



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE de l'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم
UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE & DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



THESE DE DOCTORAT LMD 3^{ème} Cycle (Doctorat LMD)

DOMAINE : Sciences de la Nature et de la Vie

FILIERE : Sciences Biologiques

SPECIALITE : Pharmacologie Expérimentale

THEME

Etude phytochimique, évaluation des propriétés
neuropharmacologiques sur la maladie d'Alzheimer et
l'action inhibitrice sur l'activité de
l'acétylcholinestérase de *Passiflora edulis*

Présentée par :

Melle Mostefa Nadjjet

Soutenue Publiquement le 17 avril 2024

Devant le jury :

Président	Pr. Djibaoui Rachid	Univ Mostaganem
Rapporteur	Pr. Djebli Noureddine	Univ Mostaganem
Examineur	Pr. Kharoubi Omar	Univ Oran 1
Examinatrice	Dr Douichene Salima	Univ Mostaganem

Année universitaire 2023-2024
Laboratoire de « Pharmacognosie & Apy-Phytothérapie »

REMERCIEMENT

La soutenance de thèse de doctorat est un moment inoubliable et empreint de fierté, mais il ne faut pas oublier qu'elle est le fruit de nombreux efforts et d'une motivation sans faille.

De mon point de vue, soutenir ma thèse n'aurait pas été possible sans le soutien de mes proches et de toutes les personnes qui m'ont accompagné. Vous trouverez dans cette partie le témoignage le plus humble que je puisse me permettre de donner à toutes les personnes qui m'ont entouré.

*Avant tout je remercie **ALLAH** le tout puissant et miséricordieux de m'a donné la force, la volonté et la patience pour mener à terme ce modeste travail.*

Je ne peux pas aborder ces remerciements sans commencer par mon directeur de thèse le **professeur Noureddine Djebli**, il s'est toujours montré d'une grande disponibilité et ses conseils m'ont aidé à grandir, non seulement dans le domaine de la recherche, mais en tant que personne. Il est difficile de trouver les mots pour rendre compte de la reconnaissance que j'éprouve pour son support et les opportunités qu'il m'a offertes tout au long du doctorat. Merci beaucoup ce travail n'aurait jamais pu aboutir sans votre aide et votre soutien, je vous remercie d'avoir tout d'abord cru en moi dès la fin de mon master et ensuite de m'avoir accompagné dans la mise en place de cette thèse, votre prise de recul et vos relectures m'ont permis d'aller au-delà de ce dont je me pensais capable. Quelle chance se fut pour moi d'être encadrée par vous, vous avez été pour moi un soutien indéfectible, vous avez toujours été présent et vous avez su me mettre en confiance, votre expertise, votre rigueur scientifique et surtout votre confiance merci pour tous, je ne vous remercie jamais assez pour tout ce que vous avez fait pour moi, sera toujours un réel plaisir de travailler à vos côtés. Merci beaucoup professeur et malgré vos importantes obligations, vous avez toujours été présent pour recadrer mes recherches dans la bonne direction et ceci a été fondamental dans la bonne réalisation de cette thèse. Soyez assurée de ma profonde gratitude et de mon profond respect.

J'adresse tous mes remerciements à **Professeur Rachid Djaoui** pour avoir accepté de présider ce jury de thèse et pour l'honneur que vous me faites en acceptant de juger mon travail de thèse. Recevez ici le témoignage de ma gratitude.

Je remercie **Professeur Omar kharoubi** d'accepter d'évaluer, et de me faire l'honneur d'en être l'examineur. Trouvez ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Je tiens aussi à remercier **Madame Douichene Salima** de me faire l'honneur d'accepter de faire partie de mon jury de thèse et de l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail. Je suis très honoré de soumettre mon travail de thèse à votre jugement. Veuillez trouver ici le témoignage de ma gratitude.

Je remercie le **professeur Pierre Duez** directeur de laboratoire chimie thérapeutique et pharmacognosie université de Mons -Belgique- pour m'avoir accueillie au sein de son unité de

recherche pendant six mois. Je mesure la chance que j'ai d'avoir fréquenté un laboratoire de recherche d'un aussi haut niveau.

Je remercie **professeur Laurence Ris** directrice de laboratoire de neuroscience Pour m'avoir accueillie au sein de votre laboratoire, Merci de m'avoir accepté dans son équipe. Merci de m'avoir permis de réaliser une partie de ce travail de thèse dans les bonnes conditions. Je vous remercie également pour votre disponibilité.

Mes remerciements vont bien sûr à mes collègues de laboratoire de pharmacognosie et api phytothérapie avec lesquels j'ai eu le plaisir de passer ces quatre ans.

DEDICASE

Mes chers parents

Merci à toi mama ma grande sœur ma meilleure copine avant d'être ma mère, Quoi que je fasse ou je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes coté a toujours été ma source de force, tu as su me supporter dans les moments difficiles, tu as toujours cru en moi pour affronter les différents obstacles, sans toi je n'aurai jamais fait de longues études. Il n'y a pas assez de mots pour te décrire à quel point je suis reconnaissante et fière pour tes efforts et tes sacrifices durant toute ma vie. Merci à toi papa de m'avoir laissé l'opportunité de choisir mon orientation, merci de m'avoir laissé croire en mes rêves. Puisse Dieu vous préserver et vous procurer santé et bonheur. Je vous souhaite une longue vie, et que dieu vous garder en bon santé.

Ma petite sœur HADJER

C'est à toi mon adorable ange, ma joie, mon petit trésor que je dédie ce travail pour te dire que tu resteras pour toujours le rayon du soleil qui égaye ma vie. Je t'aime ma chérie et je serais toujours là pour toi. Je te souhaite tout le bonheur du monde.

Mon frère AMINE

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je te souhaite une vie pleine de bonheur et de succès. Puisse Allah, le tout puissant, te protéger et te garde.

Mes chères : mes oncles

“ Ahmed, Ali, Mohamed, Taher, Ismail, Abdelkader ”

Je tiens à vous remercier mes oncles. Je n'en serais pas là sans vous. Sans l'aide précieuse de vous je ne serais certainement pas celle que je suis devenue aujourd'hui, Vous n'avez jamais cessé de croire en moi et de m'encourager. Aucun mot ne saurait exprimer l'ampleur de ma reconnaissance pour votre soutien infailible. Je n'aurais jamais réussi tout ça, sans vous que j'aime plus que tout au le monde. Ces années de Thèse ont été aussi des années de réflexion et des moments très difficile que je ne pourrais oublier. Cependant, j'ai reçu et je reçois tellement d'amour de vous que je ne peux qu'être heureuse et épanouie dans ma vie. J'ai une chance inouïe de vous avoir à mes côtés, et d'avoir reçu de vous des valeurs de droiture, de travail, de motivation, d'indépendance mais aussi de simplicité, d'amour pour mon prochain, de convivialité et d'humain. J'ai enfin accompli une chose que j'ai toujours voulu vous donner :

ma réussite professionnelle. Merci beaucoup pour tous, Merci pour tout l'amour et la joie que vous m'apportez. Que Dieu vous apporte santé, bonheur et longue vie.

Et sans oubliés bien sur les femmes de mes oncles vous savez bien que je vous aime et vous respect beaucoup.

Ma grand-mère

Grace à vos douaa que je suis là. J'implore Dieu pour qu'il vous garde en bonne santé et qu'il nous permette de profiter de votre présence à nos côtés Que Dieu vous apporte santé et longue vie.

Mes tantes

Comment je ne peux pas mentionner mes tantes d'amour, mes mamans adoptives, en témoignage de mon attachement et de ma grande considération. J'espère que vous trouverez à travers ce travail l'expression de mes sentiments les plus chaleureux. Que ce travail vous apporte l'estime, et le respect que je porte à votre égard, et soit la preuve du désir que j'ai depuis toujours pour vous honorer. Tous mes vœux de bonheur et de santé.

Mes cousins et cousines

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous savez bien que vous êtes mes sœurs, frères et des amis sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié et fraternité qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur. Que notre fraternité reste éternelle. Puisse dieu nous garder toujours solidaires et unis.

Mes amies, copines et sœurs

« Hadjer » « leila » En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère,

« Radjaa, Amani, Zahra, Imane » merci pour tous les bons moments que nous avons passés ensemble, et aussi Amel et Maroua

Résumé

La maladie d'Alzheimer est une maladie neuro-dégénérative qui entraîne une détérioration progressive et définitive des cellules nerveuses qui détruit lentement les capacités de réflexion et de mémoire en général caractérisée par l'agglomération d'enchevêtrements neurofibrillaires après une dégénérescence neurofibrillaire tau et la formation des plaques séniles par dépôt de plaque bêta-amyloïde (A β). Les plantes médicinales sont actuellement considérées comme une source prometteuse pour identifier des nouvelles thérapies contre la propagation de cette maladie. Les graines de *Passiflora edulis* sont des sous-produits de l'industrie des ressources potentielles pour des applications pharmaceutiques, possèdent des activités biologiques précieuses liées à la maladie d'Alzheimer. L'objectif de notre recherche était de créer un extrait riche en stilbène des graines de *Passiflora edulis*, d'étudier sa teneur en TCP avec un dosage quantitatifs des métabolites secondaire (flavonoïdes, tanin) et son profil HPLC-DAD-MS, et une étude qualitatifs par HPTLC (High-performance thin-layer chromatography), sa capacité de piégeage les radicaux libres DPPH et ABTS et la réduction du fer ferrique, et sa capacité d'inhiber l'activité d'acétylcholinestérase in vivo et in vitro, d'évaluer in vivo l'activité anti-Alzheimer avec deux protocole protectrice et en parallèle, ainsi que d'effectuer une évaluation in silico des composés potentiels du stilbène sur les activités AChE et BChE. De plus, des études d'amarrage moléculaire in silico ont été menées sur des composés de stilbène avec des cibles humaines AChE et BChE. les résultats des analyses phytochimique et HPTLC de la fraction PEAS a révélé la présences des métabolites secondaire, des composés phénolique qui sont intimement associe aux activités biologiques de l'extrait, l'analyse HPLC-MS a révélé la présence des composés phénoliques avec le trans-piceatannol (3,4,3',5'- tétrahydroxy-trans-stilbène) (PE-1), la scirpusine B (PE-2) et la scirpusine A (PE-3) comme constituants majeurs, une amélioration de mémoire et de comportement a été remarqué chez les souris, ces résultats a été confirmé par l'étude histologique du cerveau, et l'immunohistochimie fluorescente pour les plaques amyloïdes. Les analyses in silico ont montré que deux stilbènes simples, trans-piceatannol et trans-resvératrol inhibés sélectivement AChE. Il a notamment souligné que deux dimères de stilbène, le cassigarol E et la scirpusine A, potentiellement inhibés à la fois l'AChE et le BChE à des niveaux nanomolaires. Selon les résultats susmentionnés, La fraction dérivée des graines de *P. edulis* et leurs stilbènes peuvent tous s'avérer être candidats prometteurs pour le développement de nouveaux médicaments de traitement contre les maladies neurodégénératives en général et la maladie d'Alzheimer en particulier.

Mots clés : *Passiflora edulis*, Maladie d'Alzheimer, Stilbène, Acétylcholinestérase, in vivo, in silico.

Abstract

Alzheimer's disease is a neurodegenerative disease that causes progressive and permanent deterioration of nerve cells that slowly destroys thinking and memory abilities in general characterized by the agglomeration of neurofibrillary tangles after tau neurofibrillary degeneration and the formation of senile plaques by deposition of beta-amyloid plaque (A β). Medicinal plants are currently considered a promising source for identifying new therapies against the spread of this disease. *Passiflora edulis* seeds are by-products of industry potential resources for pharmaceutical applications, possess valuable biological activities related to Alzheimer's disease. The objective of our research was to create a stilbene-rich extract of the seeds of *passiflora edulis*, to study its TPC content with a quantitative dosage of secondary metabolites (flavonoids, tannin) and its HPLC-DAD-MS profile, and a qualitative study by HPTLC (High-performance thin-layer chromatography), its ability to scavenge DPPH and ABTS free radicals and the reduction of ferric iron, and its ability to inhibit acetylcholinesterase activity in vivo and in vitro, to evaluate in vivo anti-Alzheimer's activity with two protective and parallel protocols, as well as to perform in silico evaluation of potential stilbene compounds on AChE and BChE activities. In addition, in silico molecular docking studies have been conducted on stilbene compounds with human AChE and BChE targets. The results of phytochemical and HPTLC analyses of the PEAS fraction revealed the presence of secondary metabolites, phenolic compounds that are intimately associated with the biological activity of the extract, HPLC-MS analysis revealed the presence of phenolic compounds with trans-piceatannol (3,4,3',5'- tetrahydroxy-trans-stilbene) (PE-1), bulrush B (PE-2) and bulrush A (PE-3) as major constituents, An improvement in memory and behavior was noted in mice, confirmed by histological study of the brain, and fluorescent immunohistochemical for amyloid plaques. In silico analyses showed that two simple stilbenes, trans-piceatannol and trans-resveratrol selectively inhibited AChE. In particular, he pointed out that two stilbene dimers, cassigarol E and bulrush A, potentially inhibit both AChE and BChE at nanomolar levels. According to the above results, the fraction derived from *P. edulis* seeds and their stilbenes may all prove to be promising candidates for the development of novel treatment drugs for neurodegenerative diseases in general and Alzheimer's disease in particular.

Key words: *Passiflora edulis*, Alzheimer's disease, Stilbene, Acetylcholinesterase, in vivo, in silico.

ملخص

مرض الزهايمر هو مرض تنكسي عصبي يسبب تدهورا تدريجيا ودائما للخلايا العصبية التي تدمر ببطء قدرات التفكير والذاكرة بشكل عام تتميز بتكثف التشابك العصبي الليفي بعد تنكس تاو العصبي الليفي وتشكيل لويحات الشيخوخة عن طريق ترسب لوحة بيتا أميلويد ($A\beta$). تعتبر النباتات الطبية حاليا مصدرا واعدة لتحديد علاجات جديدة ضد انتشار هذا المرض. بذور *Passiflora edulis* هي منتجات ثانوية للموارد المحتملة للصناعة للتطبيقات الصيدلانية ، وتمتلك أنشطة بيولوجية قيمة تتعلق بمرض الزهايمر. كان الهدف من بحثنا هو إنشاء مستخلص غني بالسيتيلين من بذور *passiflora edulis* ، لدراسة محتوى TPC الخاص به بجرعة كمية من المستقلبات الثانوية (الفلافونويد ، التانين) وملف تعريف HPLC-DAD-MS ، ودراسة نوعية بواسطة HPTLC (كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة عالية الأداء) ، وقدرتها على البحث عن الجذور الحرة DPPH و ABTS وتقليل الحديد الحديديك ، وقدرته على تثبيط نشاط أستيل كولينستراز في الجسم الحي وفي المختبر ، لتقييم نشاط مضاد لمرض الزهايمر في الجسم الحي مع بروتوكولين وقائمين ومتوازيين ، وكذلك لإجراء تقييم في السيليكو لمركبات ستيلبين المحتملة على أنشطة AChE و BChE. بالإضافة إلى ذلك ، أجريت دراسات الالتحام الجزيئي في السيليكو على مركبات ستيلبين مع أهداف AChE و BChE البشرية. كشفت نتائج التحليلات الكيميائية النباتية و HPTLC لجزء PEAS عن وجود مستقلبات ثانوية ، مركبات فينولية مرتبطة ارتباطا وثيقا بالنشاط البيولوجي للمستخلص ، وكشف تحليل HPLC-MS عن وجود مركبات فينولية مع ترانس بيكيتانول (3،4،5،3،4،5- رباعي هيدروكسي ترانس ستيلبين) (PE-1) ، بثور ب (PE-2) و bulrush A (PE-3) كمكونات رئيسية ، لوحظ تحسن في الذاكرة والسلوك في الفئران ، أكدته الدراسة النسيجية للدماغ ، والكيمياء المناعية الفلورية لويحات الأميلويد . في تحليلات السيليكو أظهرت أن اثنين من ستيلبينات بسيطة ، ترانس بيكيتانول وعبر ريسفيراترول تثبيط بشكل انتقائي AChE. على وجه الخصوص ، أشار إلى أن اثنين من ثنائيات ستيلبين ، كاسيغارول E و bulrush A ، يحتمل أن يثبطا كلا من AChE و BChE عند مستويات نانومولية. وفقا للنتائج المذكورة أعلاه ، قد يثبت الجزء المشتق من بذور *P. edulis* و stilbenes الخاصة بها أنها مرشحة واعدة لتطوير عقاقير علاجية جديدة AChE و BChE للأمراض التنكسية العصبية بشكل عام ومرض الزهايمر بشكل خاص.

الكلمات المفتاحية: *Passiflora edulis* , مرض الزهايمر , ستيلبين , أسيتيل كولينستراز , في الجسم الحي , في السيليكو

Liste des figures

Figure 01 : la chronologie des découvertes des composés des plaques séniles et des enchevêtrements neurofibrillaires des patients atteints par la maladie d'Alzheimer.....	06
Figure 02 : la chronologie de la maladie d'Alzheimer	07
Figure 03 : Projection du nombre de personnes atteintes de trouble neurocognitif majeur dans le monde en 2050. D'après le World Alzheimer Report	09
Figure 04 : La MA d'origine familiale et la MA d'origine sporadique et leurs causes sous-jacentes.....	10
Figure 05 : Évolution de la prévalence en fonction de l'âge et du sexe	11
Figure 06 : Cerveau sain et cerveau atteint de la maladie d'Alzheimer	12
Figure 07 : Cerveau sain et cerveau atteint de la maladie d'Alzheimer	13
Figure 08 : Illustration schématique de l'agrégation des protéines dans les troubles amyloïdes. L'hyperphosphorylation des protéines Tau modifie leur affinité pour les microtubules qui vont se déstabiliser et altérer la configuration cyto-architecturale du neurone. Les protéines tau hyperphosphorylées vont alors s'accumuler sous forme de fibrilles dans différents compartiments des neurones dont le corps cellulaire où elles vont former les dégénérescences neurofibrillaires	14
Figure 09 : Evolution spatio-temporelle des lésions selon Braak et Thal. A : Les plaques amyloïdes et la progression des dépôts amyloïdes ; B : Les dégénérescences neurofibrillaires et la progression de la pathologie Tau	15
Figure 10 : les voies vers le diagnostic de la maladie d'Alzheimer	20
Figure 11 : Infographie résumant la nature et la physiopathologie ciblée des principaux biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer	21
Figure 12 : Evolution de la maladie d'Alzheimer	21
Figure 13 : Facteurs de risque et protecteurs potentiels de la maladie d'Alzheimer. MIND = Méditerranéens-DASH diet Intervention for Neurodegeneration Delay, DASH = Dietary Approach to Stop Hypertension	22

Figure 14 : Dégradation de l'acétylcholine par l'acétylcholinestérase	26
Figure 15 : Potentialisation de la transmission cholinergique par les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase	27
Figure 16 : Théorie des signatures	31
Figure 17 : Ginkgo biloba	33
Figure 18 : Camellia sinensis	34
Figure 19 : Huperzia serrata	35
Figure 20 : Curcuma longa	36
Figure 21 : Morphologie du fruit de la passion pourpre <i>Passiflora edulis</i> f. <i>edulis</i>	38
Figure 22 : a) <i>Passiflora edulis</i> f. <i>edulis</i> et b) <i>Passiflora edulis</i> Sims selon le Système mondial d'information sur la biodiversité (GBIF) (<i>Passifloraceae</i> in GBIF Secrétariat, 2021)	39
Figure 23 : photo de <i>Passiflora edulis</i> ; a) fleurs, b) fruit de la passion (pourpre) et sa coupe transversale montrant les graines, c) fruit de la passion (jeune) et sa coupe transversale montrant les graines	40
Figure 25 : Courbes d'étalonnages : A : Acide gallique, B : Quercétine, C : Catéchine	57
Figure 26 : Profile HPTLC de graines de <i>Passiflora edulis</i> , sur une plaque de gel de silice F254 ; phase mobile : chloroforme , Acétate d'éthyle , acid formique , méthanol (40 / 40 / 8 / 12) (v/v/v/v) , la plaque a été pulvérisée avec le réactif Fast blue B et visualisée sous lumière visible . les standard utilisés : Resveratrol (voie 1) , Acide sinapique (Voie 2) , Acide Rosmarinique (Voie 4) , Acide Ferulique (Voie 5) , Magnolol (Voie 7) , Acide ginkgolique (Voie 8) , Acide vanillique (Voie 10) , Arbutin (Voie 11) , Acide vanillique (Voie 13) , Resveratrol (voie 15) . PES (Voies 3 / 6 / 12 / 14)	58
Figure 27 : Profile HPTLC de graines de <i>Passiflora edulis</i> , sur une plaque de gel de silice F254 ; phase mobile : chloroforme , Acétate d'éthyle , acid formique , méthanol (40 / 40 / 8 / 12) (v/v/v/v) , la plaque chauffée à 103 °C pendant 3 min , pulvérisée avec les réactif NP et PEG et visualisée sous lumière visible et UV 366 . les standard utilisés : Spiranoside (voie 1) , Myrestin (Voie 2) , Apigenin (Voie 4) , Naringin (Voie 5) , Isoquercitoside (Voie 7) , Baicalein (Voie 8) , Taxifolin (Voie 10) , quersitine dihydrate (Voie 11) , Taxifolin (Voie 13) , Spiranoside (voie 15) . EPS (Voies 3 , 6 , 9 , 12 , 14)	59

