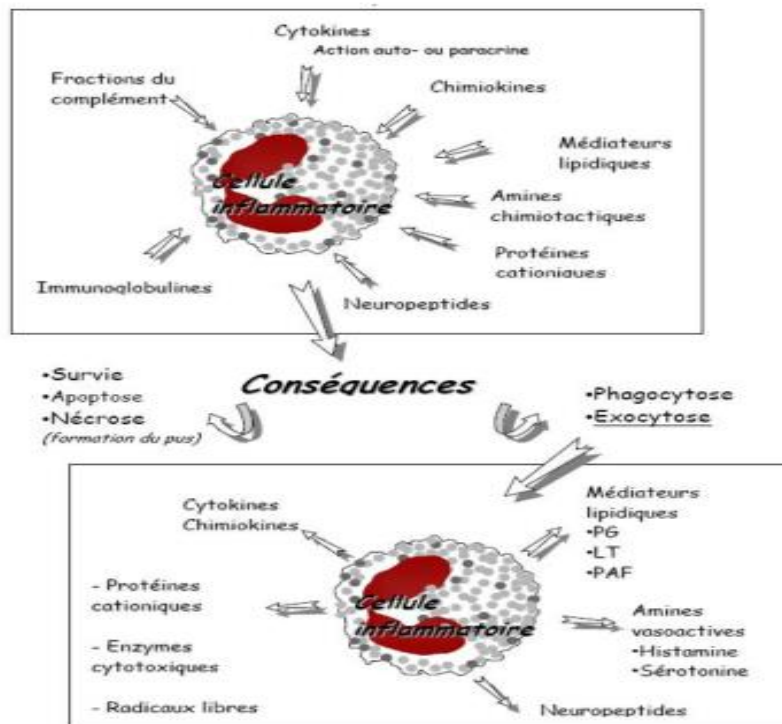


Figure 16. Actions sur la cellule inflammatoire et conséquences (Prin *et al.*, 2009).

3-2-4 Rôle des médiateurs

➤ Les médiateurs préformés

- **Les amines vasoactives** : elles sont surtout impliquées dans la phase vasculaire. tel les acteurs du système de la coagulation comme la thrombine et la plasmine qui activent d'une part le complément et conduisent à la production d'anaphylatoxines C3a et C5a et d'autre part le système des kinines conduisant à la production de bradykinine vasodilatatrice. (Zerbato, 2010)
- **Les médiateurs de l'inflammation** tels les leucotriènes, les prostaglandines, thromboxanes, histamine et le monoxyde d'azote. Ces molécules induisent une vasodilatation ce qui provoque une baisse de la vitesse de circulation sanguine d'où le terme « rubor » de Celsius, et une augmentation de la perméabilité vasculaire. De plus, l'augmentation de la perméabilité vasculaire provoque une fuite de liquide proche du plasma (exsudat) du sang vers les tissus d'où le terme « tumor » de Celsius : apparition de l'œdème. Ce mécanisme permet avant tout de :
 - recruter au niveau de la zone infectée les cellules adéquates

- de diluer le foyer inflammatoire
- de contenir ce foyer par la formation de fibrine et éviter ainsi sa dissémination.

(Zerbato, 2010)

- **Les protéases :**

Elles sont aussi impliquées dans la phase vasculaire. Elles interagissent dans le système de coagulation, le système contact, la fibrinolyse, l'activation du complément

- **Les protéines des granules des polynucléaires :**

Les protéines cationiques sont surtout retrouvées dans les polynucléaires éosinophiles. Parmi elles on cite : la MBP (major basic protein), l'ECP (protéine cationique de l'éosinophile)...

Elles sont cytotoxiques et activatrices, en effet, elles peuvent stimuler les cellules voisines et induire la libération d'autres médiateurs comme les médiateurs lipidiques, les cytokines, les chémokines... **(Zerbato,2010)**

➤ **les médiateurs néoformés**

Les chémokines et les cytokines : elles interviennent dans toutes les étapes de la réaction inflammatoire. Elles sont à la fois émises et ciblées par les cellules inflammatoires. Elles agissent à proximité du foyer d'induction (réaction locale et action autocrine) ou à distance (fièvre, réactions systémiques...et action paracrine) et peuvent intervenir dans la croissance, la différenciation, la migration et l'activation des cellules inflammatoires. Seuls le TNF- α et les interleukines IL-1 β , IL-6 et IL-8, jouent vraisemblablement un rôle majeur dans la plupart des maladies inflammatoires. Elles ont un effet pro-inflammatoire favorisant la réaction inflammatoire, alors que d'autres ; l'IL-10 (interleukine10, le TGF β (Tumor Growth Factor) jouent un rôle anti inflammatoire).

Les chémokines et les cytokines sont à l'origine de nombreux signes clinico-biologiques : la production accrue de protéases, au niveau du système nerveux (fièvre, somnolence, anorexie), au niveau du foie (production des protéines de

l'inflammation), au niveau de la moelle osseuse (hyperleucocytose), au niveau des vaisseaux (margination , diapédèse), au niveau du muscle (cachexie). (Zerbato, 2010)

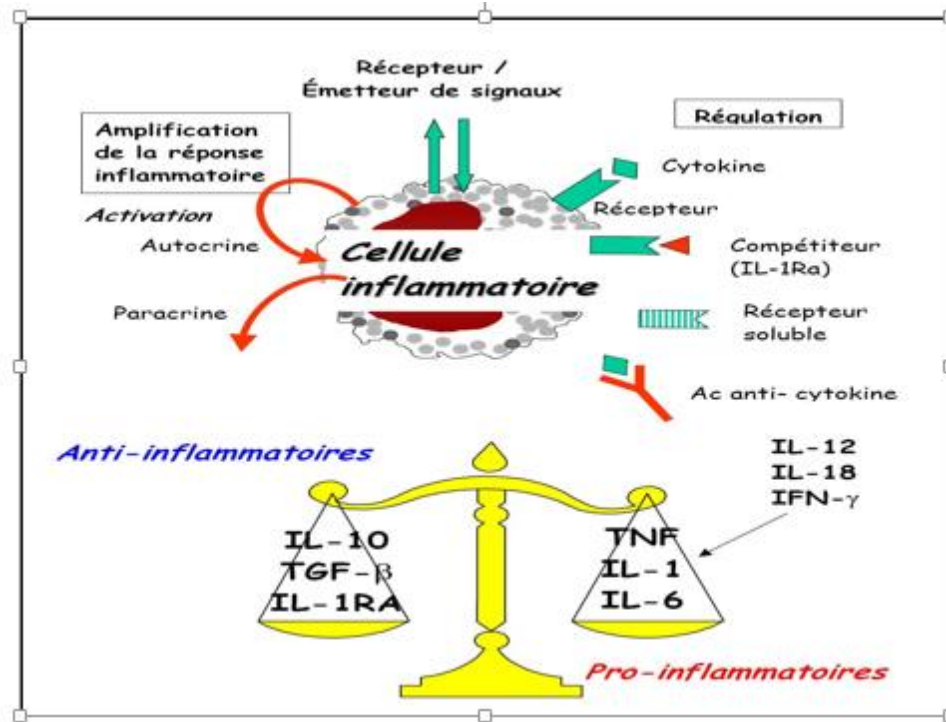


Figure 17. Les cytokines anti et pro-inflammatoires (Prin et al. 2009)

➤ Les médiateurs lipidiques

Ils sont synthétisés à partir des phospholipides membranaires.

- **Le PAF-acether** joue un rôle dans la vasodilatation et dans le chimiotactisme des polynucléaires. Il active également les phagocytes et a une action sur les fibroblastes et les fibres musculaires lisses.
- **Les eïcosanoïdes** (prostaglandines et le thromboxane qui ont un rôle dans la vasodilatation et leucotriènes qui ont un rôle dans le chimiotactisme). Les eïcosanoïdes obtenus selon deux voies : cyclo oxygénase pour les prostaglandines ou lipo oxygénase pour les leucotriènes.

➤ Les radicaux libres oxygénés et nitrés

Ils sont produits par trois systèmes enzymatiques dépendants de l'oxygène :

- **le système NADPH-Oxydase**

Il produit des formes réactives de l'oxygène comme l'anion superoxyde, l'eau oxygénée (H₂O₂), le radical hydroxyle(OH) et le singulet d'oxygène.

- **le système peroxydase**

Il produit de myelopéroxydase neutrophile (MPO) et de peroxydase spécifique de l'éosinophile (EPO)

- **Le système de la NO synthétase**

Il est induit par les cytokines pro-inflammatoires, il produit le monoxyde d'azote(NO) qui est toxique pour les microorganismes. Les radicaux libres sont toxiques aussi bien envers les microorganismes qu'envers les cellules en provoquant un stress oxydant et envers les tissus directement ou indirectement par activation d'autres systèmes. C'est pourquoi des systèmes de défense antioxydants comme la SOD (superoxyde dismutase), le système glutathion, les catalases...sont essentiels à la survie de l'organisme

➤ **Réponse immunitaire non adaptative**

Elle implique les lymphocytes porteurs des récepteurs pour les antigènes peu variables. Tel que le lymphocyte natural killer (NK) et les lymphocytes B, pour éliminer le microorganisme.

➤ **Réponse immunitaire adaptative**

Si nécessaire, la réaction inflammatoire peut s'arrêter beaucoup plus tôt, lors d'une « petite » attaque par exemple. (Zerbato, 2010)

1.2.1.3. Résolution ou réparation

Les différents mécanismes de la réaction inflammatoire visent à éliminer l'agent agressant et à réparer le tissu lésé grâce à :

- un système de contrôle de la réaction inflammatoire par les cytokines anti-inflammatoires, les anti-radicaux libres...
- un remodelage : équilibre entre la synthèse et la dégradation des protéines matricielles

- une néovascularisation : migration et maturation des cellules endothéliales (rôle important des cytokines !)

En fonction du degré des lésions des tissus la résolution peut être totale (élimination du facteur déclenchant, phagocytose des débris cellulaires et efficacité des systèmes de contrôle et de réparation) ou partielle (persistance du facteur déclenchant, défaillance des systèmes de contrôle, déséquilibre de production entre les cytokines pro et anti-inflammatoires, les protéases et anti-protéases, inefficacité des systèmes de réparation : intégrité tissulaire non restaurée). Il y a alors possibilité de passage à la chronicité. (Zerbato, 2010)

4-Les marqueurs biologiques de l'inflammation

La réaction inflammatoire se traduit cliniquement par une modification de certains paramètres sanguins tel La vitesse de sédimentation (VS), La numération-formule sanguine (NFS), le taux de certaines protéines sériques ; et apparition d'autres protéines dites protéines d'inflammation, la plupart sont synthétisées par le foie, sous l'effet de l'IL6, Dont la majorité augmentent en cas d'inflammation. Tel est le cas du fibrinogène, de la procalcitonine, du sérum amyloïde A (SAA), de l'orosomucoïde, l'alpha-antitrypsine, la ferritine, les fractions du complément, la céruloplasmine. Seules quelques-unes, dites protéines négatives, ont un taux qui diminue ; ce sont la transferrine, la préalbumine, la fibronectine et l'apoprotéine A1. (Ouhriche, 2017)

4-1-Critères d'un bon marqueur biologique de l'inflammation

La sémiologie clinique de l'inflammation est pauvre et ne donne pas une idée de la complexité des phénomènes. Elle comprend :

- des signes généraux peu spécifiques comme la fièvre ou l'anorexie ou l'asthénie ;
- des signes locaux, ces fameux signes cardinaux de l'inflammation qui sont la rougeur, la chaleur, le gonflement, la douleur. Ces signes locaux ne sont facilement observables que dans certains organes. Alors il est devenu nécessaire de compléter la clinique par un diagnostic efficace en évaluant des marqueurs susceptibles Pour être

valables à qualifier et quantifier un syndrome inflammatoire. Ces marqueurs doivent répondre à certains nombres de critères que la commission des protéines de la société Française de biologie clinique a défini (**Beaudeau & Durand 2011**) ; (**Russo-Marie, 1998**)

- Ils doivent être la conséquence de la réaction inflammatoire (RI) donc dépendre de celle-ci.
- Ils doivent être indépendant de l'étiologie de la RI.
- Ils doivent présenter une cinétique rapide d'évolution.
- Avoir une augmentation significative de ce marqueur en cas de RI modérée, proportionnelle au degré de l'inflammation.
- Enfin, son dosage doit être précis, rapide, standardisable et peu cher.

Le marqueur biochimique idéal, n'existe pas (**Beaudeau & Durand, 2011**). Donc il est nécessaire de recourir au dosage de plusieurs protéines pour détecter, suivre, et quantifier la réaction inflammatoire. (**Ouhriche, 2017**)

4-2 Les biomarqueurs actuels de l'inflammation

4-2-1 Vitesse de sédimentation(VS)

En 1794 J. Hunter décrit, dans son traité publié, que la partie rouge du sang sédimente plus vite lors de certaines inflammations. Pour lui, cela est dû à « un sang plus lourd ».La vitesse de sédimentation est encore fréquemment utilisée, en raison de la simplicité de sa réalisation et de son faible coût (**Lessing & Delminico, 2007**). Cet examen permet de détecter et suivre un éventuel état inflammatoire, quelle que soit l'étiologie. Il est cependant nécessaire de connaître les possibilités de VS élevée sans syndrome inflammatoire tel que l'âge , le sexe féminin • la grossesse (3^e trimestre), l'Hypercholestérolémie , l' Anémie ,l' Hypergammaglobulinémie monoclonale ou polyclonale ,l'Insuffisance rénale chronique le syndrome néphrotique A l'inverse, certaines situations plus rares peuvent diminuer la VS et masquer l'existence d'un authentique syndrome inflammatoire comme • Polyglobulie • Cryoglobulinémie • Hypofibrinogénémie héréditaire ou au cours de la CIVD.

4.2.2. Protéines de l'inflammation

Une protéine de l'inflammation est définie comme étant une protéine dont la concentration est modifiée d'au moins 25% en cas de réaction inflammatoire (**Leguy ; Audia et al. 2008**). Ces protéines sont nombreuses. Elles regroupent des anti-protéases, des protéines de transport, des fractions du complément, des protéines de la coagulation et de la fibrinolyse, et d'autres protéines jouant à différents niveaux. La plupart de ces protéines voient leur taux augmenter en cas d'inflammation. Tel est le cas du fibrinogène, de la procalcitonine, du sérum amyloïde A (SAA), de l'orosomucoïde, l'alpha-antitrypsine, la ferritine, les fractions du complément, la céruloplasmine. Seules quelques-unes, dites protéines négatives, ont un taux qui diminue ; ce sont la transferrine, la préalbumine, la fibronectine et l'apoprotéine A1.

➤ **Protéine C-réactive (CRP)**

La protéine C-réactive (C-reactive protein) représente l'archétype des protéines de l'inflammation aiguë chez l'homme. (**LeGall & Desideri-Vaillant, 2011**) ; (**Bienvenu & Bienvenu, 2016**). Elévation rapide de sa concentration circulante après un stimulus inflammatoire, forte amplitude de variation et demi-vie courte. Ces caractéristiques démontrent l'intérêt clinique de cette protéine et expliquent le développement de son dosage dans l'exploration d'un syndrome inflammatoire (**LeGall & Desideri-Vaillant 2011**).

➤ **Procalcitonine**

Elle est synthétisée principalement par les cellules C de la thyroïde, et dans une moindre mesure dans le tissu neuroendocrinien d'autres organes tels que les poumons, le foie et les intestins. La procalcitonine est considérée comme le biomarqueur le plus utile d'inflammation systémique sévère, d'infection et du sepsis. La procalcitonine, pro-hormone de la calcitonine (hormone), est l'un des biomarqueurs les plus sensibles pour faciliter le diagnostic du sepsis bactérien, la procalcitonine est normalement présente dans le sang à de très faibles concentrations. Les valeurs de PCT (moyenne : 0,020 ng/ml ; valeur maximale : 0,070 ng/ml). À la naissance indépendamment de l'âge gestationnel, les concentrations de PCT sont comprises entre 0,2 et 2,4 ng/ml

(médiane à 1,0 ng/mL). Il existe une grande variabilité interindividuelle de la PCT et un pic à j1 avec des valeurs maximales au-dessus de 10 ng/ml. S'ensuit une décroissance jusqu'à j3–j4 (**Guibourdenche et al., 2002**).

➤ **Transferrine**

La transferrine ou sidérophiline est une protéine sérique de type bêtaglobuline, synthétisée par le foie dont la fonction est le transport du fer de l'intestin vers les réserves hépatiques et vers les réticulocytes. Elle est capable de limiter l'absorption intestinale du fer lorsque les besoins de l'organisme sont satisfaits, ou au contraire de capter le fer des réserves en cas de nécessité.

➤ **Ferritine**

La concentration sérique de ferritine évolue parallèlement à la ferritine tissulaire et est un bon reflet de l'importance des réserves en fer de l'organisme. Sa durée de vie est de 50 à 70 heures. Dans les conditions physiologiques, elle n'est que partiellement saturée. Les méthodes de dosage de la ferritine sont surtout fondées sur l'immuno-analyse de type « sandwich » ou la précipitation en milieu liquide (**Maachi Mustapha et al 2004**)

➤ **Orosomucoïde**

L'orosomucoïde ou α 1-glycoprotéine acide (AGP). Sa synthèse est principalement hépatique et sa demi-vie est de 3 à 6 jours. Elle peut être dosée dans les milieux biologiques (plasma/sérum et urines) par des méthodes immunochimiques utilisant des immunosérums. La concentration sérique normale de l'orosomucoïde est de 0,3 à 0,9 mg/ml et augmente avec l'âge (**Beaudeau & Durand 2011**) ; (**Vasson 1996**)

➤ **Haptoglobine**

C'est une glycoprotéine plasmatique, synthétisée par le foie, appartenant au groupe des α -globulines et de migration α_2 à l'électrophorèse. Sa cinétique est d'évolution lente : son pic est atteint en 3 à 4 jours ; sa demi-vie est 3 à 5 jours. Elle se normalise en 10 à 15 jours (**Beaudeau & Durand 2011**). L'haptoglobine constitue un excellent marqueur d'un syndrome inflammatoire. Au cours de la réaction inflammatoire, l'augmentation de l'haptoglobine (12h après le début de RI) est corrélée à celle de

l'orosomucoïde (**Russo-Marie, 1998 ; Kubab *et al.*, 2014**), (**Bossuyt & Boeynaems, 2001**).

➤ **Fraction du complément C'3**

Les protéines du complément sont synthétisées par l'hépatocyte et les macrophages. Dans la RI, on observe une augmentation de la concentration sérique des protéines du complément et de leur activité fonctionnelle. La fraction C3 c'est une protéine de l'inflammation, de cinétique lente comme l'haptoglobine ou l'orosomucoïde. La concentration sérique est de 0.15 à 2 g/l ; elle ne varie pas avec l'âge. Elle s'augmente dans le syndrome inflammatoire et la cirrhose biliaire primitive. Elle s'abaisse lors de l'activation du complément en cas de polyarthrite rhumatoïde à un stade avancé, de lupus érythémateux systémique, d'anémie hémolytique, de certaines infections ou d'insuffisance hépatocellulaire sévère. L'intérêt de doser cette protéine vient du fait que lorsqu'elle diminue, cela indique la présence de complexes immuns circulants (**Beaudeau & Durand 2011**).

➤ **Lipoprotéine phospholipase A2 (Lp-plA2)**

Plus récemment, la lipoprotéine phospholipase A2 (Lp-PLA2), aussi connue sous le nom «platelet activating factor acetyl hydrolase» (PAF-AH), est apparue comme un nouveau biomarqueur de l'inflammation du vaisseau qui favorise le développement de l'athérosclérose et l'instabilité de la plaque (**Charniot *et al.*, 2011**).

➤ **L'interleukine 6 (IL-6)**

L'IL-6 est une cytokine qui joue un rôle central dans l'inflammation elle est produite par des types cellulaires très variés et peut exercer son action sur quasiment tous les types cellulaires (action pléiotrope). Une dérégulation de l'IL-6 est retrouvée dans de nombreuses pathologies inflammatoires et auto-immunes, dont la polyarthrite rhumatoïde (PR). De par son action pléiotrope, l'implication de l'IL-6 a été démontrée dans les différentes phases de développement de la maladie, qu'elle soit aiguë, immuno-inflammatoire ou destructrice (**Assier, 2010**).