Figure 28 : Profile HPTLC de graines de *passiflora edulis* , sur une plaque de gel de silice F254 ; phase mobile : chloroforme , Acétate d'éthyle , acid formique , méthanol (40 / 40 / 8 / 12) (v/v/v/v) , la plaque chauffée à 103 °C pendant 3 min , pulvérisée avec le réactif 10 % acide sulfurique et visualisée sous lumière visible et UV 366 . les standard utilisés : Camaphor (voie 1) , Terpin monohydrate (Voie 3) , thymol (Voie 4) , Hydroxyecalysone (Voie 6) , Menthol (Voie 7) , Camaphor (Voie 9) , Terpin monohydrate (Voie 11) , thymol (Voie 12) , Hydroxyecalysone (Voie 14) , Menthol (voie 15) .PES (Voies 2 , 5 , 10 , 13 -60

Figure 29 : Profile HPTLC de graines de *passiflora edulis* , sur une plaque de gel de silice F254 ; phase mobile : chloroforme , Acétate d'éthyle , acid formique , méthanol (40 / 40 / 8 / 12) (v/v/v/v) , la plaque a été pulvérisée avec le réactif Dragondroff's et visualisée sous lumière visible. les standard utilisés : Noscopine (voie 1) , Ascopine (Voie 2) , Cafféine (Voie 4) , Peiminine (Voie 5) , Quinine (Voie 7) , Atropine (Voie 10) , Theopromine (Voie 11) , Cafféine (Voie 13) , Noscopine (Voie 15). PES (voies 3 , 6 , 9 , 12 , 14)61

Figure 30 : Profil HPLC-DAD de la fraction PEAS à 210 nm. Le trans-piceatannol (PE-1), la scirpusine B (PE-2) et la scirpusine A (PE-3) ont été détectés comme constituants majeurs.....62

Figure 31 : Structures chimiques de 3 composés **PE1-3** détectés par HPLC-HR-ESI-MS63

Figure 32 : Spectre HR-ESI-MS du trans-piceatannol ($T_R= 8,7$ min.).....64

Figure 33: Spectre HR-ESI-MS de la scirpusine B ($T_R= 10,2$ min.)65

Figure 34 : Spectre HR-ESI-MS de la scirpusine A ($T_R= 11,0$ min.)66

Figure 35 : Mode de liaison prédit pour le cassigarol E avec hAChE (code PDB : 4EY7) (A) Vue du sommet de la gorge du site actif, montrant le cassigarol E sous forme de bâtonnets cyan, liés au site anionique périphérique de hAChE. (B) Le diagramme 3D de la surface de l'hydrophobicité entre hAChE et les substrats, (C) Le diagramme 3D des interactions entre hAChE et cassigarol E. (D) Le diagramme 2D des interactions entre hAChE et cassigarol E a été décrit sous forme de lignes pointillées de différentes couleurs : vert : liaison hydrogène ; rose : π -empilable et violet : $-\sigma\pi\pi$ 68

Figure 36 : Mode de liaison prédit pour la scirpusine A avec hBChE (code PDB : 4BDS) (A) Vue du haut de la gorge de liaison, montrant la scirpusine A sous forme de bâtonnets cyan, liés au site actif de hBChE via les interactions ALA328, PHE329, GLY116, TYR332. (B) Le

diagramme 3D de surface de l'hydrophobicité entre hBChE et les substrats, (C) Le diagramme 3D des interactions entre hBChE et la scirpusine A. (D) Le diagramme 2D des interactions entre hBChE et la scirpusine A a été décrit sous forme de lignes pointillées de différentes couleurs : vert : liaison hydrogène ; rose : π -empilement ; et orange : cation.....	69
Figure 37 : Structure chimique du radical DPPH [•] et de sa forme réduite.....	79
Figure 38 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazineferriqueFe (III)-TPTZ et un antioxydant (AH).....	81
Figure 39 : Formation et piégeage du radical ABTS. ^{•+} par un antioxydant donneur de H	82
Figure 40 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la détermination de la capacité antioxydante de passiflora edulis	84
Figure 41 : Courbe d'étalonnage de Trolox pour la détermination de la capacité antioxydante de passiflora edulis	84
Figure 42 : Courbe d'étalonnage du sulfate ferreux heptahydraté (FeSO ₄ .7H ₂ O).....	85
Figure 43 : Réaction colorimétrique d'Ellman.....	92
Figure 44 : pourcentage d'inhibition de l'acétylcholinestérase de galanthamine	94
Figure 45 : Effet de PES sur l'activité locomotrice	110
Figure 46 : Effet de PES sur l'activité de curiosité.....	111
Figure 47 : Effet de PES sur l'activité de Double compartiment noir/blanc	112
Figure 48 : Effet de PES sur l'activité de test de labyrinthe en croix surélevée	113
Figure 49 : Effet de PES sur l'activité de test de Persolt	114
Figure 50 : l'effet de PES sur la mémoire spatiale de travail (MST)	115
Figure 51 : l'effet de PES sur la mémoire spatiale de Référence (MSR)	116
Figure 52 : l'effet de PES sur la Distinction de position	117
Figure 53 : l'effet de PES sur la mémoire spatiale de travail (Piscine de Morris)	118
Figure 54 : l'effet de PES sur la mémoire spatiale de Référence conditionnée (Piscine de Morris)	119

Figure 55 : Effet de PES sur l'activité locomotrice	120
Figure 56 : Effet de PES sur le test de curiosité	121
Figure 57 : Effet de PES sur le test double compartiment Noir/Blanc	122
Figure 58 : Effet de PES sur le test Labyrinthe en croix surélevée	123
Figure 59 : Effet de PES sur le test de persolt (la nage forcé)	124
Figure 60 : Effet de PES sur le test de mémoire spatial de travail (MST)	125
Figure 61 : Effet de PES sur le test de mémoire spatial de Référence conditionné (MSR) ..	126
Figure 62 : Effet de PES sur le test de distinction de position	127
Figure 63 : Effet de PES sur le test de Piscine de Morris (MST)	128
Figure 64 : Effet de PES sur le test de Piscine de Morris (MSR)	129
Figure 65 : photomicrographie du cortex cérébral des souris témoins, à la suite de l'expérience, des section de cerveau des souris, le cortex cérébral , a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500µm , 250 µm , 100 µm (A , B , C) respectivement	131
Figure 66 : photomicrographie du cortex cérébral de souris Alzheimer (ALZ) qu'il a reçus chlorure d'aluminium (AlCl3) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg, à la suite de l'expérience, des sections de cerveau des souris, le cortex cérébral, a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500µm, 250 µm, 100 µm (A, B, C/D) respectivement	132
Figure 67 : photomicrographie cortex cérébral de souris modèle Alzheimer Standards (ALZ-STD) qu'il a reçus les rivastigmine/Donépézile à 1mg/kg, à la suite de l'expérience, des section de cerveau des souris, le cortex cérébral , a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500µm , 250 µm , 100 µm (A , B , C/D) respectivement	133
Figure 68 : photomicrographie du cortex cérébral de souris (ALZ-ED1) modèle Alzheimer traité avec extrait de PE à 100 mg/kg, à la suite de l'expérience, des section de cerveau des souris , le cortex cérébral , a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500µm , 250 µm , 100 µm (A , B , C/D) respectivement	134

Figure 69 : photomicrographie du cortex cérébral de souris (ALZ-ED2) modèle Alzheimer traité avec extrait de PE à 200 mg/kg, à la suite de l'expérience, des section de cerveau des souris , le cortex cérébral , a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500µm , 250 µm , 100 µm (A , B , C) respectivement135

Figure 70 : photomicrographie du hippocampe de souris témoin, à la suite de l'expérience, des section de cerveau des souris , l'hippocampe , a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500µm , 250 µm , 100 µm (A , B , C/D) respectivement137

Figure 71 : photomicrographie du hippocampe de souris Alzheimer (ALZ) qu'il a reçus chlorure d'aluminium (AlCl3) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg, à la suite de l'expérience, des section de cerveau des souris , l'hippocampe , a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500µm , 250 µm , 100 µm (A , B , C/D) respectivement138

Figure 72 : photomicrographie du hippocampe de souris modèle Alzheimer Standards (ALZ-STD) qu'il a reçus les rivastigmine/Donépézile à 1mg/kg , à la suite de l'expérience , des section de cerveau de souris , l'hippocampe , a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500µm , 250 µm , 100 µm (A , B , C/D)respectivement139

Figure 73 : photomicrographie du hippocampe de souris (ALZ-ED1) modèle Alzheimer traité avec extrait de PE à 100 mg/kg, à la suite de l'expérience , des section de cerveau de souris , l'hippocampe , a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500µm , 250 µm , 100 µm (A , B , C/D) respectivement140

Figure 74 : photomicrographie du hippocampe de souris (ALZ-ED2) modèle Alzheimer traité avec extrait de PE à 200 mg/kg, à la suite de l'expérience , des section de cerveau de souris , l'hippocampe , a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500µm , 250 µm , 100 µm (A , B , C/D) respectivement.....141

Figure 75 : photomicrographie du cervelet de souris témoin (A , a) ; Alzheimer (ALZ) (B , b) a reçus chlorure d'aluminium (AlCl3) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg , à

la suite de l'expérience , des section de cerveau de souris , cervelet , a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 250 µm , 100 µm.....142

Figure 76 : photomicrographie du cervelet de souris modèle Alzheimer Standards (ALZ-STD) a reçus les rivastigmine/Donépézile à 1mg/kg (A,a) , souris modèle Alzheimer traité avec extrait acétonique des graines de passiflora edulis a 100 et 200 mg/kg (B,b /C,c) Respectivement , à la suite de l'expérience , des section de cerveau de souris , l'hippocampe , a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 250 µm , 100 µm143

Figure 77 : Activité inhibitrice de l'AChE (%) chez les souris153

Figure 78 : Marquage immunohistochimique du cerveau par anticorps anti-beta amyloïdes chez des souris160

Figure 79 : Marquage immunohistochimique du cerveau par Tio flavine chez des souris ... 161

Liste des tableaux

Tableau 01 : le profil des acides gras des graines de <i>passiflora edulis</i>	42
Tableau 02 : les compositions nutritifs des graines de <i>passiflora edulis</i>	43
Tableau 03 : le profil des acides phénolique des graines de <i>passiflora edulis</i>	44
Tableau 04 : le profil des flavonoïdes des graines de <i>passiflora edulis</i>	45
Tableau 05 : le profil des stilbènes des graines des <i>passiflora edulis</i>	46
Tableau 06 : Composés de stilbène de la fraction de graine de P. edulis (PEAS) identifiés par l'analyse HPLC-DAD-MS.....	63
Tableau 07 : Amarrage moléculaire des composés PE-1–5 avec AchE	71
Tableau 08 : Amarrage moléculaire des composés PE-1–5 avec BChE	72
Tableau 09 : résultats de test de toxicité après 14 jours d'observation	98
Tableau 10 : Effets sur le comportement animal de la fraction acétone riche en stilbène des graines de P. edulis (PEAS) éliminées de l'huile	109

Liste des abréviations

Abs	Aabsorbance
ABS	site de liaison anionique
ABTS	Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6- sulphonique
Ach	Acétylcholine
AchE	Acétylcholinestérase
ADC2	Chambre de développement automatique 2
ADI	Maladie d'Alzheimer internationale
AlCl ₃	Trichlorure d'aluminium
ALZ	Alzheimer
APP	protéine précurseur de l'amyloïde ou amyloid precursor protein en anglais
ASNM	Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
ATCI	Acétylthiocholine iodide
ATS4	Échantillonneur automatique TLC
A β	Bêta-amyloïde
BChE	Butyrylcholinestérase
BSA	Bovin sérum albumine : Le sérum albumine de bovin
CAS	site actif catalytique
CCM	Chromatographie sur couche mince
ChEI	Inhibiteurs du cholinestérase
DAPI	4',6-diamidino-2-phénylindole
DASH	Approche diététique pour arrêter l'hypertension
DNF	Dégénérescence neurofibrillaire
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazil.
DTNB	5,5'-dithiobisnitrobenzoate
EAG	Equivalent acide gallique.
EMA	Agence européenne des médicaments
FAD	Maladie d'Alzheimer familiale

FAO Organisation pour l'alimentation et l'agriculture

FeCl₃ Chlorure de fer.

Fe (II) -TPTZ : complexe 2, 4, 6-tripyridyl-striazine en fer ferreux.

Fe (III) -TPTZ : Complexe 2, 4, 6-tripyridyl-striazine en fer ferrique

FeSO₄.7H₂O Sulfate ferreux heptahydraté

FRAP Pouvoir antioxydant de la réduction ferrique

H&E Hématoxyline/Eosine

HAS Haute Autorité de Santé

HCL Acide chlorhydrique

HPLC-DAD Chromatographie liquide à haute performance couplé à Détecteur à matrice de diodes

HPTLC Chromatographie sur couche mince à haute performance

I% pourcentage d'inhibition

IC₅₀ Concentration inhibitrice à 50%

IP Intrapéritonéale.

IRM Imagerie par résonance magnétique

LCS Liquide céphalorachidienne

MCI Déficience cognitive légère MF / MW Molecular formula

MIND Intervention du régime méditerranéen DASH pour le retard de la neurodégénérescence

MSR Mémoire spatiale de Référence conditionnée

MST Mémoire spatiale de travail conditionnée

MT Microtubules

NMDA N-méthyl-D-aspartate

NMRI Institut de recherche médicale navale: Institut de recherche médicale de la marine

O.C.D.E Organisation de la Coopération Economique et Développement

O.N.A.B Office National des Aliment de Bétail

P/V poids/volume

PA Plaques amyloïdes

PAF activation plaquettaire

PAS site anionique périphérique

PE Passiflora Edulis

PEAS stilbène des graines de P. edulis

PPFS purple passion fruit

Rt Rétention time

SFE extraction par fluide supercritique

SIRT activateur de la sirène

SN surnageant

TEAC Trolox équivalent antioxydant capacity

ThS Thio flavine S

TLC Chromatographie sur couche mince TNB 5-thio-2-nitrobenzoate

TCP teneur composés phénolique

UE Extraction par ultrasons

YPFS graines de fruit de la passion jaune

Table de matières

Introduction générale.....	01
----------------------------	----

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Maladie d'Alzheimer

I.1.Généralité.....	04
I.2.Histoire de la maladie d'Alzheimer	05
I.3.Les données épidémiologique de la maladie d'Alzheimer	07
I.4.Les formes de la maladie d'Alzheimer	09
I.4.1.la forme sporadique	10
I.4.1.1.Facteur de risque	10
I.4.1.2.facteurs génétiques	11
I.4.2.la forme familiale	11
I.5.Neuropathologie de la maladie d'Alzheimer	12
I.5.1.Généralité	12
I.5.2.Les enchevêtrements neurofibrillaires de protéine Tau	13
I.5.3.Amyloïdes cérébrale	14
I.5.4.Atrophie cérébrale	16
I.6.Les symptômes	17
I.6.1.Trouble de mémoire	17
I.6.2. Trouble cognitifs	17
I.6.2.1. Trouble de langage : aphasie	17
I.6.2.2.Trouble des gestes : apraxie	17
I.6.2.3. Trouble de la reconnaissance : agnoïse	18
I.6.3.Trouble psycho-comportementaux	18
I.7. les biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer de la maladie d'Alzheimer	18
I.7.1. Dans LCR	19
I.7.2. Dans le sang	20

I.7.3.IRM Morphologie	20
I.8.les stades de la maladie d'Alzheimer	21
I.9.Facteurs de risque et de protection environnementaux	22
I.9.1.Les facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer	23
I.9.1.1.Le diabète	23
I.9.1.2.Hypertension au milieu de la vie	23
I.9.2.Les facteurs protectives de la maladies d'Alzheimer	23
I.9.2.1.le niveau d'éducation	23
I.9.2.2.Activité cognitive	23
I.9.2.3.Les activités sociales	24
I.9.2.4.Les activités physique	24
I.9.2.5.Régime alimentaire	24
I.9.2.6.La consommation du Café et thé	25
 Chapitre II : Traitement et la maladie d'Alzheimer	
II.1.Généralité	26
II.2.Anticholinestérasiques	26
II.2.1.Donépézil (Aricept®)	27
II.2.2.Rivastigmine (Exelon®)	27
II.2.3.Galantamine (Reminyl®)	28
II.3.Antiglutamatergique	28
II.3.1.Mémantine (Ebixa®)	28
II.4.Déremboursement des traitements médicamenteux de la maladie d'Alzheimer	28
II.5.Perspectives de traitements de la maladie d'Alzheimer	29
II.5.1.Cibler le peptide bêta-amyloïde	29
II.5.2.Cibler la protéine tau	30
II.6.Médecine complémentaires et prise en charge non médicamenteuse des trouble de la mémoire	30
II.6.1.Conseils hygiéno-diététique	30

II.6.1.1. Alimentation	30
II.6.2. La phytothérapie	33
II.6.2.1. Ginkgo	33
II.6.2.2. Thé vert.....	34
II.6.2.3. Huperzia	35
II.6.2.4. Curcuma longa	35
Chapitre III : <i>Passiflora edulis</i>	
III.1. Généralité	37
III.2. Origine et la distribution	38
III.3. Les graines de <i>Passiflora edulis</i>	39
III.4- Taxonomie	40
III.5. Compositions des graines de <i>Passiflora edulis</i>	41
III.5.1. Les compositions nutritif	41
III.5.1.1. Les lipides	41
III.5.1.2. Les protéines	42
III.5.1.3. Les minéraux	42
III.5.2. Les composition phénoliques	43
III.5.2.1. Les acides phénoliques	44
III.5.2.2. Les flavonoïdes	44
III.5.2.2.1. Stilbène	45
III.6. les propriétés pharmacologique de <i>Passiflora edulis</i>	47
III.6.1. l'activité antioxydante	47
III.6.3. Effet sur le métabolisme des graisses	47
III.6.4. Effet hypoglycémiant	48
III.6.5. Activité anti-inflammatoire	48
III.6.6. Activité anti-anxiété	48
III.6.7. Activité antitumorale	48

Partie I : Etude Expérimentale

Chapitre I : Etude in vitro

I.1. Matériel végétale	49
I.1.1. Les graines de <i>Passiflora edulis Sims</i>	49
I.1.2. Préparation de la fraction d'acétone polyphénolique riche en stilbène des graines de <i>Passiflora edulis</i>	49
I.2. Analyse phytochimique	49
I.2.1. Préparation de l'extrait	49
I.2.2. Dosage des polyphénols totaux	49
I.2.3. Dosage des flavonoïdes	50
I.2.4. Dosage des tannin condensés	50
I.3. Analyse chromatographique	51
I.3.1. La chromatographie sur couche mince à haute performance (HPTLC)	51
I.3.1.1. Le principe	51
I.3.1.2. Protocole	51
I.3.1.3. Les acides phénoliques	52
I.3.1.4. Les flavonoïdes	52
I.3.1.5. Les terpénoides	53
I.3.1.6. Les alcaloïdes	53
I.3.2. Chromatographie liquide à haute performance HPLC-MS	54
I.3.2.1. les condition de l'analyse HPLC-MS	54
I.4. Amarrage moléculaire (docking)	55
I.5. Résultats	56
I.5.1. Résultats des analyse phytochimique	56
I.5.1.1. Dosage des métabolites secondaire	56
I.5.2. Les résultats de la chromatographie sur couche mince à haute performance (HPTLC)	58
I.5.2.1. Les composés phénoliques	58
I.5.2.2. Flavonoïdes	59
I.5.2.3. Terpénoides	60
I.5.2.4. Alcaloïdes	61
I.5.3. Détermination des composés phénoliques à l'aide de l'analyse HPLC-DAD-MS	62

I.5.4. Amarrage moléculaire	67
I.6. Discussion	68
I.7. L'évaluation des activités Biologique	79
I.7.1. Détermination de l'activité antioxydante	79
I.7.1.1. Matériels et méthode	79
I.7.1.1.1. Activité antioxydante de l'extrait des graines de <i>Passiflora edulis</i> par l'effet scavenger du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	79
I.7.1.1.2. Activité antioxydante de l'extrait des graines de <i>Passiflora edulis</i> par l'effet scavenger du radical FRAP, Ferric Reducing Antioxydant Power	80
I.7.1.1.3. Activité antioxydante de l'extrait des graines de <i>passiflora edulis</i> par l'effet scavenger du radical libre ABTS L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)	81
I.7.1.2. Résultats	83
I.7.1.2.1. Test de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH)	83
I.7.1.2.2. Activité de piégeage vers l'ABTS*+	84
I.7.1.2.3. Détermination du pouvoir antioxydant du Fer	85
I.7.1.3. Discussion	86
I.7.2. Détermination de l'activité anti-Alzheimer via l'inhibition de l'acétylcholinestérase..	92
I.7.2.1. Matériel et méthode	92
I.7.2.2. Résultats	94
I.7.2.3. Discussion	95
Chapitre II : Etude in vivo	
II.1. Matériel animal	96
II.2. Test de toxicité	96
II.2.1. Principe	96
II.2.2. Protocole	96
II.2.3. Résultats	98
II.2.4. Discussion	98
II.3. Evaluation des activités biologiques in vivo	100
II.3.1. Evaluation de l'activité neuroprotectrice de l'extrait des graines de <i>Passiflora edulis</i>	100
II.3.2. Evaluation de l'activité anti-Alzheimer en parallèle de l'extrait des graines de <i>Passiflora edulis</i>	101

II.4.Les tests neurologique	103
II.4.1.Tests de comportement neurologiques	103
II.4.1.2.Activité locomotrice	103
II.4.1.3.Curiosité (test de trous)	103
II.4.1.4.Epreuve d'anxiété	103
II.4.1.4.1.Test de Double compartiment noir/blanc	103
II.4.1.4.2. Labyrinthe en croix surélevée	104
II.4.1.5.Test de persolt (test de la nage forcée)	104
II.4.2.Tests de mémoire	104
II.4.2.1.Le labyrinthe radiaire à huit bras	104
II.4.2.1.1.Mémoire spatiale de travail (MST)	105
II.4.2.1.2. Mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR)	105
II.4.2.1.3.Distinction de position	105
II.4.2.2.Piscine de Morris (Le labyrinthe aquatique)	105
II.5.Etude histologique	106
II.5.1. Fixation	106
II.5.2.Macroscopie	106
II.5.3.Imprégnation (circulation)	106
II.5.4.Inclusion	106
II.5.5.Microtomie	106
II.5.6. Montage	108
II.5.7.Lecture microscopique	108
II.6.Analyse statistique	108
II.7.Résultats	109
II.7.1.Résultat de l'évaluation de l'activité neuroprotectrice de l'extrait des graines de <i>Passiflora edulis</i>	109
II.7.1.1.Test de comportement neurologique	109
II.7.1.1.1.Activité Locomotrice	109
II.7.1.1.2.Test de curiosité (test de trous)	109
II.7.1.1.3.Epreuve d'anxiété	109
II.7.1.1.3.1.Double compartiment noir/blanc	109

II.7.1.1.3.2. Test de labyrinthe en croix surélevée	113
II.7.1.1.4. Test de Persolt (test de la nage forcée)	114
II.7.1.2. Tests de mémoire	115
II.7.1.2.1. Le labyrinthe radiaire à huit bras	115
II.7.1.2.1.1. Mémoire spatiale de travail (MST)	115
II.7.1.2.1.2. Mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR)	115
II.7.1.2.1.3. Distinction de position	117
II.7.1.2.2. Piscine de Morris	117
II.7.1.2.2.1. Mémoire spatiale de travail (MST)	117
II.7.1.2.2.2. Mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR)	119
II.7.2. Résultats de l'évaluation de l'activité anti-Alzheimer en parallèle de l'extrait des graines de <i>Passiflora edulis</i>	120
II.7.2.1. Les tests neurologique de comportement	120
II.7.2.1.1. Activité locomotrice	120
II.7.2.1.2. Test de Curiosité (Essai de trous)	121
II.7.2.1.3. Epreuve d'anxiété	122
II.7.2.1.3.1. Double compartiment Noir/Blanc	122
II.7.2.1.3.2. Labyrinthe en croix surélevée	123
II.7.2.1.4. Test de Persolt (la nage forcée)	124
II.7.2.2. Tests de mémoire	125
II.7.2.2.1. Le labyrinthe radiaire à huit bras	125
II.7.2.2.1.1. Mémoire spatiale de travail (MST)	125
II.7.2.2.1.2. Mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR)	126
II.7.2.2.1.3. Distinction de position	127
II.7.2.2.2. Piscine de Morris	128
II.7.2.2.2.1. Mémoire spatiale de travail (MST)	128
II.7.2.2.2.1. Mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR)	129
II.7.2. Les résultats de l'étude histologique	130
II.7.2.1. Cortex cérébral	130
II.7.2.2. Hippocampe	136
II.7.2.3. Cervelet	142

II.7.3.Discussion	144
II.4.Dosage de l'acétylcholinestérase in vivo	152
II.4.1.Préparation de l'homogénat	152
II.4.2.Le dosage de l'acétylcholinestérase	152
II.4.3.Les Résultats	153
II.5.Immunohistochimie fluorescente par l'anticorp « anti-beta amyloïdes »	156
II.5.1.Préparation des lames en silane	156
II.5.2.Protocole	156
II.5.2.1.Déparaffinage et réhydratation	156
II.5.2.2.Démasquages des sites antigéniques	156
II.5.2.3.Perméabilisation et blocage	157
II.5.2.4.Incubation avec anticorps primaire	157
II.5.2.5.Incubation avec l'anticorps secondaire	157
II.5.2.6.Montage des lames	158
II.6.Immunohistochimie des plaques amyloïdes par la Thio flavine (ThS)	158
II.6.1.Principe	158
II.6.2.Protocol	158
II.6.3.Le montage des coupes avec DAPI	158
II.7.Résultats	159
II.7.1.Immunohistochimie fluorescente par l'anticorp « anti-beta amyloïdes ».....	159
II.7.2. Immunohistochimie des plaques amyloïdes par la Thio flavine (ThS)	159
II.8.Discussion	162
Conclusion et perspectives	163
Références bibliographiques	165

Introduction générale

De nos jours, des milliers de maladies de différentes catégories viennent à s'installer dans la communauté en engendrant des impacts socioéconomiques lourds. Le cancer, le diabète, les maladies cardiovasculaires et neurologiques occupent l'attention primordiale de la communauté scientifique et orientent les regards vers les modalités de traitements disponibles dans les pratiques médicales actuelles.

L'analyse profonde des étiologies de différentes maladies nous a permis de concentrer la lumière sur une notion fondamentale, la maladie d'Alzheimer. Est une maladie courante et dévastatrice caractérisée par des agrégations pathologiques de plaques bêta-amyloïdes (A β) extracellulaires et des enchevêtrements intracellulaires de Tau et la perte de synapses font partie des caractéristiques pathologiques de la maladie d'Alzheimer [**Venugopalan, J et al.,2021 ; Graff-Radford, J et al., 2021**].

La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative progressive irréversible liée à l'âge qui se caractérise par une perte de mémoire sévère, un comportement inhabituel, des changements de personnalité et un déclin de la fonction de mémoire. La maladie d'Alzheimer détruit les cellules vitales du cerveau, causant des problèmes de mémoire, de pensée et de comportement. [**Ju, Y., & Tam, K. Y. 2022**].

Environ 50 millions de personnes dans le monde souffrent de la maladie d'Alzheimer et de démences apparentées, et on estime qu'environ 75 % des personnes atteintes de démence ne sont pas diagnostiquées, selon le Rapport mondial sur la maladie d'Alzheimer 2022 [**Gauthier, S et al., 2022**]. La maladie d'Alzheimer a non seulement un impact néfaste sur la qualité de vie des patients, mais elle entraîne également un lourd fardeau économique qui pourrait coûter plus de 1 000 milliards de dollars d'ici 2050 [**Wong, W. 2020**].

Bien que notre compréhension des étiologies de la maladie d'Alzheimer se soit considérablement élargie au fil des décennies, il n'existe aucun médicament disponible pour arrêter la progression de la maladie. À cet égard, la thérapeutique pharmacologique n'offre qu'une aide symptomatique minime et/ou renforce le dysfonctionnement cognitif avec divers résultats indésirables et ne peut pas empêcher la progression de la maladie.

À ce jour, les inhibiteurs du cholinestérase et les antagonistes des récepteurs du glutamate ont été les médicaments standard pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. Ces interventions thérapeutiques apportent un soulagement symptomatique, mais sont incapables de guérir et/ou de retarder la progression de la maladie [**Cao, S. Q et al., 2022**].

Par conséquent, il existe un énorme besoin de soutien d'une certaine classe de composés d'origine végétale et d'identifié de nouvelles stratégies thérapeutiques pour contrer/traiter la maladie d'Alzheimer avec peu ou pas d'effets secondaires.

Les produits issus de ressources naturelles telles que les plantes médicinales sont utilisés depuis longtemps pour le traitement de divers troubles de la mémoire comme l'amnésie, la démence, la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson. Plusieurs études ont rapporté que les plantes médicinales sont utilisées dans le traitement de la maladie d'Alzheimer

La *Passiflora edulis*, également connue sous le nom de fruit de la passion, est largement répandue dans les régions tropicales et subtropicales du monde et devient populaire en raison de sa nutrition équilibrée et de ses bienfaits pour la santé. À l'heure actuelle, plus de 110 constituants phytochimiques ont été trouvés et identifiés dans les différentes parties de la plante de *P. edulis*, dans lesquelles les flavonoïdes et les triterpénoïdes détiennent la plus grande part. Divers extraits, jus de fruits et composés isolés ont montré un large éventail d'effets sur la santé et d'activités biologiques telles que des activités antioxydantes, antihypertensives, antitumorales, antidiabétiques, hypolipidémiques, etc.

Dans cette présente étude nous démontrons le potentiel de l'extrait acétonique des graines de *Passiflora edulis* dans la protection contre la neurotoxicité médiée par l'administration de chlorure d'aluminium combinée au D-galactose chez des souris de la souche NMRI de modèle d'Alzheimer.

Le manuscrit de ce travail est partagé en deux parties essentielles : une partie pour la synthèse bibliographique et la partie expérimentale

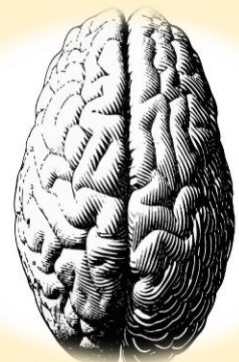
- ❖ Pour la première partie nous avons abordés, l'état de connaissance bibliographique, qui comporte 3 chapitres :
 - Chapitre I illustrant une approche bibliographique sur la maladie d'Alzheimer.
 - Chapitre II consacré pour des généralités sur les traitements synthétique et naturelle contre la maladie d'Alzheimer.
 - Chapitre III consacré pour une description générale sur la *Passiflora edulis* (les caractères botaniques et la systématique) ainsi que la répartition géographique et quelques utilisations en pharmacologie.
- ❖ La partie expérimentale constitue la deuxième partie du manuscrit composée de deux chapitres, le premier chapitre in vitro consiste

-des analyses phytochimiques (dosage des métabolites secondaires, HPTLC, HPLC-DAD-SM)

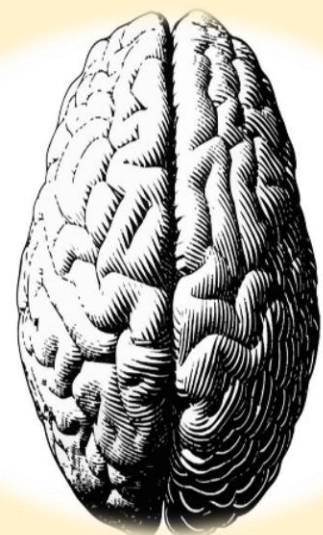
-activité Biologiques (Activité Antioxydante, anticholinestérase)

-Chapitre in vivo : consiste à évaluer l'effet neurologique de *Passiflora edulis* par deux protocoles (parallèle et neuroprotecteur) ainsi la détermination de l'activité anticholinestérase et immunohistochimie par la fluorescence anti-beta amyloïdes et la Thioflavine S.

Synthèse Bibliographique



Chapitre I
Maladie d'Alzheimer



I.1.Généralité

La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative irréversible et la cause la plus fréquente de démence [Chan, K. Y. et al., 2013 ; Knopman, D. S. et al., 2021], qui détruit lentement les capacités de réflexion et de mémoire en général [Asghar, A .et al., 2020], elle cause une perte de capacité de réflexion narrative ainsi que la capacité d'effectuer des tâches simples dans la routine. La MA est également principalement associée à une myriade de symptômes tels que la perte de la mémoire, l'agitation, la désinhibition, l'apathie, la psychose, l'anxiété et les troubles du sommeil [Cummings, J. L., & Back, C. 1998], [Cao, Y .et al., 2020],

La maladie d'Alzheimer c'est une maladie progressive et irréversible, c'est-à-dire qu'elle s'aggrave avec le temps [Asghar, A.et al., 2020]. Elle a un impact négatif important sur la santé physique, mentale, psychologique et économique des patients et de leurs soignants [Iqbal, D. et al 2021]. La MA est une démence multifactorielle caractérisée par l'agglomération d'enchevêtrements neurofibrillaires après une dégénérescence neurofibrillaire tau, la formation de plaques séniles par dépôt de plaque bêta-amyloïde (A β) (Alzheimer Association. 2019), le stress oxydatif et la perturbation de l'activité cholinergique [Messaad, M.et al.,2022 ; Iqbal, D. et al., 2021].

La MA est la deuxième cause de décès parmi les pays à revenu élevé, la septième cause de décès dans le monde [Iqbal, D. et al., 2021] et la sixième cause de décès aux États-Unis.

À moins que des percées médicales ne se développent pour prévenir, ralentir ou guérir la MA [Gaugler, J. et al., 2021].

La maladie d'Alzheimer est associée à une utilisation très élevée des ressources en soins de santé qui comprend les soins de longue durée et les services de soins palliatifs, imposant un lourd fardeau économique et social [Alzheimer's Association. 2022]. Le coût annuel de la démence est estimé à plus de 3 billions de dollars dans le monde et passera à 2,8 billions de dollars d'ici 2030 [World Health Organization, 2021].

Il n'existe aucun traitement préventif ou modifiant la maladie d'Alzheimer, il est essentiel de clarifier les mécanismes causals de la MA pour la prévention et le développement de médicaments [Wang, H.et al., 2022].

I.2.Histoire de la maladie d'Alzheimer :

-Histoire de la maladie d'Alzheimer commencé le 1907 avec le médecin et le psychiatre allemand Aloïs Alzheimer, voit en consultation une femme de 51 ans Auguste Deter pour des troubles neurologiques. Cette patiente est adressée à l'hôpital psychiatrique car son mari n'arrive plus à gérer sa femme sujette à des troubles de la mémoire, un mutisme, une désorientation et des hallucinations. Lors de sa première prise de contact avec Auguste Deter, le Dr Alzheimer comprend qu'elle est complètement désorientée et qu'elle semble ne plus se souvenir les détails de sa vie quotidienne. Pour le docteur Aloïs Alzheimer, la précocité de l'altération des fonctions cérébrales de sa patiente ne peut pas être simplement due à une démence sénile, mais plutôt à quelque chose d'autre qu'il nommera tout d'abord "la maladie de l'oubli". Après plusieurs mois d'hospitalisation. Le Dr aloi la décrit comme souffrant d'une aphasie, de désorientation, d'un délabrement psychosocial, de comportements imprévisibles et même d'hallucinations auditives.

Avril 1906 c'est la mort d'auguste à l'âge de 51 ans, le Dr Alzheimer fera une demande à sa famille de la défunte de récupérer son cerveau afin de l'analyser. Le médecin allemand découvre lors de l'autopsie de cerveau de Auguste Deter, au microscope deux anomalies (plus tard reconnue : un dépôt anormal d'une protéine à l'extérieur des neurones (les plaques séniles), et une dégénérescence des neurones (la dégénérescence neurofibrillaire)

Ces résultats ont été présenté à la 37ème conférence des psychiatres allemands à Tübingen avec sous-titre « On the peculiar disease process of the cerebral cortex » et a permis la publication en 1910 dans le laboratoire du Dr Kraepelin, du premier article intitulé « Clinically and histologically peculiar mental disorders of old age » avec pour la première fois l'utilisation du terme « Alzheimer's Disease » [Möller et Graeber 1998].

L'évolution de la connaissance sur cette maladie est essentielle. Depuis le début du 20ème siècle, l'augmentation de la longévité via l'amélioration de la qualité de vie et le progrès de la médecine a donné lieu à l'émergence des maladies liées à l'âge comme la maladie d'Alzheimer.

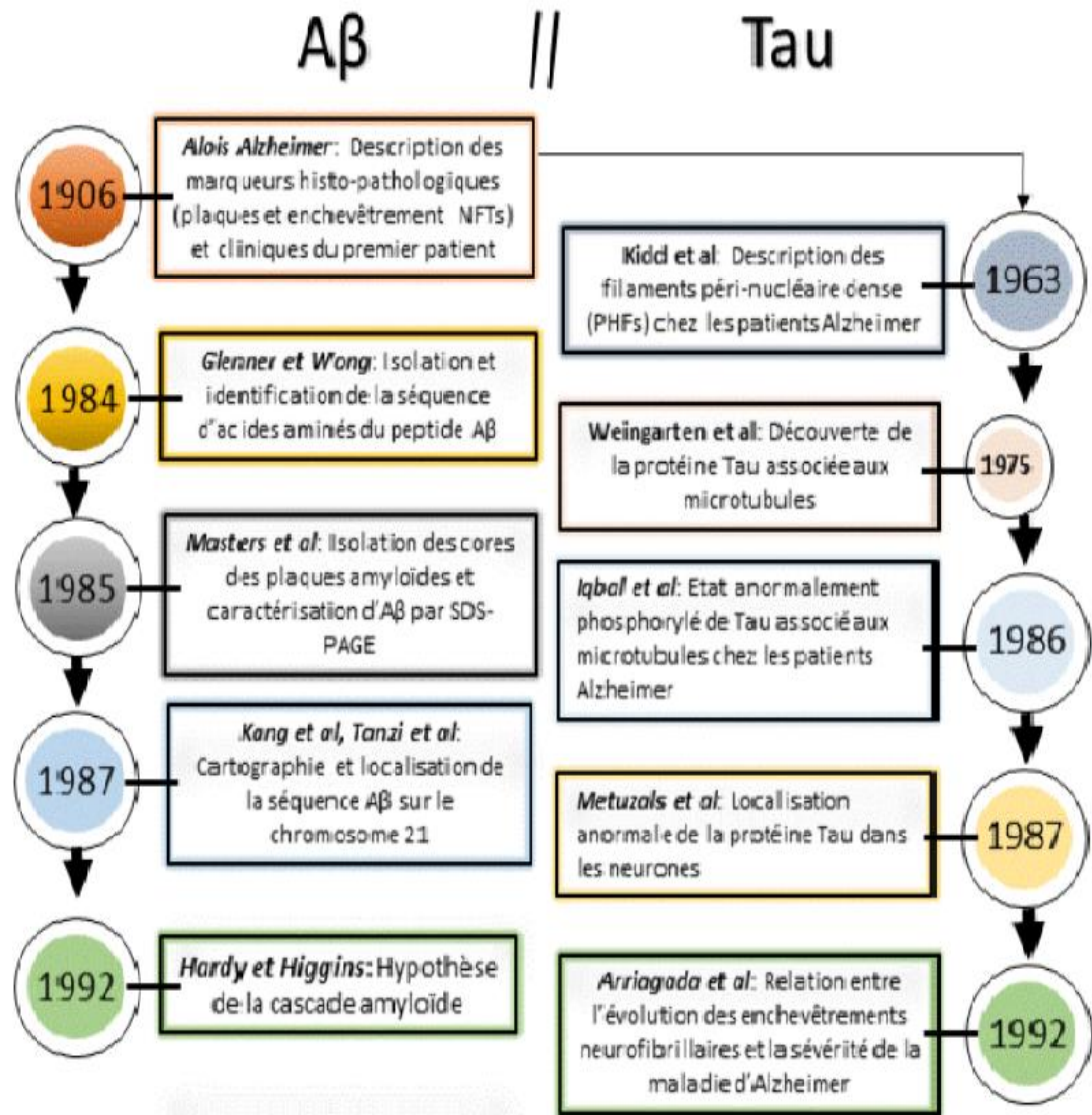


Figure 01 : la chronologie des découvertes des composés des plaques séniles et des enchevêtrements neurofibrillaires des patients atteints par la maladie d'Alzheimer [Valverde, A. 2020].