NB : Ce marqueur n'est pas utilisé actuellement en biologie clinique courante.

➤ **Volume plaquettaire moyen (VPM)**

Le volume moyen des plaquettes (VPM) est la mesure la plus couramment utilisée de la taille des plaquettes. C'est un marqueur potentiel de la réactivité des plaquettes. Il est diminué en cas d'inflammation,

➤ **Protéines S100**

S100 est une famille d'holoprotéines dimériques, leur nom leur vient de leur solubilité à 100% dans le sulfate d'ammonium.

➤ **La calprotectine fécale (CF)**

La calprotectine fécale est une « Calcium Binding Protein» (protéine de la famille des protéines S100), présente dans le cytoplasme des polynucléaires et des cellules mononuclées infiltrant la paroi du tube digestif, est le témoin d'une inflammation tissulaire. Ce marqueur est notamment élevé dans les processus inflammatoires (septicémie, entérocolite nécrosante, MICI) (Ouhriche, 2017)

5 - Effet de l'apigénine sur l'inflammation

Les principaux résultats de la recherche in vitro et in vivo, révèlent une activité anti-inflammatoire importante de l'apigénine dans de nombreuses pathologies. Cette activité se traduit par une augmentation des biomarqueurs anti-inflammatoires et/ou une diminution des biomarqueurs pro-inflammatoires.

L'inflammation est souvent considérée parmi les conséquences de l'oxydation. Au plan nutritionnel, le potentiel anti-inflammatoire de l'apigénine, présente un bénéfice médicinal permettant de prévenir et de traiter pas mal de pathologies tel que les maladies neurodégénératives (Shay *et al.*, 2015 ; Upadhyay, 2015). De plus le déroulement d'inflammation mobilise des cellules immunitaires, en particulier les lymphocytes activés, les monocytes/macrophages et les cellules dendritiques, et stimule la production d'une grande variété de médiateurs chimiques tels que les amines vasoactives (sérotonine et histamine), les prostaglandines, les leucotriènes les cytokines (interleukines). (Nasmsi, 2019)

De nombreux flavonoïdes agissent tant que inhibiteurs sélectifs, ainsi que non sélectifs, de COX, LOX, PLA et NOS, Qui sont les principaux inducteurs de l'inflammation. L'apigénine et la lutéoline (l'un de ses métabolites), suppriment l'expression de l'iNOS et de la COX 2. Cependant l'apigénine, n'a aucune inhibition de PLA 2. **(Kim et al., 2004)**

La meilleure activité des flavones dans l'inhibition de la production de NO et l'inhibition de l'iNOS et de la COX est attribuée à leur double liaison C-2,3 et à la substitution des groupes hydroxyle sur les anneaux A et B, respectivement.

L'apigénine, inhibe aussi la production de NO dans les astrocytes C6 induits par le LPS (lipopolysaccharide) et activés par l'INF- γ (interféron γ) et les macrophages RAW 264.7 induites par le LPS, en supprimant fortement l'expression iNOS sans inhiber son activité. **(Soliman & Mazzio, 1998), (Kim et al., 1999)** Outre iNOS/COX2, la réponse inflammatoire est associée aux plusieurs cytokines IL-1 β , IL-6, INF- γ , IL-4, IL-5, TNF- α , MCP-1 α (Monocyte protéine chimioactique), MIP-1 α (protéine inflammatoire des monocytes) et ICAMS. Probablement, le rôle de l'apigénine dans l'inhibition de l'expression de plusieurs gènes de cytokines est lié à un certain nombre de protéines kinases impliquées dans la transduction du signal, notamment PKC, ERK et MAPK. L'inhibition de ces molécules régule la capacité de liaison à l'ADN des facteurs de transcription tels que NF- κ B, Fos-Jun ou AP-1. **(Kim et al., 2004).**

Dans l'une des études, en 2010, Reuter a montré que les ROS induisent l'activation de certain facteurs de transcription impliqués dans le cancer et les maladies inflammatoires, tels que NF κ B, AP-1, p53, HIF-1 α , PPAR- γ , β -caténine/Wnt, STAT-3, Sp- 1 et Nrf2. L'activation de ces facteurs de transcription peut conduire à l'expression de plus de 500 gènes différents, parmi eux des cytokines inflammatoires, des chimiokines, des molécules anti-inflammatoires. **(Ribeiro et al., 2015 ; Reuter et al., 2010).**L'apigénine intervient dans la modulation des voies inflammatoires en interagissant avec ces facteurs de transcription. L'apigénine inhibe l'expression de NF- κ B, CCL2/MCP-1 et CXCL 1/KC induite par le TNF- α . NF- κ B est responsable de

l'activation des facteurs de transcription impliqués dans la synthèse de COX 2 et iNOS. (Liang *et al.*, 1999).

Il est également connu pour réduire l'inflammation induite par le LPS dans les cellules épithéliales intestinales non transformées IPEC-J2 en réduisant l'expression de COX-2, IL-8 et TNF- α . (Farkas *et al.*, 2015).

Bien que certaines des molécules de signalisation inhibées par l'apigénine aient déjà été démontrées, de nombreuses autres restent à déchiffrer. (Ribeiro *et al.*, 2015).

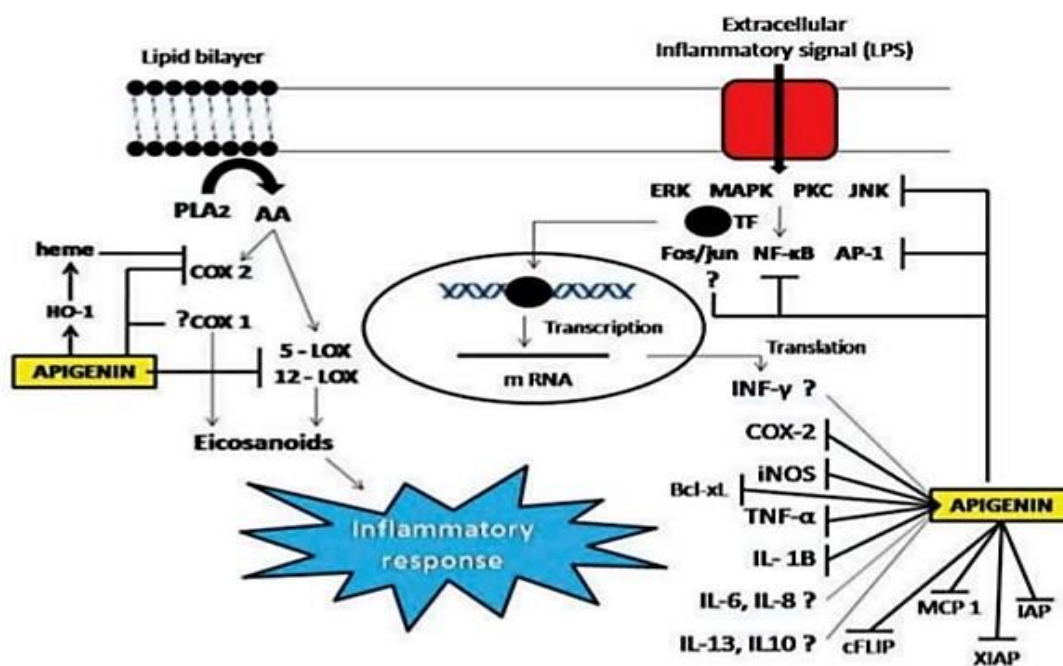


Figure18. Rôle possible de l'apigénine dans l'induction d'un effet anti-inflammatoire en modulant l'expression de cytokines et d'autres molécules inflammatoires au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel. COX 1/2 (Cyclooxygenase 1/2), LOX (Lipoxygenase), HO-1 (Haeme oxygenase 1), PLA (Prostaglandines), IL (Interleukines), TNF- α (Tumor necrotic factor alpha), iNOS (inhibiteur de oxyde synthase), INF- γ (interféron gamma), XIAP (protéine inhibitrice de l'apoptose liée à l'X), c-FLIP (protéine inhibitrice cellulaire de type FLICE). Les lignes avec des têtes des flèches représentent l'activation tandis que les lignes sans têtes de flèches représentent l'inhibition. (Ali *et al.*, 2017)

Le tableau 06. Représente un récapitulatif de l'action de l'apigénine sur l'inflammation.

Tableau 06. Effet modulateur de l'apigénine sur les marqueurs de l'inflammation révélés dans quelques études

Pathologies	Modèles expérimentaux et lignées cellulaires	Doses	Effet modulateur sur les marqueurs de l'inflammation	Références
Maladies du système nerveux	Alzheimer	In vivo model de rat	40mg /Kg pendant 3 mois	↓IL-6 Liang et al. (2017)
	Parkinson	In vivo model de rat	10 et 20 mg/kg	↓IL-6, ↓TNF α , ↓iNOS 1 Sachin et al. (2014)
	La dépression	Le comportement de type dépressif induit par le lipopolysaccharide (LPS)	25 mg/kg, 50 mg/kg une fois par jour pendant sept jours	↓IL-1 β , ↓TNF α , ↓COX-2, ↓iNOS 2 Ruipeng et al.
	les anomalies comportementales/neurochimiques	Des rats adultes associée à des altérations neuropathologiques de type la sclérose latérale amyotrophique	40 et 80 mg/kg	↓(TNF α), ↓IL-1 Kumar et al, (2022)