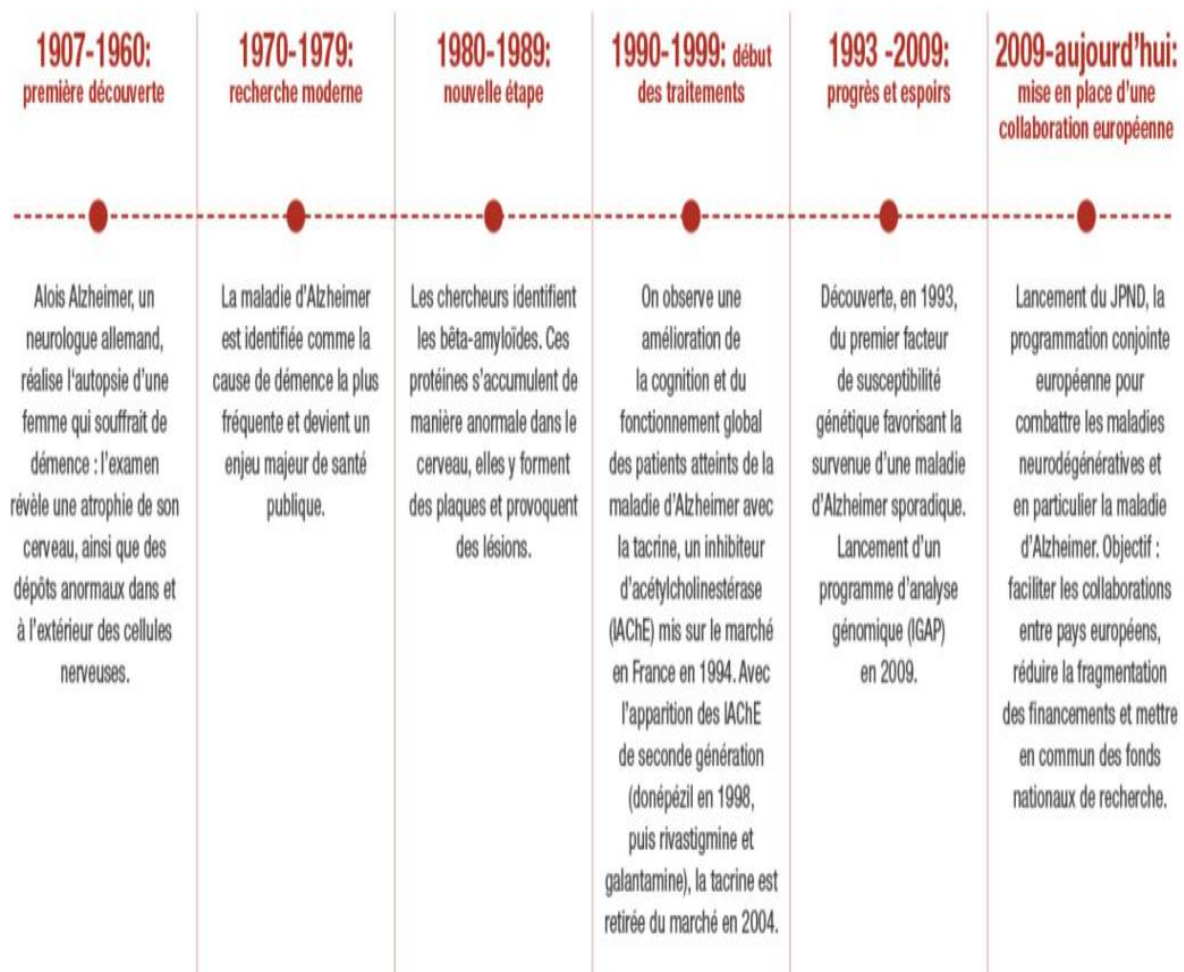


Figure 02 : la chronologie de la maladie d'Alzheimer selon [Leclerc, F. 2022]

I.3. Les données épidémiologiques de la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est une priorité majeure de la santé publique mondiale qui a considérablement augmenté au cours des dernières décennies [Alzheimer's Association et al., 2018, Alzheimer's Association et al. 2017]. Depuis sa première caractérisation en 1907, le nombre de cas de la maladie d'Alzheimer n'a fait qu'augmenter. La prévalence de la MA et de la douleur augmente avec l'âge [World Alzheimer Report 2016]. D'après l'association Alzheimer Disease International (ADI) [2015] ; Moins de 2% des personnes âgées de moins de 65 ans sont touchées contre 15% pour celles âgées de 80 ans et plus.

Dans les pays les plus développés. Ces chiffres devraient continuer d'augmenter dans les années à venir. L'organisation mondiale de la santé a estimé que le nombre de nouveaux cas de démence à 10 millions chaque année, avec une prédominance pour la maladie d'Alzheimer [World Health Organization . 2017].

Selon l'Organisation mondiale de la santé, plus de 55,2 millions de personnes dans le monde vivaient avec la maladie d'Alzheimer ; ce nombre devrait atteindre 78 millions en 2030 et 139 millions en 2050 [**Organisation mondiale de la santé, 2021 ; Nichols et al., 2022**].

D'après l'association d'Alzheimer's Disease International (2017), en tant qu'association militante pour les personnes touchées par MA, met en évidence l'impact de la maladie quel que soit le niveau de développement du pays avec 10.5 millions en Europe, 4 millions en Afrique, 22.9 millions en Asie et 9.4 millions de cas aux Etats Unis.

En effet, dans son dernier rapport l'organisation mondiale de la santé prévoit près de 152 millions de nouveaux cas diagnostiqués dementia dans le monde, dont les deux tiers relèveraient d'une maladie d'Alzheimer [**World Health Organization, 2019**]. Il y a une véritable nécessité de prendre des précautions avec l'analyse et la considération de ces chiffres [**Alzheimer Association, 2016**]. En effet, toutes les personnes vivant avec une maladie d'Alzheimer n'en sont pas informées et/ou le diagnostic n'est pas reconnu [**Alzheimer Association, 2019**].

Alors que le vieillissement de la population s'accompagne d'une augmentation du nombre de troubles neurocognitifs majeurs, plusieurs études font état d'une diminution de sa prévalence et/ou de son incidence en Europe, en particulier chez les femmes (**Grasset et al., 2016 ; Schrijvers et al., 2012; Wu et al., 2016**) , Plus en détails, 2/3 des américains touchés par la maladie seraient des femmes. Cette différence de genre s'expliquerait à la fois au niveau de l'espérance de vie, plus importante pour la femme (**INSERM, 2014**), et au niveau hormonal (**Bhardwaj et al., 2017**). La majorité des nouveaux cas tend à s'observer, ainsi que dans le monde, notamment aux Etats Unis (**Satizabal, Beiser, & Seshadri, 2016**). Bien que les facteurs contribuant à cette baisse ne soient pas parfaitement identifiés, une augmentation du niveau d'éducation et une meilleure prise en charge des facteurs cardio-vasculaires y ont probablement contribué (**F. E. Matthews et al., 2013 ; Pérès et al., 2017 ; Satizabal et al., 2016**). Ce n'est pas le cas des pays asiatiques, en particulier la Chine, dans lesquels une augmentation de la prévalence du trouble neurocognitif majeur a été constatée (**K. Y. Chan et al., 2013 ; Jia et al., 2020**).

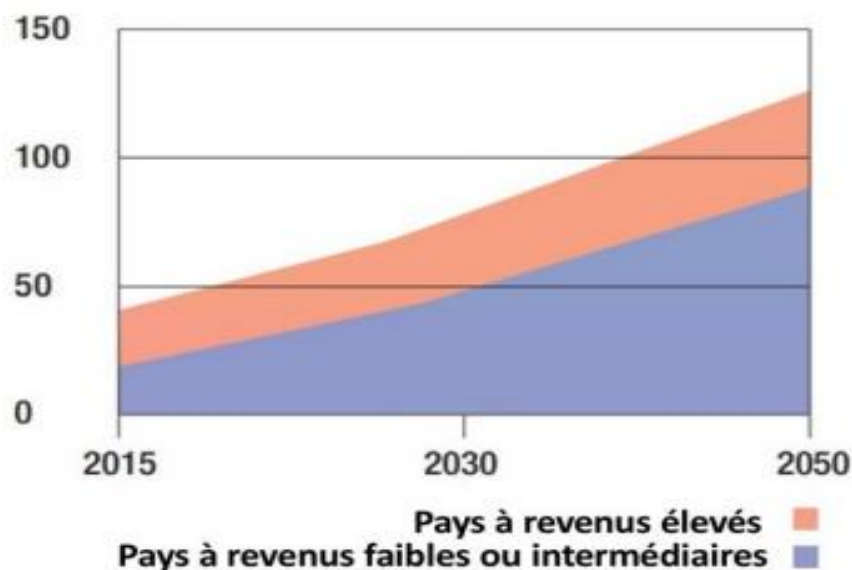
Nombre de personnes avec un trouble neurocognitif majeur (millions)

Figure 03 : Projection du nombre de personnes atteintes de trouble neurocognitif majeur dans le monde en 2050. D'après le World Alzheimer Report (2015).

I.4. Les formes de la maladie d'Alzheimer :

Les origines des formes de la MA sont différentes : des mutations génétiques pour la MA d'origine familiale et pour la MA sporadique plutôt des dysfonctionnements liés à l'âge, des facteurs de risques environnementaux ou encore des mutations génétiques. Ces causes vont mener ultimement à une dérégulation de l'homéostasie d'A β , entraînant une mort neuronale importante [Qiu et al., 2015] .

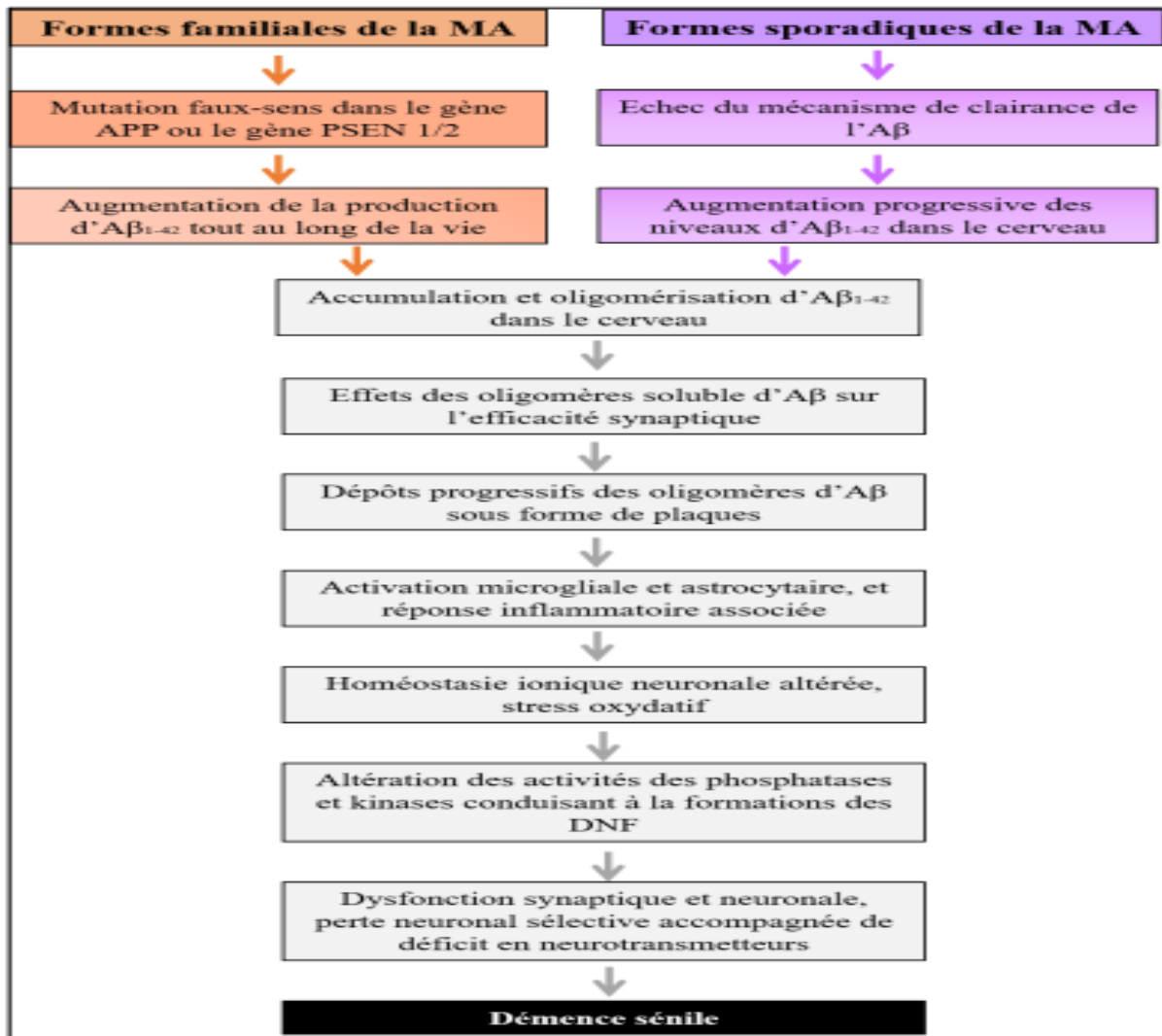


Figure 04 : La MA d'origine familiale et la MA d'origine sporadique et leurs causes sous-jacentes. [Selkoe, D.J., Hardy, J., 2016].

I.4.1.la forme sporadique

C'est la forme la plus commune qui concerne 95 à 99 % des patients. Celle-ci survient de façon spontanée, sans cause directe connue, généralement après l'âge de 65 ans ; âge à partir duquel le risque de développer une MA augmente d'années en années, et la fréquence augmente avec l'âge. Cette forme ne se transmet pas de génération en génération, mais peut être influencée par des facteurs de risque.

I.4.1.1. Facteur de risque

- l'âge
- le sexe féminin
- les antécédents familiaux de démence

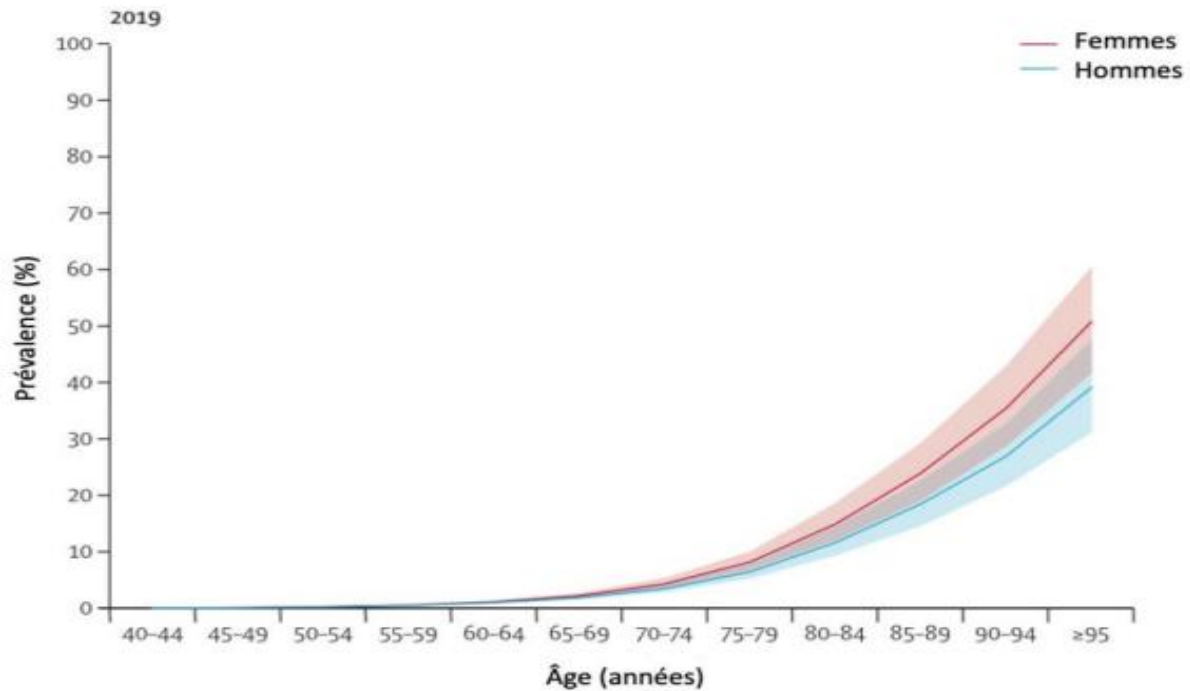


Figure 05 : Évolution de la prévalence en fonction de l'âge et du sexe. [Nichols et al., 2022].

I.4.1.2. Facteurs génétiques :

*l'allèle $\epsilon 4$ du gène codant pour l'ApoE (Ritchie and Lovestone, 2002).

* certains polymorphismes génétiques identifiés récemment par des études d'association pangénomique, (Reitz and Mayeux, 2014)

- les facteurs de risque cardiovasculaires (Solfrizzi et al., 2011)
- facteurs socio-économiques : bas niveau d'éducation (Sharp and Gatz, 2011)
- facteurs psychosociaux : dépression (Li et al., 2011)

I.4.2.la forme familiale

Elle concerne 1 à 5 % des patients. C'est une forme d'apparition précoce, avec un début avant 60 ans, souvent vers 40 - 50 ans. Les patients sont souvent encore en activité, les symptômes deviennent alors très gênants pour la poursuite de leur travail. Trois gènes différents ont été identifiés : le gène de la préséniline 1 (chromosome 14), le gène de la préséniline 2 (chromosome 1), et le gène codant pour la protéine APP, l'Amyloid Protein Precursor (chromosome 21).

Des mutations transmises selon un mode autosomique dominant ont été mises en évidence : si un des parents a le gène défectueux, cela suffit pour transmettre ce gène à l'enfant et permettre à la maladie d'Alzheimer de se manifester.

Les mutations de ces gènes conduisent de façon directe ou indirecte à une augmentation de la production de peptide β amyloïde. Celui-ci s'accumule dans le cerveau des patients sous formes de plaques, formant une des principales lésions de la maladie d'Alzheimer. Cette hypothèse physiopathologique concentre depuis vingt ans la majeure partie de la recherche de nouveaux traitements contre la maladie d'Alzheimer. [Guerreiro et al., 2012].

I.5. Neuropathologie de la maladie d'Alzheimer

I.5.1. Généralité

Le diagnostic définitif de la MA ne peut être posé avec certitude qu'après un examen cérébral post-mortem repose sur l'examen anatomo-pathologique du cerveau. Il révèle des lésions macroscopiques et microscopiques : atrophie cérébrale, plaques séniles et dégénérescences neurofibrillaires comme décrit pour la première fois par Alois Alzheimer en 1907 [Alzheimer et al., 1995]. Ces lésions caractéristiques de la MA sont généralement associées à de nombreuses autres lésions telles qu'une neuro-inflammation, un dysfonctionnement cholinergique, un stress oxydatif... Cependant, la contribution de chacune de ses lésions est différente, et le niveau de leur implication dans l'étiologie de la MA n'est pas clairement établi. [Iqbal, D et al., 2022]. Dans le cerveau d'une personne atteinte de la maladie d'Alzheimer, des plaques amyloïdes se forment et les protéines tau changent de forme et s'emmêlent.