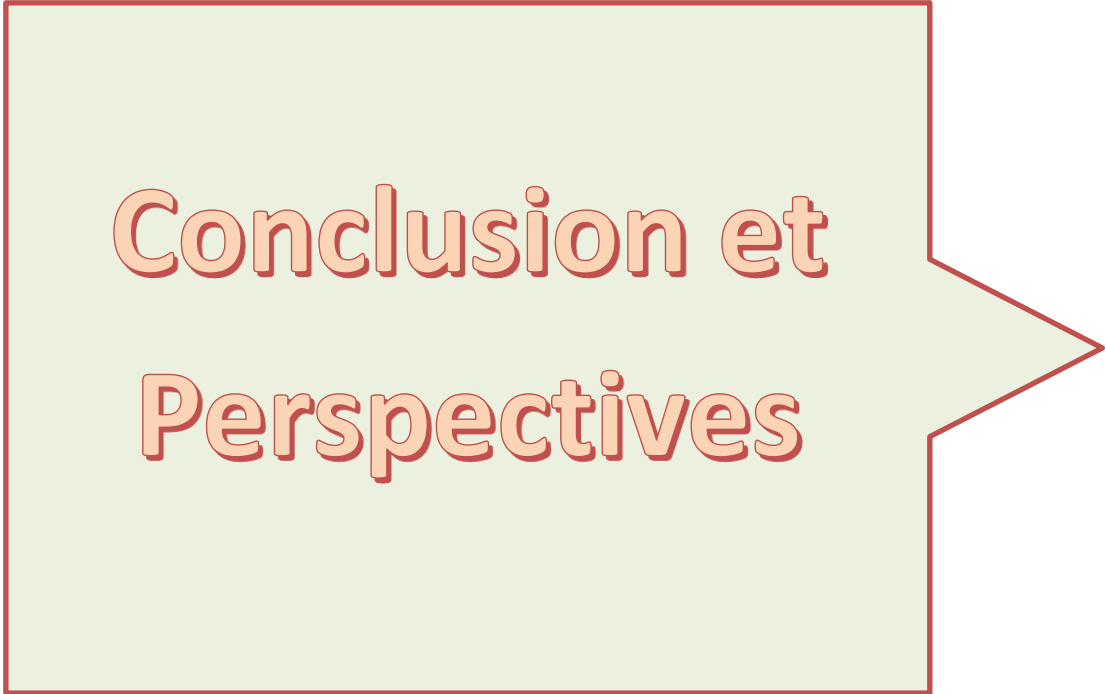
cancer	Cancer du pancréas	In vitro : Les lignées cellulaires cellules cancéreuses pancréatiques humaines BxPC-3 et PANC-1	44 et 14 % à 50 µM pour BxPC-3 et PANC-1, respectivement)	Fortement régulé positivement l'expression des gènes de cytokines IL17F (114,2 fois), IL17C (23,2 fois), IL17A (11,3 fois) et dans les cellules BxPC-3	Johnson & González (2013)
	cancers épithéliaux	In vitro Les lignées cellulaires de macrophages de souris RAW264.7 (ATCC, T1B71)	15 µM (DE ₅₀)	↓COX-2, ↓iNOS	Liang et al. (1999)
	carcinogénèse cutanée (prévention)	In vitro lignée cellulaire de kératinocytes de souris 308	50 µmol/litre,	↓ COX-2, ↓ PGE-2	Tong et al. (2007)
	Cancer du côlon	In vitro les cellules cancéreuses du côlon d'origine humaine HCA-7	25 µM	↓ PGE-2	Al-Fayez et al. (2006)
	Toxicité myocardique	In vivo Souris males âgées de 4 à 6 semaines	50 mg/Kg	↑GSH, ↓IL1β, ↓TNFα, ↓ MIP-2	Fang et al. (2017)
toxicité	Toxicité induite par le furane	Souris (in vitro)	5, 10 et 20 mg /kg par jour	↓TNFα, ↓IL1β, ↓IL6, ↑IL10,	Wang et al. (2014)

Hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone	Des souris ICR mâles pesant (25 à 30 g)	60 mg/ kg 1 par jour pendant 30 jours	↓(TNF α), ↓ iNOS	Zhao <i>et al.</i> (2014)
Inflammation induite par le LPS dans les cellules épithéliales intestinales non transformées IPEC-J2.	(In vitro) La lignée de cellules épithéliales intestinales porcines non transformées IPEC-J2, isolée à l'origine de l'épithélium jéjunale d'un porcelet nouveau-né non allaité	25 μ M	↓IL-6, ↓IL-8, ↓ TNF- α , ↓ COX-2	Farkas <i>et al.</i> (2015)
Inflammation induite par le LPS	(In vitro) Macrophages induits par le LPS et le THP-1 humain et cellules J774A de souris	25 μ M	IL-6, ↓IL-1 β , ↓ IL-12 β , ↓TNF- α , ↑ IL-10	Zhang <i>et al.</i> (2014)
œdème aigu de la patte de rat induit par la carraghénane	(In vivo) Des rats Wistar albinos mâles (125-175 g) et des souris Swiss mâles (22,5-27,5 g)	50 mg/kg pc	IL-6, ↓IL-1 β , ↓ PGE ₂ , ↓TNF- α ,	Shoubaky <i>et al.</i> (2016)

Autres maladies

Diabète	Rats Sprague-Dawley	50 et 100 mg/kg	Inhibition de l'activation de NF- κ B et de l'expression de l'ARNm d'ICAM-1	Ren et al. (2016)
L'arthrose	Des rats mâles Sprague-Dawley (n = 48), pesant 200 $\pm$ 20 g et âgés de 10 à 12 semaines ont été	0,3 μ M	$\downarrow$ (TNF α), $\downarrow$ iNOS, $\downarrow$ IL-1 β	Estakhri et al. (2021)
Pathogénèse de l'endométriose	(In vitro) Cellules stromales endométriosique (CSE)	10- 100 μ M	$\downarrow$ PGE2, $\downarrow$ TNF- α , $\downarrow$ COX-2, $\downarrow$ IL-8	Taniguchi et al. (2009)

Myocardites	BALB/c mice Male C57BL/ 6 mice	20, 100, 200 mg/kg/day orally for 21 days 50 mg/kg (IP)	↑ IL-4, IL-10, ↑ IL-10 ↑Th2↑ TFEB, ↓IFN- γ , ↓TNF- α , ↓IL-2	Zhang et al. (2016) Li et al. (2017)
Maladies cardiométaboliques	In vivo C57BL /6J (high fat diet) pendant 8 Semaines	10 mg/kg	↓(TNF α), ↓ iNOS, ↓IL-1 β ,	Yajie et al. (2022)
l'obésité et le métabolisme des lipides	Souris C57BL/6j (régime riche en graisses)	10mg/kg	↓IL-6, ↓IL-1 β , ↓ iNOS	Gentile et al. (2018)



Conclusion et Perspectives

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'apigénine est une flavone naturelle descendante d'une classe des polyphénols appelée flavonoïde. Il est disponible dans pas mal de légumes, fruits et herbes. Malgré la diversité et la disponibilité de ses sources naturelles, il est très cher sur le marché.

Les études effectuées sur l'apigénine montrent son intérêt pour la santé à cause de ses propriétés biologiques notamment ses potentiels antioxydants et anti-inflammatoires pouvant nous permettre de se prévenir des maladies graves, de se guérir et de bien vieillir.

Dans de nombreuses études faites, l'efficacité de l'apigénine sur un large spectre de pathologies y compris les maladies neurodégénératives, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires, le cancer, les divers intoxications, était révélée. Cette efficacité est souvent associée d'une modulation des facteurs prooxydants et proinflammatoires et/ou à l'augmentation des facteurs antioxydants et anti-inflammatoires.

La majorité des études dans le cadre thérapeutiques sont réalisées sur des modèles animaux ou cellules de culture mais son usage clinique dans la thérapie humaine reste en attente.

Dans le cadre de ces recherches, nous pouvons dégager les perspectives suivantes :

- ✓ Valoriser l'extraction de l'apigénine de la flore algérienne.
- ✓ Développer plusieurs approches pour améliorer la biodisponibilité de l'apigénine et prolonger son activité pharmacologique, y compris différents systèmes de délivrance (liposomes, micelles polymères, nano suspension, ...etc.)
- ✓ Utiliser une thérapie anti-tumorale combinatoire avec l'apigénine pour renforcer les effets anti-tumoraux, atténuer les effets secondaires des médicaments de chimiothérapie et diminuer leur toxicité et résistance.
- ✓ Evaluer les potentialités protectrices de l'apigénine contre plusieurs stress sur le modèle animal.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

Ajaz Ahmadun, Pooja Kumarib, Massoud Ahmadc. Apigenin attenuates edifenphos-induced toxicity by modulating ROS-mediated oxidative stress, mitochondrial dysfunction and caspase signal pathway in rat liver and kidney *Pestic Biochem Physiol.* 2019.

Aleksandra Cvetanovic, Jaroslava Svarc-Gajic, Uros Gasic, Zivoslav Tesic, Gokhan Zengin, Zoran Zekovic, Sasa Đurovic, Isolation of apigenin from subcritical water extracts: Optimization of the process, *The Journal of Supercritical Fluids.*2016.10.012.

Al-Fayez M, Cai H, Tunstall R, Steward WP, Gescher AJ. Differential modulation of cyclooxygenase-mediated prostaglandin production by the putative cancer chemo preventive flavonoids triclin, apigenin and quercetin. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2006,58(6):816-25.

Ali F, Naz F, Jyoti S, Siddique YH .Effet protecteur de l'apigénine contre l'hépatotoxicité induite par la N-nitrosodiéthylamine (NDEA) chez les rats albinos . *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* 2014 . 767,13–20.

Alquasoumi SI, Farraj AI, Abdel-Kader MS. Etude de l'effet hépat protecteur des constituants de *Juniperus phoenicea*. *Pack. J.Pharm. Sci.* 2013.

Androutsopoulos V P, Papakyriakou A, Vourloumis D, Tsatsakis A M, and Spandidos D A. Dietary Flavonoids in Cancer Therapy and Prevention: Substrates and Inhibitors of Cytochrome P450 CYP1 Enzymes. *Pharmacol Ther.* .2010.

Androutsopoulos V P, Papakyriakou A, Vourloumis D, Tsatsakis A M, and Spandidos DA. Dietary Flavonoids in Cancer Therapy and Prevention: Substrates and Inhibitors of Cytochrome P450 CYP1 Enzymes. *Pharmacology&therapeutics.*2010.

Arai Y, Watanabe S, Kimira M, Shimoi K, Mochizuki R, Kinai N. Apports alimentaires en flavonols, flavones et isoflavones par les femmes japonaises et corrélation inverse entre l'apport en quercétine et la concentration plasmatique de cholestérol LDL. *J Nutr.* 2000.