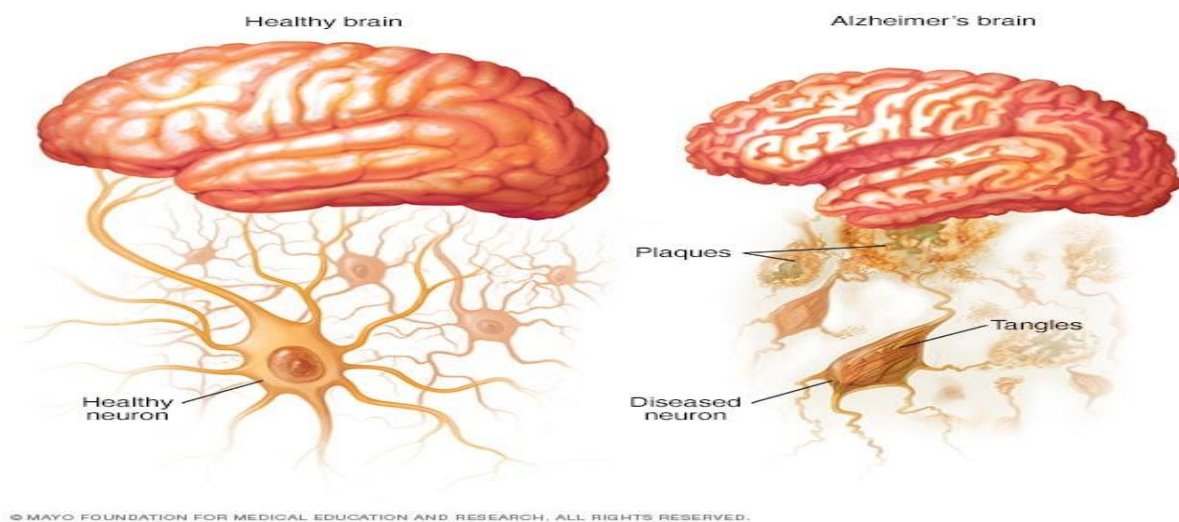


Figure 06 : Cerveau sain et cerveau atteint de la maladie d'Alzheimer (anonyme)

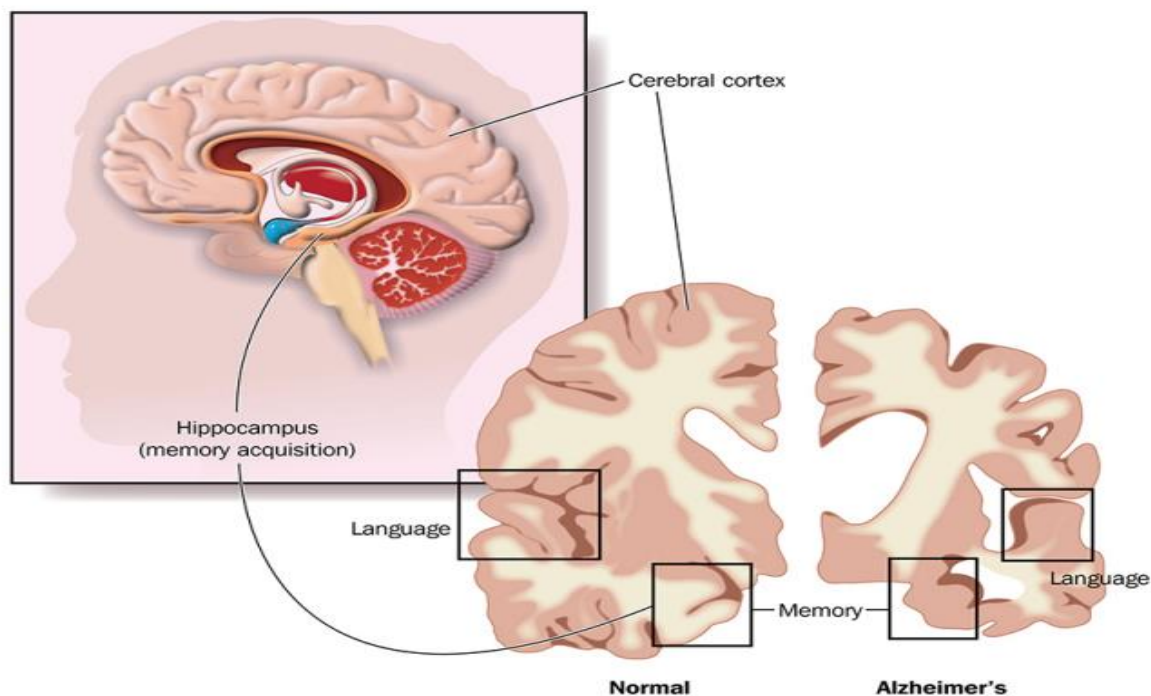


Figure 07 : Cerveau sain et cerveau atteint de la maladie d'Alzheimer (anonyme)

I.5.2. Les enchevêtrements neurofibrillaires de protéine Tau

La protéine Tau est une protéine du cytosquelette associée aux microtubules (MT). Elle est responsable de leur stabilité et de leur intégrité. En réponse à l'activité synaptique, la protéine Tau est dirigée vers la post-synapse pour participer à la régulation de l'activité synaptique [Franscovich *et al.*, 2014]. La phosphorylation physiologique de la protéine Tau induit son détachement des MT permettant le transport intracellulaire des organelles et vésicules sécrétoires [Pradeepkiran *et al.*, 2019].

Dans la maladie d'Alzheimer l'accumulation interneuronale d'agrégat de tau insoluble sous forme de filament sous-tendent la formation d'enchevêtrement neurofibrillaire [Wang and Mandelkow, 2016 ; Goedert and Spillantini, 2019], qui sont localisées dans les corps cellulaires des neurones et sont composées de Tau hyperphosphorylée insoluble. Cette hyperphosphorylation conduit à un défaut de transport axonal [Pradeepkiran *et al.*, 2019] ainsi que des défauts synaptiques [Hoover *et al.*, 2010] causant la neurodégénérescence [Husna Ibrahim *et al.*, 2020].

En principe, la protéine Tau peut être impliquée dans la pathogenèse des maladies neurodégénératives en trois manières : un processus pathologique peut soit bloquer une fonction de Tau critique (perte de fonction), changer Tau de manière à la transformer en effecteur ou

médiateur pathogène (gain de fonction), ou encore nécessiter la présence de Tau dans sa forme native pour provoquer un dysfonctionnement (habilitation) [Chang et al., 2021].

L'ensemble de ces observations suggère que la pathologie Tau contribue non seulement à la mort neuronale, mais aussi au développement de la neuroinflammation dans la MA [Naseri et al., 2019].

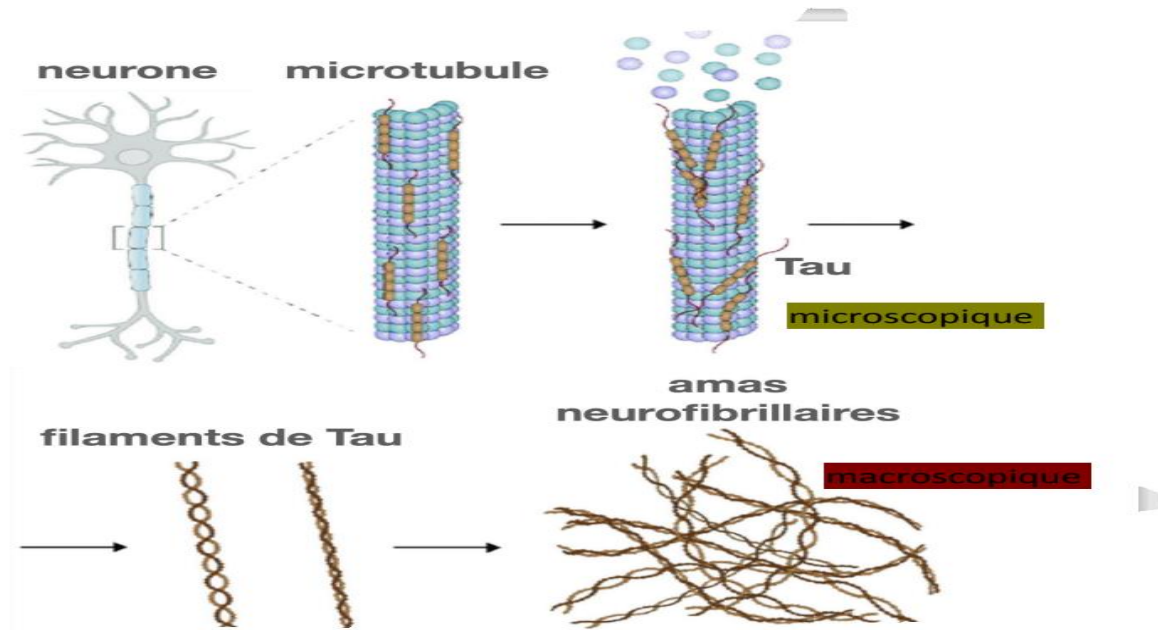


Figure 08 : Illustration schématique de l'agrégation des protéines dans les troubles amyloïdes. L'hyperphosphorylation des protéines Tau modifie leur affinité pour les microtubules qui vont se déstabiliser et altérer la configuration cyto-architecturale du neurone. Les protéines tau hyperphosphorylées vont alors s'accumuler sous forme de fibrilles dans différents compartiments des neurones dont le corps cellulaire où elles vont former les dégénérescences neurofibrillaires [de Paula et al., 2009].

I.5.3. Amyloïdes cérébrale

Les dépôts amyloïdes appelées également « plaques séniles, plaques amyloïdes » sont principalement constitués de peptides A β physiologiquement produits dans le cerveau [Seubert et al., 1992]. L'accumulation des plaques amyloïdes dans le cerveau peut résulter d'un déséquilibre altéré dans les voies de production et de clairance dans le cas de la MA sporadique, ou d'une surproduction d'A β due à des mutations génétiques dans la MA familiale (FAD) [Selkoe et Hardy, 2016].

Le clivage enzymatique d'APP (protéine précurseur de l'amyloïde ou amyloid precursor protein en anglais) est responsable de l'accumulation de dépôts amyloïdes à la fois au niveau intra et extracellulaire, [Dugger BN, Dickson DW.,2017]

Les peptides A β ayant la capacité de s'auto-agréger, se replient en structure de feuilles plissées bêta qui sont hautement fibrillogènes et s'agrègent pour former des oligomères, puis des filaments, va entraîner la formation des dépôts amyloïdes [Roze Muller et al., 1989].

Soit diffus soit plus denses qui sont associés à différents éléments : une couronne de neurites dystrophiques associés notamment à des amas de protéines tau et une inflammation locale Les plaques A β se déposent très tôt dans le déroulement de la maladie et touchent d'abord le néocortex avant de s'étendre aux autres régions du cerveau, ces plaques altèrent la trajectoire et perturbent les synapses environnantes [Spire-Jones, T. L., & Hyman, B. T.,2014].

Le clivage de l'APP s'effectue selon deux voies cataboliques :

- ❖ Une voie catabolique non amyloïdogénique, qui met en jeu l'enzyme α -sécrétase. Cette voie, qui est la plus fréquente, ne produit pas de peptide A β 42.
- ❖ Une voie catabolique amyloïdogénique, caractérisée par un clivage successif par l'enzyme β -sécrétase puis par la γ -sécrétase. Ce double clivage entraîne la production de peptides solubles A β .

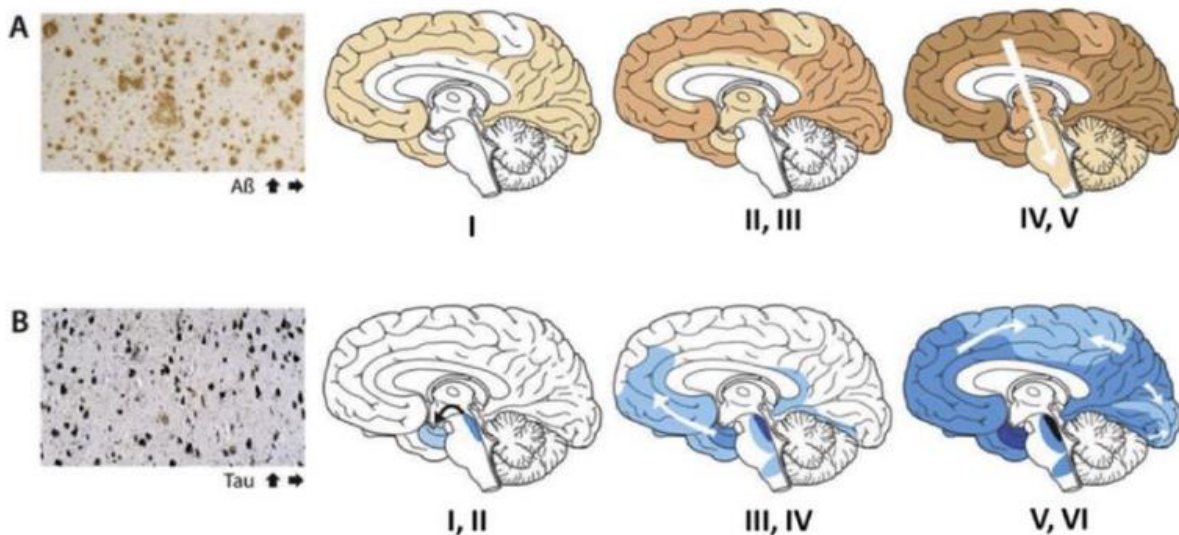


Figure 09 : Evolution spatio-temporelle des lésions selon Braak et Thal. A : Les plaques amyloïdes et la progression des dépôts amyloïdes ; B : Les dégénérescences neurofibrillaires et la progression de la pathologie Tau [Jouanne et al., 2017].

I.5.4. Atrophie cérébrale

L'atrophie cérébrale est la conséquence de l'atteinte synaptique et neuronale. S'accompagne d'une dilatation symétrique des ventricules cérébraux et d'un élargissement des sillons corticaux [Mattson, 2004]. Comparativement à un sujet sain du même âge, le poids du cerveau d'un patient atteint de maladie d'Alzheimer est diminué d'un tiers à l'examen anatomo-pathologique.

Une des conséquences macroscopiques caractéristiques de la MA est l'atrophie du cerveau, visible à l'IRM (Imagerie par résonance magnétique). Cette atrophie cérébrale globale est plus importante que celle observée lors du vieillissement normal. En effet, des études d'imagerie rapportent une baisse de 2% du volume cérébral par an chez les patients atteints de la MA contre 0.5% chez des sujets âgés sains [Resnick *et al.*, 2003 ; Evans *et al.*, 2010 ; Fox *et al.*, 1999]

I.5.5. Dysfonctionnement synaptique et morte neuronale

Vu que les causes majeures de la MA soient clairement identifiées, on commence à comprendre comment ces derniers affectent les fonctions neuronales et interfèrent avec les processus d'apprentissage et de mémoire. La structure des synapses et le trafic des vésicules synaptiques, ou encore certaines voies de signalisation impliquées dans la plasticité synaptique, semblent être altérés chez les patients atteints de la MA.

La théorie cholinergique soutient que la perte de neurones cholinergiques dans la MA entraîne un déficit d'acétylcholine (Ach) dans des régions spécifiques du cerveau qui perturbent profondément la mémoire et une altération irréversible de la fonction cognitive [Geromichalos, G. D. *et al.*, 2012].

La morte neuronale est à l'origine de l'atrophie observée dans la maladie d'Alzheimer. Elle intéresse en particulier le lobe temporal interne, notamment au niveau du cortex entorhinal, du champ CA1 de l'hippocampe et du subiculum [Bobinski *et al.*, 1997 ; Teresa Gómez-Isla *et al.*, 1996 ; West, Coleman, Flood, & Troncoso, 1994]. Elle intéresse également d'autres régions comme le cortex cingulaire postérieur et le lobule pariétal supérieur [Brun & Englund, 2002].

I.6. Les symptômes

Alzheimer c'est une maladie mortelle du cerveau engendre un déclin progressif de la mémoire de la pensée et des aptitudes au raisonnement , donc les symptômes de la maladie d'Alzheimer sont nombreux et l'évolution de cette maladie n'est pas standardisées [Alzheimer's Association .2023 ; Paquet, C. 2020] , et varie entre les personne mais de manière générale les troubles s'aggravent avec le temps [Verny M.2018 ; Ankri J. 2000 ; Peytavin J-L.2003] , au début de la maladie les lésion cérébrales évoluent mais les patients ne représentent pas des symptômes , le niveau cognitif d'une personne diminue progressivement à travers plusieurs étapes à un stade préclinique, où les symptômes ne sont pas apparu chez une personne visiblement, mais les changements cérébraux ont commencé [Karande, S., & Kulkarni, V. 2023] .

I.6.1. Trouble de mémoire

Les troubles de la mémoire sont majoritairement les premiers symptômes qui apparait et qui permettent d'évoquer le diagnostic de la maladie d'Alzheimer, ces symptômes sont le lien avec la présence des lésions au niveau de l'hippocampe, zone clé de la mémoire.

Il s'agit d'une amnésie antérograde avec l'incapacité à mémoriser de nouvelle information, et d'une amnésie rétrograde avec des difficultés à se remémorer les événements du passé, aussi une atteinte de la mémoire de travail, les patients peuvent avoir des difficultés à gérer les activités quotidiennes. Ces troubles vont impacter la vie professionnelle et sociale des patients.

I.6.2. Troubles cognitifs

I.6.2.1. Trouble de langage : aphasie

Correspond à la perte partielle ou totale de la capacité à communiquer

I.6.2.2. Trouble des gestes : apraxie

Les lésions ont atteint les lobes pariétaux, et correspond à l'impossibilité de réaliser des gestes sans qu'il y ait de trouble de moteurs ou articulaires ni de paralysie.

I.6.2.3. Trouble de la reconnaissance : agnoisie

Une personne atteinte de la maladie d'Alzheimer a des difficultés à reconnaître et à identifier des objets, la personne peut compenser par la touche ou l'ouïe pour identifier l'objet ou l'individu connu.

I.6.3. Trouble psycho-comportementaux

- Anxiété
- Dépression
- Trouble émotionnels
- Agressivité
- Agitation
- Délires
- Trouble de sommeil
- Trouble du comportement alimentaire
- Trouble sphinctériens

I.7. Les biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer de la maladie d'Alzheimer

Les biomarqueurs est défini par organisation mondiale de la santé comme toute « substance, structure ou processus qui peut être mesuré dans le corps ou ses produits et influence ou prédit une réponse » (**World Health Organization 2001**). Avant, la maladie d'Alzheimer n'était diagnostiquée avec certitude qu'après la mort lorsque l'examen du cerveau au microscope révélait des plaques et des enchevêtrements neurofibrillaires, et pour le diagnostic consiste à être en mesure d'expliquer les symptômes des patients avec l'aide de la famille proche ou d'un ami, les tests de mémoire et de capacité de réflexion aident également à diagnostiquer la maladie d'Alzheimer. Les biomarqueurs peuvent fournir une fenêtre sur les changements dans le cerveau et permettent de détecter le processus pathologique avant le début et le développement des symptômes cognitifs, ils peuvent également évaluer la progression de la maladie. Au stade symptomatique, la nature et sévérité des symptômes sont corrélées à la distribution et à la sévérité des lésions histologique [**Sperling, 2011**]. Dans le contexte de la maladie d'Alzheimer. On ne peut pas actuellement présenter les critères de MA sans prendre en considération le développement récent des biomarqueurs. Leur avènement a permis des progrès significatifs dans la compréhension de la construction lésionnelle dans le cerveau au cours du temps [**Tison, F. 2022**]. On peut classer les biomarqueurs de la MA en deux grandes catégories : ceux retrouvés dans le LCS et le sang, et ceux d'imagerie cérébrale. [**Tison, F. 2022**]. Les biomarqueurs actuels permis de mesurer les niveaux d'A β 1-40, A β 1-42 et de la protéine Tau et

des marqueurs de lésions axonales comme NfL et des indices de santé synaptique (neurogranine) ou gliale (YK140) [Alzheimer's dementia 2022] dans le liquide cébrospinal et le plasma (Ashton et al., 2020 ; Barthélemy et al., 2020 ; Palmqvist et al., 2020). Les études d'imagerie (IRM et TEP) complètent généralement ces analyses de biomarqueurs. Dans la maladie d'Alzheimer, ces biomarqueurs sont corrélés avec la progression de la maladie [La Joie et al., 2020 ; Leuzy et al., 2020 ; Chang et al., 2021].

I.7.1. Dans LCR

Le Protéine tau et amyloïdes sont les deux formes des protéines circulantes dans le liquide céphalorachidien et qu'ils reflètent la neuropathologie de la maladie d'Alzheimer [Hansson 2021]. Ces dosages sont des examens délicats réservés aux diagnostics difficiles à établir [Motter et al., 1995 ; Formichi et al., 2006 ; Anoop et al., 2010].

D'après une revue de la littérature met en évidence les associations entre les concentrations de plusieurs protéines d'intérêt et la maladie d'Alzheimer, les auteurs concluent que la concentration en protéine A β 42 est plus faible dans le cas de la maladie d'Alzheimer, l'utilisation du ratio des concentration en protéine A β 42/ A β 40 pourrait être un meilleur biomarqueur de la neuropathologie de type Alzheimer que la concentration en protéine A β 42 seul [Hansson et al., 2019]. Contrairement, les concentrations en protéine tau-totale (t-tau) et en protéine tau phosphorylée sont supérieures chez les maladies d'Alzheimer

Les trois marqueurs sont dosés dans ce contexte [Tison, F. 2022]

- A β 42, consiste le fragment d'A β de 42 acides aminés, dont la concentration est abaissée dans le LCS du fait du dépôt cortical d'amyloïde.
- La protéine tau totale dont la concentration est augmentée du fait de la perte neuronale corticale.
- La protéine tau phosphorylée dont la concentration est augmentée, ce qui reflète la formation des DNF.

I.7.2. Dans le sang

Les biomarqueurs sanguins ont récemment fait leur apparition dans le champ de la recherche sur la maladie d'Alzheimer, et représentent une avancée majeure. Les deux principales protéines plasmatiques étudiées actuellement sont les protéines P-tau181 et P-tau217

Le développement de biomarqueurs sanguins amyloïde et tau est en cours. Le dosage sanguin de la phospho-tau 217, en particulier, paraît prometteur et serait relativement spécifique de la maladie d'Alzheimer par rapport à d'autres types de démences, dans des cohortes de patients très bien caractérisés [Palmqvist, S et al., 2020].

I.7.3.IRM Morphologie

L'IRM encéphalique permet d'éliminer des diagnostics différentiels de MA. Elle permet d'avoir une estimation de l'atrophie corticale dans les régions atteintes par la MA telles que les structures temporales internes, notamment l'hippocampe, aussi les régions temporo-pariétales. Ces régions s'atrophient progressivement durant de la maladie, parallèle aux lésions de DNF. En recherche, des mesures automatisées sont disponibles pour étudier de manière précise la perte de volume cortical [Tison, F. 2022].