Ashor A, Siervo M. Mathers J.C. Vitamin C, antioxidant status, and cardiovascular aging. In *molecular basis of nutrition and aging.* Academic Press.2016. (pp. 609-619)

- **Assier E, Boissier M, Christophe, Dayer J. Michel.** Interleukin-6: from the discovery of the cytokine to the development of a targeted treatment. *Journal of Rheumatism* 2010, 77(6):532-6.

Atef adel M ,Anuar Bakt M,Shimaa Ahmed A.The potential protective role of apigenin against at oxidative damage induced by nickl oxide mono particles in liver and kidney of rat ,environmental science and pollution research .2021.Vol 28(5) Messaoudi A et al. 2020.

Aurousseau B. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits." *Productions Animales.*2002.15(1), 67-82.

Azim A, Eidi A, Mortazavi p, Rohani , A H. Protective effect.2015.

Baba, L. & McGrath, IM. Oxygen free radicals: effects in the newborn period. *Advances in Neonatal Care* 8 Journal. 2008.pp. 256-264.

Badeau M. Effets d'un antioxydant, le tempol, sur les actions métaboliques et vasculaires de l'insuline chez le rat insulino-résistant avec un surplus de poids. Effets de l'insuline sur le transport du glucose dans le muscle squelettique, la réactivité vasculaire, l'expression des protéines eNOS, le stress oxydatif et les effets hémodynamiques régionaux, Université Laval. 2006.

Banerjee K, Banerjee S, Das S, Mandal M. Probing the potential of apigenin liposomes in enhancing bacterial membrane perturbation and integrity loss. *J Colloid Interface Sci.* 2015.

Batra P, and Sharma A K. Anti-cancer Potential of Flavonoids: Recent Trends and Future Perspectives.2013.

Beaudeau J & Durand G. Biochimie médicale biomarqueurs actuels et perspectives. Deuxième édition.2011 p 100-112.

Bédard V. Les propriétés anti-angiogéniques des flavonoïdes. Mémoire de maîtrise en chimie. Université du Québec à Montréal.2008.

Begum N, Prasad NR, Thayalan K. L'apigénine protège le stress oxydatif induit par les rayonnements gamma, les modifications hématologiques et la survie des animaux chez des souris albinos suisses irradiées dans tout le corps. *Int J Nutr Pharmacol Neurol Di.* 2012 .2:45-52.

Ben Abdelkader Tarek. Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas sensu lato*, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Thèse de doctorat en Biologie et Ecophysiologie Végétale 2012.

Bensakhria A.Toxicologie generale- stress oxydatif,Researchgate.2018.

Bhagwat S, Haytowitz DB & Holden JM. USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods. U.S Department of Agriculture. 2011.

Bienvenu J & Bienvenu F. Protéine C-réactive. *EMC - Biologie médicale.* 2016;11:1-7.

Birt DF, Walker B, Tibbels MG, Bresnick E. Anti-mutagenesis and anti-promotion by apigenin, robinetin and indole-3-carbinol. *Carcinogenesis.*1986.

Blaut M and Clavel T, “Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implications for health and disease,” *Journal of Nutrition.*2007.

Blumberg J, Bailey R, Sesso H, Ulrich C. The evolving role of multivitamin/multimineral supplement use among adults in the age of personalized nutrition. *Nutrients.*2018. 10(2): 248-261.

Bohlmann J. and Keeling CI. Terpenoid biomaterials. *Plant Journal* 2008.

Bossuyt X & Boeynaems J.M. Repères en diagnostic de laboratoire.2001René Caquet. Haptoglobine. 250 examens de laboratoire (11e édition), 2010, Page 173.

Boubali Z. Biomarqueurs du stress oxydatif. 2017. thèse de doctorat en pharmacie .p 67.

Brower V. Nutraceuticals: Poised for a healthy slice of the healthcare market? Nat. Bio technol. 1998.

Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.). Lavoisier, 2009.

Camille Migdal, Mireille Serres. Espèces réactives de l’oxygène et stress oxydant. Médecine/ sciences. 2011.27:405-12

Carriere A, Galinier A, Fernandez Y, Carmona M-C, Penicaud L et Casteilla. Les espèces actives de l’oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie. Médecine Sciences. 2017. 22: 47-53.

Charniot J-C, Khani-Bittar R, Bonnefont-Rousselot D La lipoprotéine phospholipase A2 : un nouveau biomarqueur de l’inflammation vasculaire. AMC pratique, n°197 avril 2011.

Chen C, He H, Luo Y, Zhou M, Yin D, He M. Involvement of Bcl-2 signal pathway in the protective effects of apigenin on anoxia/reoxygenation-induced myocardium injury. J. Cardiovasc. Pharmacol. 2016. 67, 152–163.

Chen J, Lin H, and Hu M. Metabolism of Flavonoids via Enteric Recycling: Role of Intestinal Disposition. J. Pharmacol, 2003.

Chen Z, Tu M, Sun S, Kong S, Wang Y, Ye J, et al. The Exposure of Luteolin Is Much Lower Than that of Apigenin in Oral Administration of Flos Chrysanthemi Extract to Rats. Drug Metab Pharmacokinet, 2012.

Cheyrier V, Comte G, Davies KM, Lattanzio V, Martens S. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. Plant Physiol Biochem.2013.

Chiang LC, Ng LT, Cheng PW, Chiang W & Lin CC. Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of Ocimum basilicum. Clinical and experimental pharmacology & physiology.2005.

Choi AM, Alam J . Heme Oxygenase-1: Function, Regulation, and Implication of a Novel Stress-Inducible Protein in Oxidant-Induced Lung Injury. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. 1996. 15,9–19.

Christianson DW. Unearthing the roots of the terpenome. Curr Opin Chem Biol. 2008.

Connolly J D and Hill R A. Dictionary of terpenoids. Chapman and Hall, London, 1991.

Cribb AB. Marine Algae of the Southern Great Barrier Reef, Part I Rhodophyta. Australia Coral Reef Society; Brisbane: 1983.

Czczot H, Tudek B, Kusztelak J, Szymczyk T, Dobrowolska B, Glinkowska G, Malinowski J, Strzelecka H. Isolation and studies of the mutagenic activity in the Ames test of flavonoids naturally occurring in medical herbs. *Mutat Res.* 1990.

Dong X, Wang Y, Liu T, Wu P, Gao J, Xu J, Yang B, Hu Y. Flavonoids as Vasorelaxant Agents: Synthesis, Biological Evaluation and Quantitative Structure Activities Relationship (QSAR) Studies. *Molecules.* 2011.

Dourado Naiara Silva , Souza Cleide dos Santos, Marylin Monique, De Almeida Alves , Bispo da Silva Alessandra 1 , Balbino Lino dos Santos Diogenes Amaral Silva Victor, Martimbianco De Assis Adriano, Souza da Silva Jussemara, Onofre Souza Diogo, Dias Costa Maria de Fatima, Morgan Butt Arthur et Costa Silvia Lima .Neuro immunomodulatory and Neuroprotective Effects of the Flavonoid Apigenin in in vitro Models of Neuro inflammation Associated With Alzheimer's Disease, *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2020;12:119.

Eggersdorfer M. Wyss A. (2018). Carotenoids in human nutrition and health. *Arch Biochem Biophys.*2018. 652: 18-26.

Estakhri Firoozeh, Reza Panjehshahin Mohammad, Tanideh Nader, Gheisari Rasoul, Azarpira Negar, Gholijani Nasser. Efficacy of Combination Therapy with Apigenin and Synovial Membrane-Derived Mesenchymal Stem Cells on Knee Joint Osteoarthritis in a Rat Model. *Iran J Med Sci.* 2021, 46(5) : 383–394.

Eva F. DeRango-Adem et Jonathan Blay. Does Oral Apigenin Have Real Potential for a Therapeutic Effect in the Context of Human Gastrointestinal and Other Cancers? *frontiers in pharmacology*,2021.

Fahad Ali, Rahul, Falaq Naz, Smita Jyoti & Yasir Hasan Siddique. Health functionality of apigenin: A review, *International Journal of Food Properties*,2017.

Fahad Ali, Rahul, Falaq Naz, Smita Jyoti & Yasir Hasan Health functionality of apigenin: A review, *International Journal of Food Properties*, 2016.20:6,1197-1238.

Fang Li, 1 Fangfang Lang, 2 Huilin Zhang, 3 Liangdong Xu, 4 Yidan Wang, 4 Chunxiao Zhai, 4 and Enkui Hao. Apigenin Alleviates Endotoxin-Induced Myocardial Toxicity by Modulating Inflammation, Oxidative Stress, and Autophagy *Oxid Med Cell Longev.* 2017.

Fatma W., Taufeeq H.M., Shaida W.A., Rahman W. Biflavonoids from *Juniperus-macropoda* Boiss and *Juniperus-phoenicea* Linn, (*Cupressaceae*) *Indian J. Chem. B Org.* 1979.

Favier A . Stress Oxydant et pathologies humaines, *Annals of Pharmacotherapy* SAGE Journal.2006. Vol 64, pp. 390-396.

Favier A. Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique.*2003. pp. 108-115.

Feng-Nien Ko, Tur-Fu Huang and Che-Ming Teng. Vasodilatory action mechanisms of apigenin isolated from *Apium graveolens* in rat thoracic aorta. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*,1991.

Fondation pour la Recherche Médicale, numéro 94, 2e trimestre, 2003.

Forkmann G. Flavonoïdes en tant que pigments floraux : la formation du spectre naturel et son extension par le génie génétique, amélioration des *Plantes*,1991.

Gentile D, Fornai M, Colucci R, Pellegrini C, Tirotta E, Benvenuti L, &al. Apigenin, a flavonoid compound, prevents colon inflammation and motor dysfunction associated with high-fat diet-induced obesity. *PLOS*.

Gharzouli, K., and Holzer, P. Inhibition of guinea Pig Intestinal Peristalsis by the Flavonoids Quercetin, Naringenin, Apigenin and Genistein. *Pharmacology* .2004.

Gradolatto A, Basly JP, Berges R, Teyssier C, Chagnon M.C, Siess M-H, et al. Pharmacokinetics and Metabolism of Apigenin in Female and Male Rats after a Single Oral Administration. *Drug Metab. Dispos*, 2005.