Les biomarqueurs et leur détection

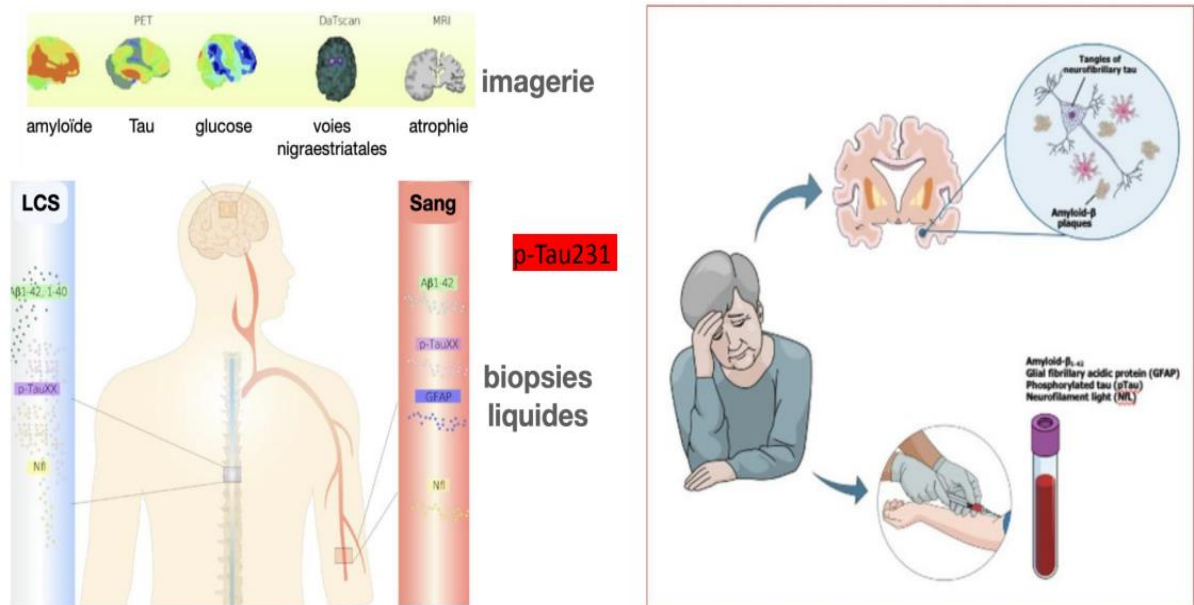


Figure 10 : les voies vers le diagnostic de la maladie d'Alzheimer [World Alzheimer Report 2021 ; Suárez-Calvet et al., 2020 ; Ashton et al., 2021].

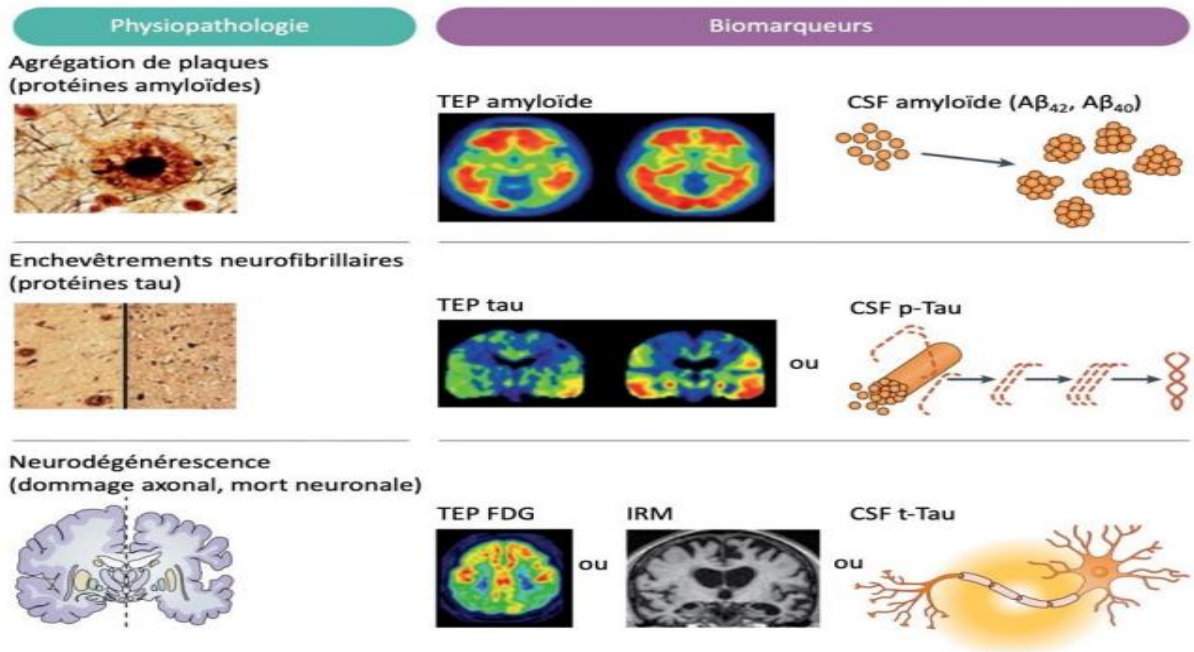


Figure 11 : Infographie résumant la nature et la physiopathologie ciblée des principaux biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer [Hampel et al., 2021].

I.8.les stades de la maladie d'Alzheimer

Les débuts de la maladie d'Alzheimer sont asymptomatiques. Cette phase pré-clinique est souvent longue et ne peut être diagnostiquée que par l'imagerie médicale et la biologie. Ensuite, elle évolue vers une forme prodromale, pré-démontielle, appelée en anglais Mild Cognitive Impairment (MCI) qui possède des signes cliniques présents mais discrets. Le stade avéré de la MA se caractérise quant à lui par une déficience cognitive importante.

La MA est ainsi classée selon 3 stades : faible ; modérée ; sévère

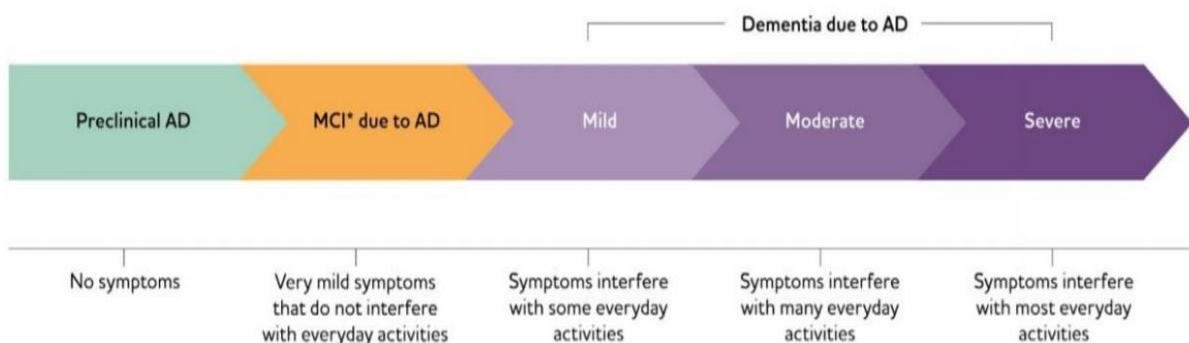


Figure 12 : Evolution de la maladie d'Alzheimer [Alzheimer's disease facts and figures .2020]

I.9. Facteurs de risque et de protection environnementaux

Le facteur le plus important du risque de la maladie d'Alzheimer c'est le facteur génétique, mais les facteurs environnementaux jouent aussi un rôle important (non négligeable). En effet, la part du risque de maladie d'Alzheimer attribuée à l'environnement est d'environ 40%. Le dernier rapport de la commission du Lancet sur la prévention contre les troubles neurocognitifs met en lumière la fraction attribuable dans la population aux douze principaux facteurs de risque modifiables de trouble neurocognitif majeur toutes causes confondues [Livingston et al., 2020]. Les facteurs de risques et protecteurs associés à la maladie d'Alzheimer [Zhang et al., 2021] sont détaillés sur (Figure12) .

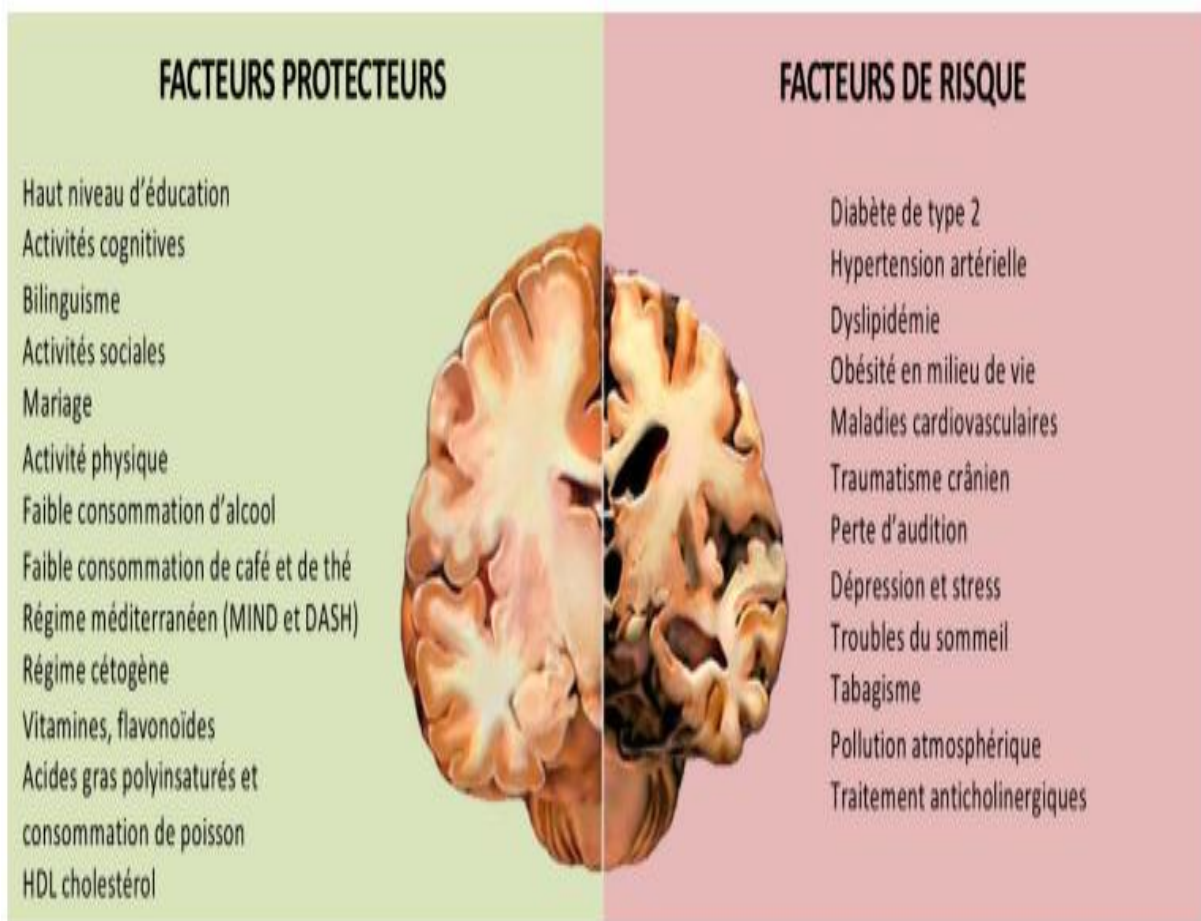


Figure 13 : Facteurs de risque et protecteurs potentiels de la maladie d'Alzheimer. MIND = Intervention du régime méditerranéen DASH pour le retard de neurodégénérescence, DASH = Approche diététique pour arrêter l'hypertension [Zhang et al., J Prev Alz Dis, 2021].

I.9.1. Les facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer

I.9.1.1. Le diabète

Le risque plus élevé d'atteinte de la maladie d'Alzheimer chez les diabétiques étaient basées sur 24 études [Xue, M *et al.*, 2019] cependant, l'interaction de A β avec le polypeptide amyloïde des îlots pancréatiques exacerbant la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer pourrait expliquer l'association moléculaire du diabète avec la MA [Moreno-Gonzalez, I *et al.*, 2017].

I.9.1.2. Hypertension au milieu de la vie

L'hypertension en milieux de la vie et qui persiste après 65 ans c'est parmi les causes qui augmente le risque de la maladie d'Alzheimer avec un pourcentage de 20% [McGrath, E. R *et al.*, 2017], la variation excessive de la pression artérielle pourrait être partiellement responsable de la détérioration de la MA [Larsson, S. C., & Markus, H. S. 2018].

I.9.2. Les facteurs protectifs de la maladie d'Alzheimer

I.9.2.1. Le niveau d'éducation

représente le facteur de protection le plus important de la maladie d'Alzheimer [Livingston *et al.*, 2020; Norton *et al.*, 2014 ; Satizabal *et al.*, 2016], La formation continue des adultes (l'éducation à long terme) pourrait bénéficier au traitement du langage et aux capacité intellectuelle [Matyas, N *et al.*, 2019], pourrait également avoir des influences favorables sur le volume total du cerveau, [Wada, M *et al.*, 2018], L'éducation permet de réduire le risque de la maladie et de retarder le début des symptômes [Andrews *et al.*, 2021], Environ 7% des troubles neurocognitifs majeurs sont liés à un faible niveau d'éducation après ajustement pour tous les autres facteurs de risque [Livingston *et al.*, 2020]. Ces relations causales devraient être profondément délimitées dans les études futures [Zhang *et al.*, J Prev Alz Dis, 2021].

I.9.2.2. Activité cognitive

Les engagements actifs dans l'activité cognitive étaient susceptibles d'avoir une réduction de 46% du risque de MA dans l'étude suédoise [Najar, J *et al.*, 2019]. La relation entre les activités cognitives et la réduction du risque de maladie d'Alzheimer semble être en grande partie indépendante du développement des lésions neuropathologies de la maladie [Bennett, D. A *et al.*, 2014 ; Wilson, R. S *et al.*, 2013 ; Xu, H *et al.*, 2019]. Pourrait améliorer l'efficacité neuronale [Grady CL *et al.*, 2015], qui participe à la préservation des fonctions cognitives en présence des lésions neuropathologies [Stern *et al.*, 2006].

I.9.2.3. Les activités sociales

Les activités sociales diminuent le risque de la maladie d'Alzheimer bien que cet effet soit modeste [Saito, T et al., 2018 ; Sommerlad , A et al.,2019], En effet, les activités culturelles communautaires pourraient également conférer des avantages à l'ensemble de la fonction cognitive [Fancourt, et al ., 2020]. En particulier l'engagements sociaux pourraient exercer la mémoire et le langage, ce qui pourrait augmenter davantage la réserve cognitive [Sommerlad, A et al., 2019].

I.9.2.4. Les activités physiques

Une étude japonaise a trouvé que la participation à des activités physiques quotidienne diminué d'environ la moitié du risque de la maladie d'Alzheimer [Kishimoto, H et al.,2016]. Les avantages cognitifs des exercices physiques et de l'intervention chorégraphique pourraient retarder le processus neurodégénératif [Broadhouse, K. M et al.,2020 ; Bisbe, M et al., 2020]. Cependant, dans l'étude Whitehall II a trouvé que les activités physiques semblaient n'avoir aucun effet protecteur des activité physiques sur le risque de la maladie d'Alzheimer, en d'autres termes, la causalité inverse pourrait expliquer la relation entre l'exercice actif et la réduction du risque de MA, autrement dit la diminution de l'activité physique pourrait être un prodrome de la maladie [Sabia et al., 2017].

I.9.2.5. Régime alimentaire

le régime méditerranéen , le régime DASH (Approches diététiques pour arrêter l'hypertension) et le régime MIND (Intervention méditerranéenne DASH pour le retard neurodégénératif) sont les trois régime alimentaire qui peuvent diminué le risque de la maladie d'Alzheimer [Morris, M. C et al., 2015] , une autre étude française sur 3 cités a montré que les habitudes alimentaires des gens ayant développé un trouble neurocognitif majeur était peu variées et centrées sur la consommation de charcuterie boissons alcoolisées et snacks, tandis que celles des gens n'ayant pas développé de trouble neurocognitif majeur étaient un régime alimentaire plus diversifié comprenant des légumes, des fruits frais et des fruits de mer [Samieri, C et al ., 2020], qui pourrait protéger contre le risque de développer une MA [Zhang, Y et al .,2015].

I.9.2.6. La consommation du Café et thé :

La consommation de café (1-2 tasses /jour) et de thé pourrait réduire le risque de la maladie d'Alzheimer à 18% [Wu, L et al ., 2017] , la caféine et la L-théanine les deux composants neuroprotecteur qui peuvent exister dans la consommation de café et de thé vert [Mancini, E., 2017] les effets anti-amyloïdes du thé vert pourraient protéger contre la MA , y compris l'inhibition de l'agrégation A β et la réduction du stress oxydative [Polito, C. A., Cai, Z. Y.,2018], Une consommation modérée de café et une consommation de thé vert devraient être encouragées auprès du public [Zhang et al., 2016 ; J Prev Alz Dis, 2021].

Chapitre II
Traitement et la
maladie d'Alzheimer

II.1. Généralité

Il n'existe à ce jour aucun traitement curatif qui permette de guérir la maladie, et à l'heure actuelle, il y a un manque des médicaments modificateurs ou de remède complète de la MA [Iqbal, D. et al 2021]. Les médicaments qui sont utilisées actuellement permettent d'atténuer les symptômes en augmentant la quantité de neurotransmetteurs dans le cerveau. [Chan AW et al., 2013]. Il s'agit des médicaments à visée symptomatique qui ne modifient pas l'évolution de la maladie. Et leur efficacité reste modeste et temporaire, elle a été scientifiquement établie. Seules quatre molécules sont actuellement disponibles [Vincent-Bugnas, S et al., 2013], leur thérapeutique concentre sur deux familles de traitements : les anticholinestérasique et les anti glutamatergiques [Ferreira-Vieira TH et al.,2016 ; Wang R et al., 2017]

Trois d'entre elles agissent comme des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Ce sont le Donépézil, la Rivastigmine et la Galantamine. Elles sont utilisées dans la plupart des cas. La Memantine est un anti glutamate (antagoniste des récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA)). Cette classe thérapeutique a montré des résultats contradictoires sur les symptômes de la MA. [Von Elm E et al., 2014]

II.2. Anticholinestérasiques :

L'acétylcholine est un neurotransmetteur présent au niveau du système nerveux central et périphérique. Elle est retrouvée dans la fente synaptique et est dégradée par l'acétylcholinestérase, qui hydrolyse l'acétylcholine en choline et acide acétique. Une partie de la choline est recyclée et captée par la terminaison présynaptique

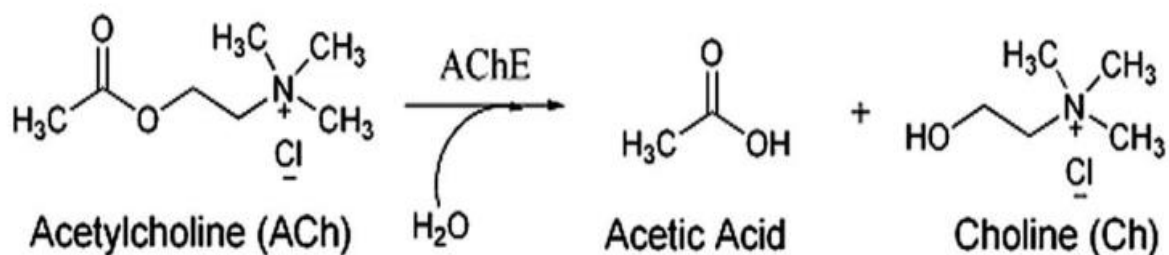


Figure 14 : Dégradation de l'acétylcholine par l'acétylcholinestérase

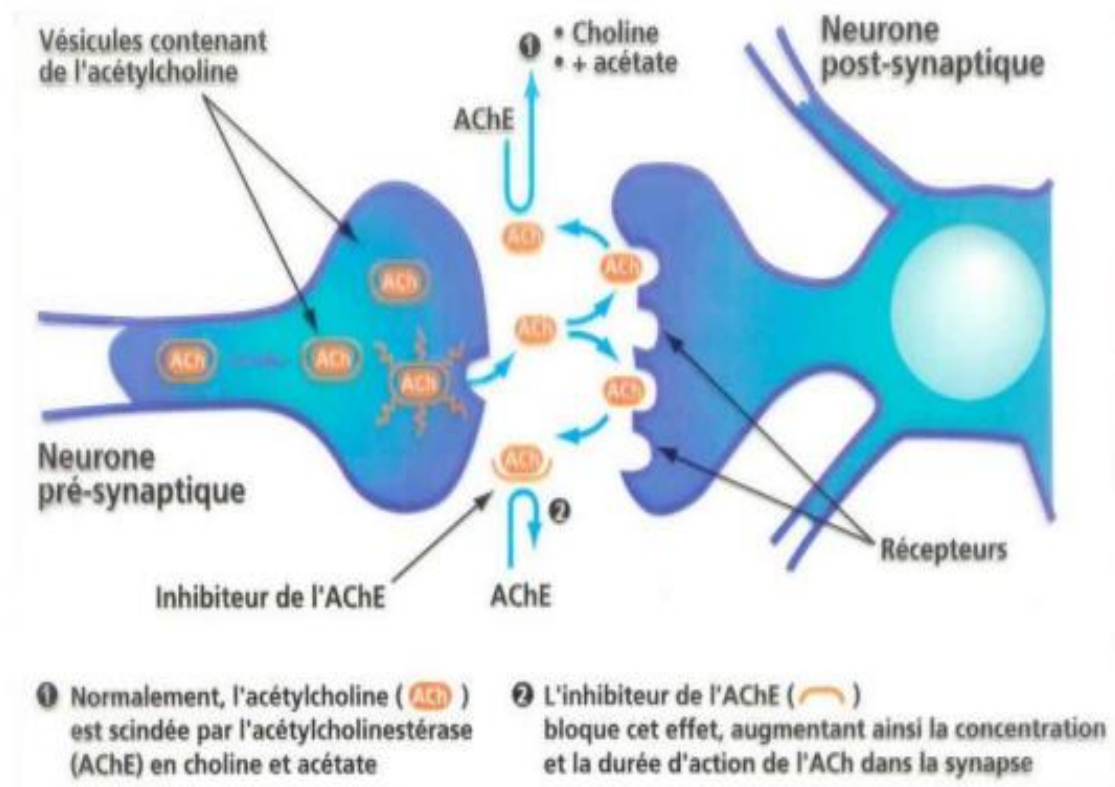


Figure 15 : Potentialisation de la transmission cholinergique par les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase [Véronique M. 2021].

Les trois traitements de la maladie d'Alzheimer sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, donc ces médicaments augmentent la concentration d'acétylcholine au niveau de la synapse en bloquant l'acétylcholinestérase ce dernier est la voie thérapeutique la plus efficace pour soulager temporairement les symptômes de la maladie d'Alzheimer [Samadi, A et al., 2012. Larik, F. A et al., 2020]. Chez les patients de la maladie d'Alzheimer cette transmission est nettement diminuée.

Les anticholinestérasiques sont utilisés dans les formes légères à modérées de la maladie d'Alzheimer.

II.2.1. Donépézil (Aricept®) :

Le Donépézil va inhiber de manière spécifique et réversible l'acétylcholinestérase. [Okamura et al., 2008]

II.2.2. Rivastigmine (Exelon®)

La rivastigmine va former un complexe avec l'acétylcholinestérase, ce qui aura pour action d'inhiber transitoirement l'enzyme. Il y aura plus d'acétylcholine disponible pour combler le

déficit cholinergique que l'on retrouve dans le cas de la maladie d'Alzheimer. [Darreh-Shori, Jelic. 2010]

II.2.3. Galantamine (Reminyl®)

La galantamine a une double action : elle inhibe spécifiquement et de manière réversible l'acétylcholinestérase et augmente l'activité de l'acétylcholine sur les récepteurs nicotiniques au niveau des synapses. [Heinrich M, Lee Teoh H 2004 ; Parsons et al.,2013]

II.3. Antiglutamatergique :

II.3.1. Mémantine (Ebixa®)

Le glutamate est un neurotransmetteur qui est notamment associé à l'apprentissage et à la mémoire. On le retrouve lors du processus de mémorisation associée aux récepteurs NMDA. Cependant, à forte concentration, le glutamate a un effet neurotoxique et va provoquer la mort neuronale par excitotoxicité. [Wang R, Reddy PH. 2017. Oliet S.HR, Papouin T. 2013]

La mémantine est utilisée dans les formes modérées à sévères de maladie d'Alzheimer. C'est le seul médicament utilisable au stade sévère.

II.4. Déremboursement des traitements médicamenteux de la maladie d'Alzheimer

La Revue Prescrire a inscrit la rivastigmine, la galantamine, le donépézil et la mémantine sur son "bilan 2021 des médicaments à écarter pour mieux soigner" au vu du peu d'efficacité, du fort risque d'interaction et de leurs nombreux effets indésirables [Revue Prescrire. Médicaments à écarter 2021].

Depuis 2016, la Haute Autorité de Santé (HAS) a procédé au déremboursement des médicaments « anti-Alzheimer ». Selon la HAS, la balance bénéfice/risque/coût n'était pas en faveur du remboursement par la collectivité de ces médicaments. Les patients se voyaient exposés à des effets indésirables jugés trop importants au vu de l'efficacité moyenne des traitements pour justifier une prise en charge par la sécurité sociale. [Haute Autorité de Santé 2017 ; Légifrance. Arrêté du 29 mai 2018]

Dans la pratique, la Haute Autorité de Santé ne recommande plus l'utilisation de ces traitements dans la prise en charge de la maladie d'Alzheimer. [Haute Autorité de Santé 2016]. De plus, les traitements disponibles ont été déremboursés et il s'agit uniquement de traitements symptomatiques qui ne ralentissent pas la progression de la maladie. Nous sommes donc en

droit de nous demander quelles sont les perspectives de traitement ? Qu'en est-il de la recherche ? Et quelle est la place des moyens non médicamenteux et des médecines complémentaires ?

-Du fait de l'invalidité entraînée par cette pathologie et des coûts qu'elle engendre, Il existe une réelle urgence à trouver des solutions pour soigner ou ralentir les différents types de démences. En effet et d'ici 2030, les dépenses inhérentes à leur prise en charge représenteront le PIB des Pays-Bas ou de l'Arabie Saoudite, soit 2 billions de dollars américains [Bjornevik, K et al., 2022].

II.5. Perspectives de traitements de la maladie d'Alzheimer

II.5.1. Cibler le peptide bêta-amyloïde :

Les nouvelles perspectives de traitement de la MA ciblent l'amyloïde basent sur trois stratégies thérapeutiques [Folch et al., 2018], elles visent à :

➤ Augmenter la dégradation d'A β (les plaques séniles)

L'immunothérapie active (vaccin) porte l'utilisation des anticorps dirigés contre la plaque amyloïde susceptible. Ce traitement a montré une excellente innocuité et a provoqué une réponse immunitaire significative caractérisée par une augmentation des taux d'anticorps anti-A β 40, toutes fois, les critères d'évaluation exploratoires secondaires de l'efficacité sont toujours à l'étude [Se Thoe et al., 2021 ; Song et al., 2022].

L'immunothérapie passive basés sur l'utilisation des anticorps monoclonaux humanisés anti-amyloïdes. Ce thérapeutique est aujourd'hui testé à des stades paucisymptomatiques [Salloway et al., 2009 ; Crehan et al., 2020 ; Lachno et al., 2015].

Actuellement FDA évalue le donanemab, est un anticorps qui ciblent A β (p3-42) , la forme pyroglutamate d' A β , après avoir considérablement ralenti la progression du déclin cognitif chez les patients atteints de MA très légère à légère, la FDA examine le lécanemab, un anticorps se liant aux protofibrilles A β solubles, en vue d'une approbation accélérée [Se Thoe et al., 2021; Song et al., 2022] .

➤ Prévenir l'agrégation d'A β :

Les GAG-mimétique et les chélateurs de métaux tels que le zinc ou le cuivre dirigés spécifiquement sur les formes tronquée d'A β et favorisent en effet l'agrégation d'A β . Par exemple, les dérivés de la coumarine ont un fort impact sur l'agrégation d'A β et sur la MAO-B qui module la γ -sécrétase. [Van Horsen et al., 2003 ; Ritchie et al., 2003 ; Benek et al.,

2018], les études sur ces molécules soient toujours en cours, la majorité ont été interrompues en raison de leur efficacité ou de leur toxicité [Panza et al., 2019 ; Vaz et Silvestre , 2020].

➤ **Diminuer la production d'A β :**

Soit en stimulant l' α -sécrétase, pour orienter le métabolisme de l'APP vers la voie Physiologique non amyloïdogène. Soit en inhibant la β -sécrétase (BACE 1) ou la γ -sécrétase. L'inhibition de la γ -sécrétase, qui est un complexe protéique, comporte un risque d'altération d'autres fonctions Physiologiques indispensables telles que la voie Notch, impliquée dans la différenciation cellulaire [Hull et al., 2006 ; Vaz and Silvestre, 2020].

II.5.2. Cibler la protéine tau :

La stratégie de l'immunisation passive concentre sur injecte au patient des anticorps monoclonaux qui vont cibler les agrégats de protéine tau, [Jadhav et al., 2019].

La deuxième stratégie dite de l'immunisation active il s'agit du principe de la vaccination, concentre sur l'injection une partie de la protéine tau hyperphosphorylée qui va déclencher une réaction immunitaire chez les patients

Deux candidats médicaments sont à l'étude (AAD-VAC 1 et ACI-35.030). [Alzforum. AADvac1. 2021 ; Alzforum. ACI-35. 2021]. Il faut toutefois rester vigilant car des essais d'immunisation active ont déjà été menés avec le peptide bêta-amyloïde et il y a eu de graves effets indésirables comme l'apparition de méningoencéphalites [Gilman S et al.,2005].

II.6. Médecine complémentaires et prise en charge non médicamenteuse des troubles de la mémoire :

II.6.1. Conseils hygiéno-diététiques :

II.6.1.1. Alimentation :

L'alimentation de la personne âgée est un important sujet à considérer, notamment si l'individu est atteint de la maladie d'Alzheimer. Il existe des aliments dits « anti-Alzheimer » qui permet d'apporter des éléments spécifiques dont le cerveau a besoin pour bien fonctionner et donc pour bien mémoriser.

❖ Glucose

Le cerveau a besoin de glucose pour fonctionner correctement. Il consomme à peu près 100 mg par minute, soit 144 g par jour. On les retrouve dans les sucres lents que sont le riz, les pâtes ou

la pomme de terre [Bour H, Dérot M 1974]. Il est important que tous les repas contiennent les sucres lents, surtout le dîner, car la mémorisation a lieu pendant le sommeil.

❖ Oméga 3

Les oméga 3 sont des acides gras bénéfiques, qui rentrent dans la structure des cellules et permettent la cohésion de la bicouche lipidique. La consommation de poisson est associée à de meilleure performance cognitive chez les personnes âgées [Nurk E et al., 2007], Une consommation hebdomadaire de poisson gras, et donc d'oméga 3, diminuée jusqu'à 60% le risque de développer la maladie d'Alzheimer. [Morris MC et al., 2003]. Les oméga 3 sont ainsi souvent retrouvés dans les compléments alimentaires conseillés lorsqu'une plainte mnésique est évoquée. Les oméga 3 sont également retrouvés en grande quantité dans les fruits secs oléagineux, dont la noix. Elle ressemble au cerveau Ainsi, consommer des noix permettrait d'améliorer les performances cognitives et la mémoire. Et d'après la théorie des signatures, les aliments sont bénéfiques aux parties du corps qui leur rassemblent [Morris MC et al., 2003].



Figure 16 : Théorie des signatures [Elideo Sillaro. 2016].

❖ Les acides aminés essentiels

Sont au nombre de huit, il s'agit de l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, le tryptophane et la valine, ils doivent être apportés par l'alimentation car correspondant à des acides aminés non produits par l'organisme, ils permettent notamment de synthétiser l'acétylcholine, ces acides aminés retrouvés dans les protéines (viande, poisson, œufs) et les produits laitiers [Bour H, Dérot M 1974].

❖ Vitamines

Les vitamines font partie intégrante de l'alimentation, ont un rôle indispensable pour et cerveau et aussi l'organisme [Bour H, Dérot M 1974] il s'agit :

-la vitamine **B1** a une action inhibitrice de l'acétylcholinestérase. Les aliments riches en B1 sont les lentilles ou le foie

-les aliments les plus importantes de vitamines B2 sont les œufs, le lait et les abats

-pour la vitamine **B6** favorise la production d'acétylcholine et la principale source de cette vitamine est les abats.

La carence en vitamine **B9** provoque une diminution des performance cognitives, notamment de la mémoire, les abats, les asperges, les carottes et le chou en sont les principales sources.

-la vitamines **C** est antioxydante, essentielle. Potentialiser l'absorption du fer, elle abande dans les légumes frais et les fruits : les agrumes, les fraises, le persil, les épinards, etc. .

La vitamine E protège des vieillissements, aussi antioxydante, et majoritairement retrouvée dans les huiles végétales.

❖ **Minéraux**

Pour une fonctionnement efficace le cerveau a besoin de minéraux [**Bour H, Dérot M 1974**], telle que le phosphore qui permet la production d'acétylcholine, neurotransmetteur indispensable et déficitaire dans la maladie d'Alzheimer, le phosphore est présent en abondance dans les laitages

Ainsi que le fer on le trouve principalement dans la viande rouge, les abats et les lentilles. Le fer est un transporteur optimal d'oxygène via les globules rouge

Les boissons ne sont pas à négliger. Une étude a été montré que la prise régulière de caféine chez la souris réduit la formation de protéine tau hyperphosphorylée et de peptide bêta-amyloïde, que l'on retrouve dans la maladie d'Alzheimer [**Laurent, C et al., 2014 ; Faivre, E et al.,2018**].

II.6.2. La phytothérapie

II.6.2.1. Ginkgo :

Le Ginkgo (*Ginkgo biloba* L.) est aussi appelé « arbre aux quarante écus » Il appartient à la famille des Ginkgoacées, est originaire d'Asie, mais est retrouvé dans nombreux pays il se retrouve en deux couleur vert foncé à jaune doré en automne. [Barnes et al., 2017 ; Bruneton 2016 ; Ghedira et al.,2012].

La feuille du Ginkgo est inscrite à la pharmacopée européenne et française [ANSM. 2021], elle contient plusieurs composés chimiques sont intéressants du point de vue pharmacologique Sont retrouvés des flavonoïdes, des terpènes (sesquiterpéniques, diterpènes) et des acides ginkgoliques. [Barnes et al., 2017].

A des actions antioxydante et antiradicalaire grâce aux flavonoïdes, les ginkgolides inhibent le facteur d'activation plaquettaire (FAP), impliqué dans l'agrégation plaquettaire, la bronchoconstriction et les réactions inflammatoires. Le Ginkgo permettrait de protéger les neurones du peptide bêta-amyloïdes. [Bruneton , 2016 ; Ghedira et al., 2012].



Figure 17 : Ginkgo biloba [Jardiland. 2023]

II.6.2.2. Thé vert

Le thé vert (*Camellia sinensis* L.) appartient à la famille des théacées, originaire de Chine.

La feuille de thé vert est inscrite à la pharmacopée européenne et française. (**Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Pharmacopée Française (ASNM) .2021 ; European Medicines Agency (EMA). Community herbal monograph on *Camellia sinensis*. 2013**].

La feuille jeune non fermentée est rapidement dessiqué à chaud qui est utilisée, elle contient au minimum 2% de caféine.

La feuille jeune non fermentée contient principalement des acides aminés (Surtout le théanine), des oligoéléments (dont du fluor) et les vitamines (groupe B, C, E, K), des bases puriques, plus particulièrement la caféine, et en moindre quantité la théophylline le thé vert est également riche en polyphénols antioxydant, dont des tanins et des flavonoïdes (catéchines). [**Bruneton J, 2016**].

Le thé vert a un effet relaxant et permet de réduire le stress. Elle contre balance l'effet de la caféine, qui agit sur le système nerveux central. [**Nobre et al., 2008 ; Kriepps 2009**]. Il est fortement conseillé de prendre le thé vert en dehors de repas.



Figure 18 : *Camellia sinensis* [anonyme]

II.6.2.3. Huperzia

L'huperzia (*Huperzia serrata*) c'est une plante retrouvée tout particulièrement en Chine et elle est très utilisée en Asie et aux États-Unis, elle appartient à la famille des huperziacées [Epharmacognosy. 2021 ; Barker. 2019].

Huperzia la plante entièrement est récoltée pour son usage médicinal. Elle contient des triterpènes, des flavonoïdes et des alcaloïdes (huperzine A/B, lycopodinée), c'est un inhibiteur réversible de l'acétylcholinestérase, augmente ainsi la quantité d'acétylcholine, à partir de ça on comprend l'intérêt de cette molécule dans la prise en charge de la maladie d'Alzheimer.



Figure 19 : *Huperzia serrata* [Epharmacognosy. 2021]

II.6.2.4. Curcuma longa

La curcumine est un composé polyphénolique naturel présent dans le rhizome de *Curcuma longa* appartenant à la famille des zingibéracées. Divers effets de la curcumine ont été élucidés, comme antioxydant, anti-inflammatoire, chélation des métaux, diminution des plaques β -amyloïdes, Ab oligomérisation, phosphorylation de P. tau [Hamaguchi et al., 2010 ; Mishra et Palanivelu, 2008]

La curcumine possède un effet d'atténuation des dommages oxydatifs tels que la perte neuronale dopaminergique, et soulage la dysfonction motrice [Cui et al., 2016] des effets neuroprotecteurs directs sur les cellules hippocampiques [Lee et al., 2016] protège les cellules neuronales contre les dommages neuronaux hippocampiques [Wang et al., 2017].

Dans les maladies neuroinflammatoires, le récepteur TLR-4 est modulé par la curcumine qui exerce un effet neuroprotecteur agissant directement sur le récepteur ou sur son aval sentier. Ceci peut être davantage exploité pour concevoir de futures stratégies thérapeutiques des maladies neuroinflammatoires [Maria Antonietta et al., 2020].



Figure 20 : Curcuma longa [Sharma, 2001]

Chapitre III :
Passiflora edulis



III.1. Généralité

Passiflora edulis (*P. edulis*), ou fruit de la passion est une vigne du genre *Passiflora* de la famille des Passifloraceae [Song et al., 2022], est originaire d'Amérique du Sud, et largement cultivé dans les régions tropicales et subtropicales du monde entier en Asie de l'Est, en Asie du Sud et en Nouvelle-Guinée [Ulmer et al. 2004 ; Ortiz et al., 2011].

Le genre *Passiflora*, comprenant environ 520 espèces, est le plus important de la famille des Passifloraceae [Arbonnier, 2000 ; Wohlmuth et al., 2010].

La plante de passiflore en pulpe, pelure, graines et écorce, chaque partie de la plante a des constituants et des avantages pour la santé. L'extrait de la partie comestible aurait des effets protecteurs contre les maladies alcooliques du foie [Zhang et al. 2016]. De plus, l'extrait de feuille a montré une variété de fonctions physiologiques, telles que le fait d'être anti-inflammatoire [Urrego et al., 2021], assurer la protection de l'intestin [do Carmo et al., 2020], et ayant des effets cicatrisants [Soares et al., 2020] antiplaquettaires [Salles et al., 2020] et antidépresseurs [Alves et al., 2020]. Il a également été évalué dans des études animales pour son innocuité lorsqu'il est administré [Devaki et al., 2012]. La peau de *P. edulis* est riche en fibres alimentaires et en composants fonctionnels, et divers effets physiologiques de l'extrait de peeling de *P. edulis* ont été signalés, tels que des effets anti hypotenseurs [Cabral et al., 2021], des effets hypoglycémisants [Guan et al., 2021 ; Goss et al., 2018] et une amélioration métabolique [Vuolo et al. 2020 ; De Faveri et al., 2020]. De plus, l'écorce de *P. edulis* aurait des propriétés anti-obésité [Panelli et al., 2018].

La pulpe, le péricarpe et les graines du fruit de la passion sont une source de contenus phytochimiques tels que les polyphénols, les triterpénoïdes, les glycosides, les caroténoïdes, les polysaccharides, les huiles aromatiques et les nutriments essentiels [Aguillón-Osma et al., 2019 ; Leão et al. 2014]. Le fruit de *Passiflora edulis* (fruit de la passion) est aussi riche en protéines, sucres, vitamines, acides aminés et autres nutriments. [Li et al., 2021 ; Oluoch et al., 2018].

La peau de fruit de la passion est épaisse et dure, représentant presque la moitié du poids du fruit entier, et elle est utilisée parfois comme un aliment pour les animaux ou pour l'extraction de la pectine. [Teng et al., 2022]. Il est important de noter que la peau contient des acides aminés abondants, des polyphénols, des flavonoïdes, des vitamines, etc. [Li et al., 2021 ; Yepes et al., 2021].