Guibourdenche J, Bedu A, Petzold L, Marchand M, Mariani-Kurdjian P, Hurtaud-Roux MF, et al. Biochemical markers of neonatal sepsis: value of pro calcitonin in the emergency setting. *Ann Clin Biochem* 2002 ; 130–5.

Hahn H.J, Kim K.B, An I.S, Ahn K. Protective effects of rosmarinic acid against hydrogen peroxide-induced cellular senescence and the inflammatory response in normal human dermal fibroblasts. *Mol Med Rep*.2017. 16(6): 9763-9769.

Hang J, Liu D, Huang Y, Gao Y, and Qian S. Biopharmaceutics Classification and Intestinal Absorption Study of Apigenin. *Int J Pharm*, 2012.

Hanske L, Loh G, Sczesny S, Blaut M, and Braune A, “The bioavailability of apigenin-7-glucoside is influenced by human intestinal microbiota in rats,” *Journal of Nutrition*.2009.

Harborne. J.B. Methods in plant biochemistry, I: Plant phenolics. Academic press, London – UK 1989.

Hava M & Janku, I. The Bronchodilating Activity of Apigenin. *Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie*.1958.

Heller W & Forkmann G. The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London, 1993.

Herrmann KM. La voie du shikimate comme entrée dans le métabolisme secondaire aromatique. *Plante. Physiol*. 1995.

Herzog K, IJlst ,van Cruchten AG, van Roermund CW, Kulik W, Wanders R.J. & Waterham H R.An UPLC-MS/MS assay to measure glutathione as marker for oxidative stress in cultured cells. *Metabolites*.2019.

Hoang-Nam Pham. Impact des métabolites secondaires de plantes sur des bactéries pathogènes de la rhizosphère : existe-t-il un lien entre la résistance sur métaux et la modulation de résistance aux antibiotiques ? Sciences agricoles. Thèse doctorat en chimie, biologie, santé. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2017.

Home . Blogs . Effets anticancéreux de « Apigénine » . addon.life.2021.

Hong J.H, Kim M.J, Park M.R, Kwag O.G, Lee I.S, Byun B.H, Lee S.C, Lee K.B, Hostetler G.L., Ralston R.A., Schwartz S.J. Flavones: Food sources, bioavailability, metabolism, and bioactivity. *Adv. Nutr.* 2017. <https://www.frm.org/upload>

https://www.chemicalbook.com/ProductIndex_EN.aspx

Hu M, Chen J, and Lin H. Metabolism of Flavonoids via Enteric Recycling: Mechanistic Studies of Disposition of Apigenin in the Caco-2Cell Culture Model. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*2003.

Huang CS , CK , Lin AH ,Ouai YW , Yao HT , Li CC , Wang TS , Chen HW. La protection par la chrysine, l'apigénine et la lutéoline contre le stress oxydatif est médiée par la régulation à la hausse dépendante de Nrf2 de l'hème oxygénase 1 et de la glutamate cystéine ligase dans les hépatocytes primaires de rat . *Archives de toxicology.* 2013 . 87,167– 178.

Hulbert A.J. On the importance of fatty acid composite on of membranes for aging. *J. Theor. Biol.* 2005. 23 : 277- 288.

J Pharm Biomed Anal. Chemical and functional characterization, 2006.

Jahedsania A , Saleh Khezriab, Mahsa Ahangaria, Saba Bakhshiia, Ahmad Salimia. Apigenin attenuates Aluminum phosphide-induced cytotoxicity via reducing mitochondrial/Lysosomal damages and oxidative stress in rat Cardiomyocytes . *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 2020.104585.

Janssen K, Mensink R, Cox F, Harryvan J, Hovenier R, Hollman P, Katan M. Effets des flavonoïdes quercétine et apigénine sur l'hémostase chez des volontaires sains : résultats d'une étude in vitro et d'une étude sur les compléments alimentaires. *Amer J Clin Nutr.* 1998.

Jin-Yi Han, Sun-Young Ahn, Chung-Soo Kim, Sung-Kwang Yoo, Si-Kwan Kim, Hyoung-Chun Kim, Jin Tae Hong, Ki-Wan Oh. Protection of Apigenin against Kainate-Induced Excitotoxicity by Anti-oxidative Effects. *Bulletin Biologique et Pharmaceutique.* 2012 Volume 35, n° 9, pages 1440-1446

Johnson JL, Gonzalez de Mejia E. Interactions between dietary flavonoids apigenin or luteolin and chemotherapeutic drugs to potentiate anti-proliferative effect on human pancreatic cancer cells, in vitro. *Food Chem Toxicol.* 2013 Oct;60:83-91.

Jung WW . Protective effect of apigenin against oxidative stress-induced damage in osteoblastic cells. *International journal of molecular medicine.*2014.Vol 33(05),p 1327-1334.

Kale AGS & Kotwal, S. Cancer Phytotherapeutics: Role for Flavonoidsat the Cellular Level. *Phytotherapy Research.*2008.

Kaleem M, Ahmad A. In: Therapeutic, Probiotic and Unconventional Foods. Grumezescu A.M., Holban A.M., editors. Academic Press, Elsevier; Amsterdam. The Netherlands: 2018.

Kim H P, Son KH, Chang H W, Kang S S. Anti-Inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences* 2004, 96, 229–245

Kim HK, Cheon BS, Kim YH, Kim SY, Kim HP. Effets des flavonoïdes naturels sur la production d'oxyde nitrique dans la lignée cellulaire macrophage RAW 264.7 et leurs relations structure-activité. *Pharmacologie biochimique* 1999, 58, 759–765.

Kimura Y, Ito H, Ohnishi R, and Hatano T. Inhibitory Effects of Polyphenols on Human Cytochrome P450 3A4 and 2C9 Activity. *Food Chem Toxicol*, 2010.

Kleinschmidt K C, and Delaney K A. Biochemical and Metabolic Principles. Goldfrank's Toxicologic Emergencies, 2015.

KubabN, HakawatiI, Alajati-kubabS Guide des examens biologiques 6ème édition. 2014.

Kumar Yadav Rajeshwar, Mehan Sidharth, Sahu Rakesh, Kumar Sumit, Khan Andleeb, Makeen Hafiz Antar and Al Bratty Mohammed. Protective effects of apigenin on methylmercury-induced behavioural/neurochemical abnormalities and neurotoxicity in rats. *Human & Experimental Toxicology* 2022.

L. Johnson Jodee & González de Mejia Elvira Flavonoid apigenin modified gene expression associated with inflammation and cancer and induced apoptosis in human pancreatic cancer cells through inhibition of GSK-3 β /NF- κ B signalling cascade *Molecular Nutrition & Food* 2013, 57(12):2112-27.

L. Wang, C.L. Weller. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, *Trends Food Sci. Technol*, 2006.

Laurent Monger, Influence de l'apigénine et de ses métabolites sur la prolifération des cellules MCF-7, thèse de doctorat en pharmacie, 2003.

Le Gall C & Desideri-Vaillant. C. Significations d'une protéine C-réactive supérieure à 500 mg/l : à propos de 91 prélèvements dans un centre hospitalier brestois. *Pathologie Biologie* 59 (2011) 319–320.

Lee, H.; Kim, B.G.; Kim, M.; Ahn, J.H. Biosynthesis of Two Flavones, Apigenin and Genkwanin in *Escherichia Coli*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2015.

Leguy V, Audia et al. Syndrome inflammatoire diagnostic difficile en médecine interne, 3ème édition, Maloine, 2008, 863-876.

Leonarduzzi G, Testa G, Sottero B, Gamba P, and Poli G. Design and Development of Nanovehicle-Based Delivery Systems for Preventive or Therapeutic Supplementation with Flavonoids. *Cmc*. 2010.

Leslie EM , Deeley RG , Cole SP .Stimulation par les bioflavonoïdes du transport du glutathion par la protéine de résistance multidrogue de 190 kda 1 (MRP1) . Métabolisme et disposition des médicaments. 2003 . 31,11–15.

Lessing P, & Delminico S « Une vitesse de sédimentation élevée ». In Forum Med Suisse, 2007. 7:766–9.

Lexicomp Inc “Apigenin,” in Specific Lexicomp Online Database Interactions Database (Hudson (OH): Wolters Kluwer Health, 2021.

Li. F, Lang. F, Zhang. H, Xu. L, Wang. Y, Zhai. C, Hao E. Apigenin alleviates endotoxin-induced myocardial toxicity by modulating inflammation, oxidative stress, and autophagy, *Oxid. Med. Cell Longev*, 2017; 2017: 2302896.

Liang H, Sonogo S, Gyengesi E, Rangel A, Niedermayer G, Karl T, Münch G. Effet anti-inflammatoire et neuro-protecteur de l'apigénine : Études sur le modèle murin GFAP-IL6 de neuro-inflammation chronique. *Radic libre. Biol. Méd.* 2017 ; 108 :S4–S13.

Liang YC, Huang Yukon, Tsai SH, Lin-Shiau SY, Chen CF, Lin JK Suppression de la cyclooxygénase inductible et de la synthèse d'oxyde nitrique inductible par l'apigénine et les flavonoïdes apparentés dans les macrophages de souris. *Carcinogénèse* 1999,20,1945–1952.

Liang, YC, Huang YT, Tsai SH, Lin-Shiau SY, Chen CF, Lin JK. Suppression of Inducible Cyclooxygenase and Inducible Nitric Oxide Synthase by Apigenin and Related Flavonoids in Mouse Macrophages. *Carcinogenesis* 1999, 20(10):1945-52.

Lu XY, Sun DL, Chen ZJ, Chen T, Li LP, Xu ZH, et al. Relative Contribution of Small and Large Intestine to Deglycosylation and Absorption of Flavonoids from *Chrysanthemum morifolium* Extract. *J. Agric. Food Chem*, 2010.

Lugasi.A, Houari.J,Sagi.K.V et Biro L. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica Szegehiensis*, 2003.

M.D. Luque de Castro, L.E. García-Ayuso. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future, *Anal. Chim. Acta*, 1998.

M.S.Y Kumar, R Dutta, D Prasad, K Misra. Subcritical water extraction of antioxidant compounds from Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaves for the comparative evaluation of antioxidant activity, *Food Chem*, 2011.

Maachi M, Fellahi S, et al. Difficultés d'interprétation d'un résultat de ferritine en 2004. *Revue française des laboratoires*, mars 2005, N°371.

Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. The Systematic Identification of Flavonoids. Berlin: Springer-Verlag, 1970.

Magder S. Reactive oxygen species: Toxic molecules or spark of life? *Critical Care Med Journal*. 2006. Vol 10, pp. 208-216.

- Malik S, Suchal K, Khan SI, Bhatia J, Kishore K, Dinda AK, Arya DS.** Apigenin ameliorates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats via MAPK-NF- κ B-TNF- α and TGF- β 1-MAPK-fibronectin pathways. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2017. 1,313(2).
- Mao XY, Yu J, Liu ZQ, Zhou HH.** (2015) Apigenin attenuates diabetes-associated cognitive decline in rats via suppressing oxidative stress and nitric oxide synthase pathway. *Int J Clin Exp Med.* 2015.
- Marnett, LJ .** Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*, pp. 181- 182: 219-222.2002.
- Mata AT, Proenc C, Ferreira AR, Serralheiro MLM, Nogueira J M F & Araujo M.E.M.** Antioxidant and ant acetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices, *Food and Chemistry.*2007.
- Matés J, Perez-Gomez C, Nunez Castro I.** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry Journal.*1999. Vol 32. pp. 595-603.
- Matschke V, Theiss C, Matschke J.** Oxidative stress: the lowest common denominator of multiple diseases. *Neural Regen Res.* 2019. 14 (2): 238-241.
- McGarvey D J & Croteau R.** Terpenoid metabolism. *Plant Cell*, 1995.
- McKay D L, Blumberg J B.** A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.) *Phytother. Res*, 2006.
- Merck Index**, 11th Edition, 1989.
- Meyer H, Bolarinwa A, Wolfram G, Linseisen J.**"Bioavailability of apigenin from apiin-rich parsley in humans". *Annals of Nutrition & Metabolism.* 2006.
- Miccadei S, Di Venere D, Cardinali A, Romano R, Durazzo A, Foddai M S, Fraioli R, Mobarhan S, Maiani G.** Antioxidative and apoptotic properties of polyphenolic extracts from edible part of artichoke (*Cynara scolymus* L.) on cultured rat hepatocytes and on human hepatoma cells. *Nutr Cancer*, 2008.
- Michael A, Bianca F.** *Annals of the new York Academy of Sciences* .2002. 957(1) ,146-161.
- Migdal, Serres, M.** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/science.*2011. 27(4), 405-412.
- Min Z, Rongjin S, Sumit B, Yong M, Shufan G, Taijun, Y, et al.** Disposition of Flavonoids via Recycling: Direct Biliary Excretion of Enterically or Extrahepatically Derived Flavonoid Glucuronides. *Physiol. Behav.*2017.
- Murthy HN, Lee E-J, Paek K-Y (2014)** Production of secondary metabolites from cell and organ cultures: strategies and approaches for biomass improvement and metabolite accumulation. *Plant Cell Tissue Organ Cult PCTOC.*2014.

NAMSI, A. Etude des mécanismes moléculaires associés aux effets neuro trophiques l'ODN et des polyphénols « Resvératrol et Apigénine » sur les cellules nerveuses THÈSE DE DOCTORAT en Sciences Biologiques. Univ. Tunis El Manar 2019.

National Center for Biotechnology Information “PubChem Compound Summary for CID 5280443, Apigenin,” in PubChem (Bethesda (MD): National Library of Medicine (US)).2021.

National Center for Biotechnology Information. “Pub Chem Compound Summary for CID 5280443, Apigenin,” in PubChem (Bethesda (MD): National Library of Medicine (US)).2021.

Nielsen S E, and Dragsted L O. Column-switching High-Performance Liquid Chromatographic Assay for Determination of Apigenin and Acacetin in Human Urine with Ultraviolet Absorbance Detection. J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl. 1998.

Nielsen SE , Jeune JF , Daneshvar B, Lauridsen ST , Knuthsen P, Sandstrom B, Dragsted LO. Effet de l'apport de persil (*Petroselinum Crispum*) sur l'excrétion urinaire d'apigénine, les enzymes antioxydantes sanguines et les biomarqueurs du stress oxydatif chez les sujets humains . Journal britannique de nutrition .1999. 81,447–455.

Niki E. Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress? Free Radic Biol Med 2018.

Nimse S.B ,Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms.2015. 5(35): 27986-28006.

Noori S. An overview of oxidative stress and antioxidant defensive system. Open Access Scientific Reports. 2012. 1(8): 1-9.

NORO T, ODA Y, Miyase T, Ueno A, & Fukushima S. Inhibitors of xanthine oxidase from the flowers and buds of *Daphne genkwa*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin.1983.
of apigenin on ethylene glycol-induced urolithiasis via attenuating oxidative stress and inflammatory parameters adult male Wistar rats Life Sciences. 2021. Volume 279,1196.

Ornano L., Venditti A., Donno Y., Sanna C., Ballero M., Bianco A. Analyse phytochimique de la fraction non volatile d'*Artemisia caerulea* subsp. *densiflora* (Viv.) (*Asteraceae*), une espèce endémique de l'archipel de La Maddalena (Sardaigne–Italie) *Nat. Prod. Rés.* 2016 ; 30 :920–925.

Ouhriche I. Les biomarqueurs actuels de l'inflammation. Thèse doctorat en pharmacie. Université mohammed v Rabat. 2017

Pacula A.J, Kaczor K.B., Wojtowicz A, Antosiewicz J, Janecka A, Dlugosz A, Janecki T. Scianowski J. (2017). New glutathione peroxidase mimetics-Insights into antioxidant and cytotoxic activity. Bioorg Med Chem. 2017. 25: 126-131.

Papenfuss GF. Une histoire, un catalogue et une bibliographie des algues benthiques de la mer Rouge. *Israël J Bot.* 1968; 17 : 1–118.).

Pasquier C. Stress oxydatif et inflammation. Rev Fr Lab. Juin .1995. (276):87-92.

Patel D, Shukla S, Gupta S. Apigenin and cancer chemoprevention: progress, potential and promise. Int J Oncol. 2007; 30 : 233–45.

Paul M. Dewick. The biosynthesis of C₅–C₂₅ terpenoid compounds. Natural product report.1999.

Penuelas J and Munne-Bosch S. Isoprenoids: an evolutionary pool for photo protection. Trends Plant Sci. **10**,166-169.2005.

Pincemail, J. Meurisse, M. Limet¹, R. Defraigne, JO . Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme : importance en matière de prévention. Medi sphere.1999.

Principaux aliments contenant de l'apigénine, selon la base de données Phénol-Explore. (<http://phenol-explorer.eu/>) et USDA Data base pour la teneur en flavonoïdes de certains aliments (<https://www.ars.usda.gov/>).

Ramakrishna A, Ravishankar GA. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant Signal Behav **6**. 2011.

Ravisankar S, Agah S, Kim H, Talcott S, Wu C, and Awika, J. Combined Cereal and Pulse Flavonoids Show Enhanced Bioavailability by Downregulating Phase II Metabolism and ABC Membrane Transporter Function in.2019.

Ren B, Qin W, Wu F, Wang S, Pan C, Wang L, et al. Apigenin and Naringenin Regulate Glucose and Lipid Metabolism and Improve Vascular Dysfunction in Type 2 Diabetic Rats. Eur J Pharmacol, 2016;773:13-23.

Reuter S, Gupta SC , Chaturvedi MM; Aggarwal BB Stress oxydatif, inflammation et cancer : comment sont- ils liés ? Biologie et médecine des radicaux libres 2010 , 49, 1603–1616.

Rhee S.J. Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin - induced diabetic rats. Clin Chim Acta. 2004. 340 : 107-115.

Ribeiro D, Freitas M, Lima JL, Fernandes E. Voies pro-inflammatoires : la modulation par les flavonoïdes. Examens de la recherche médicale2015,35,877–936

Rodríguez -Meizoso, F R Marin, M Herrero, F J Señorans, G Reglero, A Cifuentes, E Ibáñez, Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano.

Ruipeng Li , Di Zhao , RongQu , Qiang Fu , Shiping Ma. The effects of apigenin on lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviour in mice. Neurosis. Lett. 2015 ; 594 : 17–22.

Russell DJ. The ecological invasion of Hawaiian reefs by two marine red algae, *Acanthophora spicifera* (Vahl) Boerg. And *Hypnea musciformis* (Wulfen) J.Ag., and their association with two native species, *Laurencia nidifica* and *Hypnea cervicornis*. ICES Mar SciSymp. 1992;194:110–125.

Russo-Marie F, Peltier A, Polla BS. L'inflammation. Paris: John Lib bey Eurotext. 565 p. 1998.

Sacchettini JC & Poulter CD. Creating isoprenoid diversity. *Science* .1997.

Sachin P. Patil, Pankaj D. Jain, Jayant S. Sancheti, Priya J. Ghumatkar, Ruffi Tambe, Sadhana Sathaye. Neuroprotective and neurotrophic effects of Apigenin and Luteolin in MPTP induced Parkinsonism in mice. *Neuropharmacology* 2014, P 192-202.

Salehi B, Venditti A, Sharifi-Rad M, Kręgiel D, Sharifi-Rad J, Durazzo A, Lucarini M, Santini A, B. Souto E, Novellino E, Antolak H, Azzini E, N. Setzer W and Martins N, The Therapeutic Potential of Apigenin, *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, 20(6): 1305.

Santini A, Novellino E. Nutraceuticals: Beyond the Diet before the Drugs. *Curr. Bioact. Compd.* 2014; 10:1–12.

Schwab W, Davidovich -Rikanati R & Lewinsohn E. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *Plant Journal*. 2008.

Sergent O, Griffon B, Cillard, P, & Cillard J. Alcool et stress oxydatif. *Pathologie Biologie*. 2001. 49(9), 689-695.

Sharma P, Bhuchan jha A, Dubey shanker R, et Pessarakli M. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*. 2012. 1-26.

Shay J, E. H. Molecular Mechanisms and Therapeutic Effects of Epicatechin and Other Polyphenols in Cancer, Inflammation, Diabetes, and Neurodegeneration. *Oxid Med Cell Longev*. 2015; 2015: 181260.

Shoubaky GAE, Abdel-Daim MM, Mansour MH, Salem EA. Isolation and identification of a flavone Apigenin from marine red alga *Acanthophora spicifera* with antinociceptive and anti-Inflammatory activities. *J Exp Neurosci*. 2016;10: 21–9.

Shoubaky GAE, Abdel-Daim MM, Mansour MH, Salem EA. Isolation and identification of a flavone apigenin from marine red alga *A canthophoraspicifera* with antinociceptive and anti-Inflammatory activities. *J Exp Neurosci*. 2016, 10:21-9.

Shukla S, Gupta S. Apigenin: a promising molecule for cancer prevention. *Pharm Res*. 2010.

Shukla S, Shankar E, Fu , MacLennan GT, Gupta S. Suppression of NF-κB and NF-κB-Regulated Gene Expression by Apigenin through IκBα and IKK Pathway in TRAMP Mice. *PLoS One*. 2015.

Sibel K, Sedef N E L. Quercetin, luteolin, apigenin and kaempferol contents of some foods. *Food Chem*. 1999, 66, 289–292.

Singh P, Mishra SK, Noel S, Sharma S, Rath SK. Acute exposure of Apigenin induces hepatotoxicity in Swiss mice. *PLOS ONE*. 2012. 7(2): e31964.

Singh V, Sharma V, Verma V, et al. Apigenin manipulates the ubiquitin–proteasome system to rescue estrogen receptor- β from degradation and induce apoptosis in prostate cancer cells. *Eur J Nutr.*2015.

Soliman, KF & Mazzio, EA. Atténuation in vitro de la production d'oxyde nitrique dans la culture cellulaire d'astrocytes C6 par divers composés alimentaires. *Biologie expérimentale et médecine*1998,218,390–397.

Somerset S M, and Johannot L. Dietary Flavonoid Sources in Australian Adults. *Nutr. Cancer* 60 (4), 442–449. 2008.

Souza R, Bonfim-Mendonça P, Gimenes F, Ratti B, Kaplum V, Brusch M, Nakamura S, Sueli S, Silvy S, Engler M, and Marcia E. Consolaro L . Oxidative Stress Triggered by Apigenin Induces Apoptosis in a Comprehensive Panel of Human Cervical, Cancer-Derived Cell Lines *Hindawi.*2017.

Spicak V & Subrt F. Effect of Apigenin on Histamine Liberation. *Ceskoslovenská fysiologie.* 1958.

Srinivas N R. Recent Trends in Preclinical Drug-Drug Interaction Studies of Flavonoids - Review of Case Studies, Issues and Perspectives. *Phytother. Res.*2015.

Stassi V, Verykokidou E, Loukis A, Harvala C. Composés poly phénoliques des feuilles de *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa* (Sm.) Boule. *Pharm. Acta Helv.* 1998 ; 72 : 311–312.

Stephen L. DeFelice. The nutraceutical revolution: Its impact on food industry R&D. *Trends in Food Sci. Technol.* **1995.**

Sui Haixia, ‘Experimental study on the safety and antihypertensive effect of apigenin and its mechanism’, 2009, Chinese Center for Disease Control and Prevention, PhD dissertation.

Surh YJ. Chimio prévention du cancer avec des phytochimiques alimentaires. *Nature Rev Cancer.* 2003 ; 3 : 768–780.

Tabart J. Characterization of rich-antioxidant blackcurrant extract used as food complement and his effect on the endothelium-dependent relaxation. These de doctorat. université de liege. 2011.

TAHOUEO Sekpa Florent. Procédures d’extraction globale des phytochimiques pour l’évaluation analytique des médicaments à base de plantes, Thèse, de doctorat en pharmacie. 2016.

Tang D, Chen K, Huang L, and Li J. Pharmacokinetic Properties and Drug Interactions of Apigenin, a Natural Flavone. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2017.

Taniguchi F, Tagashira Y, Suou K, Iwabe T, Harada T. Ob & Tottori. Apigenin inhibits tumour necrosis factor α –induced cell proliferation and prostaglandin E2 synthesis by inactivating NF κ B in endometriosis stromal cells. *Gyn fertility and sterility* 2010, 95:1518-21.

Tazzini Nicola. Flavonoids: chemical structure, classification, and examples, phytochemicals. 2014.

Thiery-Vuillemin A, Nguyen T, Pivot X, Spano JP, Dufresne A, Soria JC. Agents moléculairement ciblés : leur promesse en tant qu'interventions de chimio prévention du cancer. *European J Cancer*. 2005 ; 41 :2003–2015.

Tong X, Van Dross RT, Abu-Yousif A, Morrison AR, Pelling JC. Apigenin Prevents UVB-Induced Cyclooxygenase 2 Expression: Coupled mRNA Stabilization and Translational Inhibition. *Molecular and Cellular Biology* 2007, 27(1): 283–296.

Tsuji P & Walle T. Cytotoxic effects of the dietary flavones chrysin and Apigenin in a normal trout liver cell line. *ChemBiol Interact*. 2008.171 (1):37–44.

Tsume Y, Mudie D M, Langguth P, Amidon G E, and Amidon G L. The Biopharmaceutics Classification System: Subclasses for In Vivo Predictive Dissolution (IPD) Methodology and IVIVC. *Eur. J. Pharm*. 2014.

Upadhyay S, D. M. Role of Polyphenols and Other Phytochemicals on Molecular Signalling. *Oxid Med CellLongev*.2015. ; 2015 : 504253.

Vamecq J, Vallee L, Storme L, Gele P. et Bordet R. Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La Lettre du Pharmacologue*. 2004. 18(1): 16-23.

Vasson M. P, Cynober L, Raichvarg D. L'alpha-1 glycoprotéine acide (oroso mucoïde). *Nutrition Clinique et Métabolisme* Volume Issue 3, 1996, Pages 177-196.

Venditti A, Maggi F, Quassinti L, Bramucci M, Lupidi G, Ornano L, Bianco A. Constituants bioactifs de *Juni perusturbinata* Guss. de l'archipel de La Maddalena. *Chim. Biodivers*. 2018 ; 15 :e1800148.

Venigalla M, Gyengesi E, Münch G. Curcumin and Apigenin - novel and promising therapeutics against chronic neuro-inflammation in Alzheimer's disease. *Neural Regen Res*. 2015.

Wang D, Yang Y, Zou X, Zhang J, Zheng Z, Wang Z. Antioxidant Apigenin Relieves Age-Related Muscle Atrophy by Inhibiting Oxidative Stress and Hyperactive Mitophagy and Apoptosis in Skeletal Muscle of Mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2020 .15-75(11):2081-2088.

Wang E n, Chen F,Hu X, Yuan Y. Protective Effects of Apigenin Against Furan-Induced Toxicity in Mice. *Food & Function* .2014. 5, 1804–1812.

Wang E, Chen F, Hu X, Yuan Y. Protective Effects of Apigenin Against Furan-Induced Toxicity in Mice. *Food & Function* 2014,5, 1804-1812.

Wang Y, Chen S, Yu O. Metabolic Engineering of Flavonoids in Plants and Microorganisms. *Micro Biotech* 2011, 91, 949–956.

Wen W, Li D, Li X, Gao Y, Li W, Li H, Yan J. Metabolome-Based Genome-Wide Association Study of Maize Kernel Leads to Novel Biochemical Insights. *Nature Communications* 2014, 5, 1–10.

Wicht M & Anton R. Plantes thérapeutique. EMI / Tec et Doc, Paris, p 216-9.2003.

Withers ST & Keasling JD. Biosynthesis and engineering of isoprenoids small molecules. *Appl. Microbiol. Biot.* **2007**.

Xia Yang Junlan Y, ang Jing Hu, Xiaoqing Li ,Xianjiao Zhang Zilin Li, Xianjiao Zhang ,Zilin Li. L'apigénine atténue les lésions d'ischémie/reperfusion du myocarde via l'inactivation de la protéine kinase activée par le mitogène. 2015. Volume 12 Issue 5. Pages: 6873-6878.

Xinrong Xu , Min Li, Weiwei Chen, Haitao Yu,2 Yan Yang, Li Hang. Apigenin Attenuates Oxidative Injury in ARPE-19 Cells thorough Activation of Nrf2 Pathway. *Hindawi* Volume. 2016. Article ID 4378461 .

Xu D.P, Li Y, Meng X, Zhou , Zhou Y, Zheng J, Zhang J.J. Li H.B. Natural antioxidants in foods and medicinal plants: extraction, assessment and resources. *Int J Mol Sci.* 2017. 18(1): 96-107.

Yajie X , Hui W, Xu L. “Protective Roles of Apigenin Against Cardiometabolic Diseases: A Systematic Review.” *Frontiers in nutrition.* 2022. . vol. 9 875826.

Yajie Xu Xue Li et Hui Wang. Protective Roles of Apigenin Against Cardio metabolic Diseases: A Systematic Review, *frontiers in. nutrition* 2022; 9: 875826.

Yano Y., Satomi M., Oikawa H. Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus* *International Journal Food Microbiology.* 2006.

Zanoli P, Avallone R, Baraldi M. Behavioral characterization of the flavonoids Apigenin and chrysin. *Fitoterapia.* 2000.

ZERBATO. M Intérêt du dosage par micro méthode de la Protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie, Faculté de Pharmacie, Thèse doctorat en pharmacie, UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ - NANCY 1 2010.

Zhang S, Liu X, Sun C, Yang J, Wang L, Liu J. ,Apigenin attenuates experimental autoimmune myocarditis by modulating Th1 / Th2 cytokine balance in mice, *Inflammation* 2016 Avril; 39 (2):678-86.

Zhang, X.; Wang, G.; Gurley, E.C.; Zhou, H. Flavonoid Apigenin Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Response through Multiple Mechanisms in Macrophages. *PLOS One* 2014,9(9):e107072.

Zhao L, Wang JL, Liu R, Li XX, Li JF, Zhang L. Neuroprotective, anti-amyloidogenic and neurotrophic effects of apigenin in an Alzheimer's disease mouse model. *Molecules.* 2013. 18(8):9949-65.

Zhao, J.; Zhang, Z.; Dai, J.; Zhang, C.; Ye, Y.; Li, L. Synergistic Protective Effect of Chromogenic Acid, Apigenin and Caffeic Acid Against Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in Male Mice. *RSC Advances*. 2014. 4, 43057–43063.