Des études pharmacologiques ont identifié les bio activités des fruits de la passion, y compris les effets antioxydants, anti-inflammatoires, antidiabétiques et potentiellement hépato protectifs [de Albuquerque et al., 2019 ; Tal et al., 2016]. Dont plus de 60 espèces comestibles [Costa et al., 2012]. Aujourd'hui, le fruit de la passion est cultivé en dehors de son aire de répartition naturelle pour ses belles fleurs, ses fruits délicieux et sa valeur médicinale [Martin et Nakasone, 1970 ; Garcia-Ruiz et al., 2017]. De plus, il a été rapporté que les extraits de fruits de la passion agissent comme un modulateur du système glutamatergique, ce qui favorise davantage les activités neuroprotectrices [Dos Santos et al., 2016 ; Doungue et al., 2018].

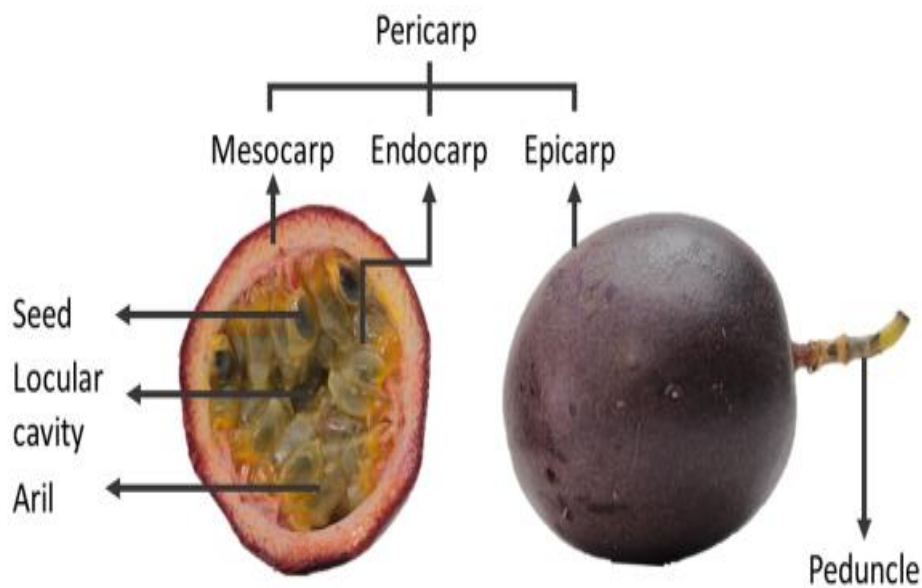


Figure 21 : Morphologie du fruit de la passion pourpre *Passiflora edulis* f. *edulis*. [Fonseca, A. M et al., 2022].

III.2. Origine et la distribution

La production mondiale de fruits de la *Passiflora edulis* (fruit de passion) était estimée à 1,5 million de tonnes entre 2015 et 2017 [FAO 2018] Le Brésil est le principal producteur de ce fruit représente environ 65% de production mondiale [FAO, 2018], atteignant 690,4 mille tonnes en 2020 [IBGE 2021]. Il est un fruit aigre qui est fendu et la pulpe à l'intérieur est consommée crue avec les graines, ce fruit est largement utilisé non seulement pour manger cru, mais aussi pour fabriquer des jus et des concentrés [Silva et al., 2021]. Le fruit de la passion est un fruit attrayant et nutritif qui est très apprécié pour ses diverses utilisations, telles que les jus, les gelées et les produits de crème glacée, pour la consommation fraîche et à usage industriel [Thokchom & Mandal. 2017]. Le fruit de la passion est utilisé dans les produits de santé et les produits pharmaceutiques. L'industrie des fruits de la passion devrait se développer à l'avenir

en raison de sa popularité et de sa production croissante [He et al., 2020]. Lors de la transformation du fruit de la passion en jus et autres produits, pelures et les graines sont considéré en tant que sous-produits ; Par conséquent, plus l'échelle de production est grande, plus la quantité de sous-produits est importante [Malacrida Jorge. 2012]. Étant donné que ces résidus représentent un coût d'exploitation pour l'industrie et peuvent constituer un fardeau important pour l'environnement, l'utilisation industrielle des sous-produits est souhaitable.

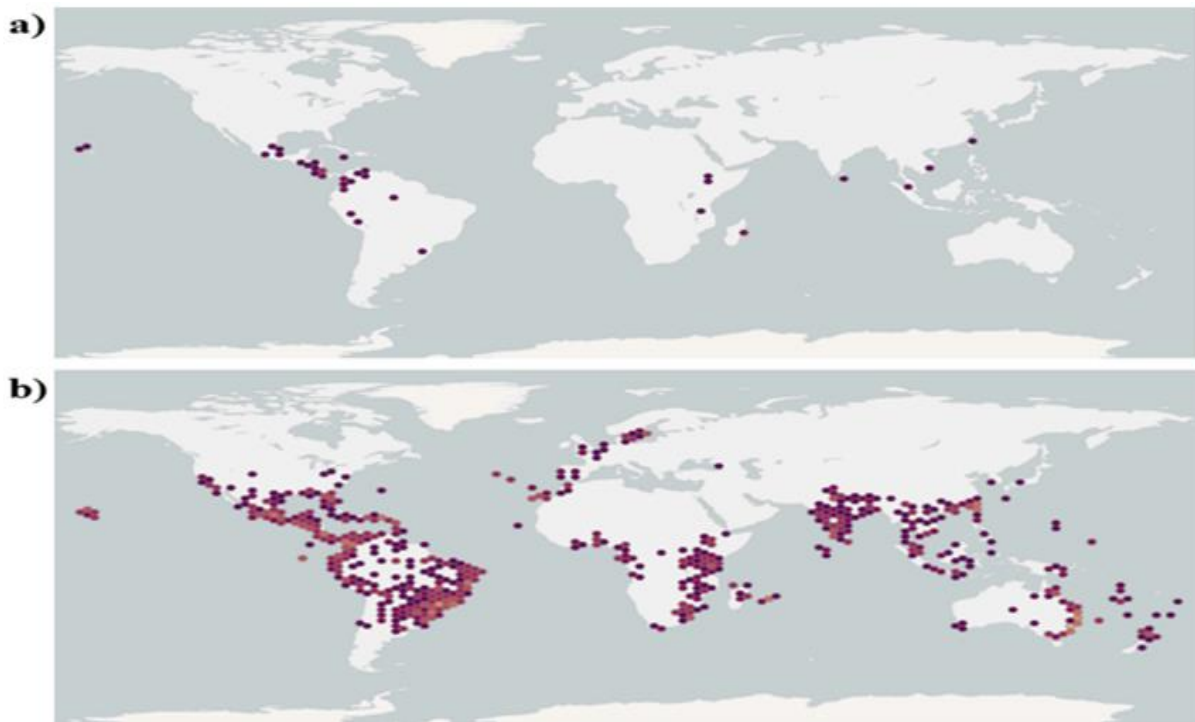


Figure 22 : a) *Passiflora edulis* f. *edulis* et b) *Passiflora edulis* Sims selon le Système mondial d'information sur la biodiversité (GBIF) (*Passifloraceae* in GBIF Secrétariat, 2021). [Fonseca, A. M et al 2022].

III.3. Les graines de *passiflora edulis*

Les graines stockent les nutriments pour la croissance de l'embryon et sont riches en graisses, amidons, protéines et minéraux. Les graines de *P. edulis* sont comestibles et possèdent des propriétés nutritionnelles et biochimiques intéressantes qui ont des avantages nutritionnels et sanitaires [Ramaiya et al., 2018] ; cependant, les graines produites lors de la production d'aliments transformés sont généralement jetées après broyage [Chau & Huang. 2004] Par exemple, au Brésil c'est un pays qui produit, >40% de la production de fruits de la passion est allouée à l'industrie des jus et pulpes, qui produit de grandes quantités de bagasse, y compris les graines [Reis et al., 2020]

Pendant ce temps, le tourteau, qui est jeté après pression à froid des graines, contient des composés phénoliques d'intérêt et des acides gras [Oliveira et al., 2016]. Les graines de *P. edulis* sont considérées comme un matériau nutritionnel et fonctionnel précieux, et diverses études sur leur fonctionnalité ont été menées.



Figure 23 : photo de *passiflora edulis* ; a) fleurs, b) fruit de la passion (pourpre) et sa coupe transversale montrant les graines, c) fruit de la passion (jeune) et sa coupe transversale montrant les graines [He et al., 2020].

III.4- Taxonomie

Domaine : Biota Endl.(D.Don)

Règne : Plantae Haeckel, 1866

Sous-Règne : Viridaeplantae

Infra-Règne : Streptophyta John, Williamson & Guiry, 2011

Classe : Equisetopsida C.Agardh, 1825

Clade : Tracheophyta Sinnott ex Cavalier-Smith, 1998

Clade : Spermatophyta

Sous-Classe : Magnoliidae Novák ex Takht., 1967

Super-Ordre : Rosanae Takht., 1967

Ordre : Malpighiales Juss. ex Bercht. & J.Presl, 1820

Famille : Passifloraceae Juss. ex Roussel, 1806 [nom. cons.]

Tribu : Passifloreae DC., 1828

Genre : *Passiflora* L., 1753 [nom. cons.]

Sous-Genre : *Passiflora* subg. *Passiflora* L., 1753

Section : *Passiflora* supersect. *Passiflora* L., 1753

Espèce : *Passiflora edulis* Sims, 1818

Forme : *Passiflora edulis* Sims f. *edulis*

III.5. Compositions des graines de *Passiflora edulis*

III.5.1. Les compositions nutritives

III.5.1.1. Les lipides :

Les graines de *Passiflora edulis* contiennent des pourcentages plus élevés de lipides et de protéines que les autres parties de la plante, qui présente des effets antifongiques [Lam & Ng ,2009]. Un apport modéré d'acide linoléique est associé à un risque plus faible de maladie cardiovasculaire, probablement en raison de concentrations de cholestérol sanguin plus faibles [Djuricic & Calder . 2021] Et aussi les graines de *P edulis* contiennent l'acides oléique et l'huile des graines avec une teneur très élevées en acide gras insaturée. L'huile extraite des graines est envisagée vers des applications commerciales dans les industries cosmétique, pharmaceutique et chimique [Malacrida & Jorge .2012].

Tableau 01 : le profil des acides gras des graines de *Passiflora edulis* [de Santana et al., 2017 ; Serra et al .2019 ; Ngakou et al., 2019].

Compositions	Graines de passiflora edulis
Myristique	0,10 ± 0,00
Palmitique	11,00 ± 0,17
Palmitoléique	0,22 ± 0,01
Stéarique	3,29 ± 0,31
Oléique	16,84 ± 0,36
Vaccenic	0,17 ± 0,00
Linoléique	67,39 ± 0,54
α-linolénique	0,56 ± 0,03
Araquidic	na
Gadoleic	na
Eicosénoïque	na
Béhénique	0,10 ± 0,00
Cétoléique	na
CFS total (%)	14,69 ± 0,12
AGMI totale (%)	17,18 ± 0,47
AGPI total (%)	17.18 ± 0.47

III.4.1.2. Les protéines :

Les graines ont également au moins 10% de protéine qui peuvent être utilisé comme source de protéine précieuse [Ramaiya, Bujang & Zakaria .2018 ; De Santana et al., 2017 ; Dos Reis et al., 2018]. Et aussi ils sont également riches en fibres alimentaire et devait être utilisée comme une source de fibre alimentaires.

III.5.1.3. Les minéraux :

Les graines de *Passiflora edulis* ont du fer, du manganèse, du cuivre, du zinc, comme des minéraux mineurs, ils sont des éléments nécessaires aux processus physiologique humains ; Par exemple, le fer est un composant crucial impliqué dans l'oxygénation des tissus et est un élément très important, en particulier pour les femmes enceintes et les nourrissons [Abu-Ouf & Jan , 2015] , les graines de P. edulis peuvent être utiles comme source de supplémentation

en fer , vu que la teneur en fer des graines de *P. edulis* est supérieure à celle des graines de maïs, de tournesol ou de citrouille [[**Ramaiya , Bujang & Zakaria .2018**] .

Tableau 02 : les compositions nutritifs des graines de *Passiflora edulis* [**De Santana .et al 2017 ; Serra et al .2019 ; Ngakou et al ., 2019**].

Compositions	Graines de <i>passiflora edulis</i>
Teneur en éléments nutritifs (g/100 g de graines sur une base sèche)	
Les protéines	13.99 ± 0.11
Lipides	32.65 ± 0.45
Glucides	51.87 ± 0.00
Ash	1.49 ± 0.01
Fibres alimentaires	48.18± 0.64
Teneur en minéraux (mg/100 g de graines sur une base sèche)	
Sodium	241.7±83.3
Magnésium	138.3±220.5
Potassium	352.5±144.3
Calcium	173.1±294.8
Phosphore	115.3±178.8
Fer	6.2±11.7
Cuivre	1.4±10
Manganèse	na
Zinc	5.6±24.7

III.5.2. Les compositions phénoliques

Le pourcentage le plus élevée des polyphénols totaux se trouvaient dans les graines des *p edulis* par rapport à la peau, la pulpe [**Matsui et al., 2010**], plusieurs polyphénol (les stilbènes ...etc.) ont été isolé et identifié à partir des graines.

III.5.2.1. Les acides phénoliques :

Plusieurs composés classés comme acides phénoliques sont trouvés dans les graines telle que L'acide caféique, l'acide chlorogénique, l'acide férulique, l'acide gallique et l'acide rosmarinique ont été détectés dans les graines extraites avec du méthanol. [Lourith & Kanlayavattanakul, 2013].

Tableau 03 : le profil des acides phénolique des graines de *Passiflora edulis*

Composition		Références
Caffeic acid	P. edulis	[Yamamoto et al 2019]
	P. edulis (purple)	[Lourith & Kanlayavattanakul .2013]
Chlorogenic acid	P. edulis (purple)	[Lourith & Kanlayavattanakul .2013]
Ferulic acid	P. edulis (purple)	[Lourith & Kanlayavattanakul .2013]
Gallic acid	P. edulis (purple)	[Lourith & Kanlayavattanakul .2013]
Rosmarinic acid	P. edulis (purple)	[Lourith & Kanlayavattanakul .2013]
Coumarin	P. edulis	[Da Silva et al . 2013]
P-coumaric acid	P. edulis	[Taborda et al . 2021]
	P. edulis	[Yamamoto et al 2019]

III.5.2.2. Les flavonoïdes

Divers flavonoïdes ont été détectés dans les graines de *P. edulis* avec un teneur plus élevé, ils ont diverses fonctions physiologiques telle que des propriétés anti-inflammatoire, antioxydante, anticancéreuse et neuroprotectrice [Imran et al., 2019].

Tableau 04 : le profil des flavonoïdes des graines de *Passiflora edulis* .

Composants	Solvant	Références
Epicatchin	35% ethanol	[Yamamoto et al 2019]
Quercetin	40% methanol ethanol	[Lourith & Kanlayavattanakul .2013]
Rutin	ethanol	[Taborda et al . 2021]
Isoquercetin	ethanol	[Taborda et al . 2021]
Kaempferol	ethanol	[Dos Reis et al . 2018]
Malvidin 3,5-diglucoside	ethanol	[Dos Reis et al . 2018]
Orientin	97% ethanol	[Rodríguez et el . 2021]
Isorientin	97% ethanol	[Rodríguez et el . 2021]
Vitexin	97% ethanol	[Rodríguez et el . 2021]
Isovitexin	97% ethanol	[Rodríguez et el . 2021]

III.5.2.2.1. Stilbène

Le principale composant phénolique des graines de *P. edulis* c'est le piceatannol est considéré comme une forte inhibiteur protéine tyrosine kinase [Oliver et al., 1994]et un activateur de la sirtuine (SIRT), qui est l'un des facteurs qui régulent le métabolisme énergétique [Howitz et al., 2003 ; Dai et al., 2018]. On trouve également le resvératrol c'est un activateur de la SIRT) [Krambeck et al., 2020], en outre les graines contiennent également des dérivés du piceatannol et du resvératrol, tels que le cyperus phénol D auraient des activités inhibitrices de la α -glucosidase [Pan et al., 2020], et La scirpusine B a également été signalée pour présenter de forts effets vasorelaxants [Sano et al., 2011].

Tableau 05 : le profil des stilbènes des graines des *passiflora edulis* .

Composant	Solvant	Référence
Piceatannol	80% ethanol	[Uchida-Maruki et al . 2015]
	80% éthanol	[Kawakami et al . 2014]
	Éthanol	[De Santana .et al 2017]
	79% éthanol	[Dos Santos et al . 2021]
	95% éthanol	[Pan et al . 2020]
	Éthanol and acétone	[Krambeck et al . 2020]
	35% éthanol	[Yamamoto et al 2019]
	90% éthanol	[Sano et el . 2011]
	70% acétone	[Matsui et al . 2010]
Resveratrol	éthanol and acétone	[Krambeck et al . 2020]
	35% éthanol	[Yamamoto et al 2019]
	90% éthanol	[Sano et el . 2011]
Scirpusin B	70% acétone	[Matsui et al . 2010]
	95% éthanol	[Pan et al . 2020]
	35% éthanol	[Yamamoto et al 2019]
	80% éthanol	[Kawakami et al . 2014]
	90% éthanol	[Sano et el . 2011]
Isorhapontigenin	35% éthanol	[Yamamoto et al 2019]
Rhapontigenin	35% éthanol	[Yamamoto et al 2019]
Cassigarol D	95% éthanol	[Pan et al . 2020]
Cyperusphenol B	95% éthanol	[Pan et al . 2020]
Cyperusphenol D	95% éthanol	[Pan et al . 2020]
Astringin	35% éthanol	[Yamamoto et al 2019]
Piceid	35% éthanol	[Yamamoto et al 2019]
Pinostilbene	35% éthanol	[Yamamoto et al 2019]
Gnetin C	35% éthanol	[Yamamoto et al 2019]

III.6.les propriétés pharmacologiques de *Passiflora edulis* :

III.6.1. L'activité antioxydante :

Les graines de *Passiflora edulis* contiennent une grande quantité d'antioxydants tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les stilbènes ont la capacité de réduction ferrique du plasma, capacité d'absorption des radicaux libre [De Santana et al., 2017 ; Lourith & Kanlayavattanakul .2013 ; Yepes et al., 2021]. Graines de *P. edulis* a eu un effet protecteur sur le foie, les reins et le cœur contre le stress oxydatif en augmentant les niveaux de superoxyde dismutase et en diminuant les niveaux de substance réactive de l'acide 2-thiobarbiturique [Kandandapani., Balaraman & Ahamed et al., 2015]. De plus l'huile extraite augmente la stabilité oxydative des lipides [Rotta et al., 2020], l'huile des graines de *P. edulis* a montré l'activité antioxydante la plus élevée parmi les huiles extraites de graines végétale [Ferreira et al., 2011].

III.6.2. Effet sur la peau

Les graines de *Passiflora edulis* augmente la production de collagène lorsqu'il est appliqué sur les fibroblastes dermique [Matsui et al., 2010], de plus l'extrait des graines augmente la production de collagène et inhibe la dégradation du collagène et l'élastase. [Yepes et al.,2021 ; Hartanto et al., 2019 ; Vera., Raif., & Ikhtiari. 2019], ce qui contribuera la maintenir de la structure du derme pour retenir l'humidité et l'élasticité de la peau [Matsui et al. 2010]. L'extrait de graines de *P. edulis* et ses composants polys phénoliques devraient supprimer l'augmentation excessive des ROS dans la peau humaine et inhiber le photo vieillissement [Kang et al., 1997 ; Dong et al., 2008 ; Kang et al., 2003].

L'huile de graines de *P. edulis* a une activité inhibitrice de la tyrosinase élevée et une faible irritation cutanée [Krambeck et al., 2021], par conséquent, l'huile de graines de *P. edulis* a été envisagée pour un usage cosmétique [Krambeck et al., 2020].

III.6.3. Effet sur le métabolisme des graisses :

Extrait des graines de *P edulis* inhibe fortement la synthèse des lipides et l'accumulation des graisse dans les cellules en supprimant l'expression de la synthase des acides gras et du transporteur de glucose de type 4 [Carpéné et al.,2018], et également améliore la synthèse des graisses par diverse voies liée au métabolisme lié au métabolisme des graisse. [Kawakami et al., 2014 ; Lee et al .,2019].

L'huile des graines de *Passiflora edulis* a un effet inhibiteur sur l'accumulation de graisse qui entraîne une réduction significative des triglycérides, le cholestérol total et le cholestérol à lipoprotéines de basse densité [Ngakou T et al., 2019]

III.6.4. Effet hypoglycémiant

L'administration de pelure et d'extrait de graine de *Passiflora edulis* a permis d'améliorer considérablement la glycémie [Kandandapani, et al., 2015], en plus l'extrait des graines améliore la tolérance au glucose en favorisant la sécrétion initiale d'insuline et augmente les niveaux de récepteurs de l'insuline [Lee et al. 2019], il a également une activité inhibitrice de la α -amylase et de la α -glucosidase [Loizzo et al., 2019]. Les graines de *P. edulis* devraient être efficaces pour améliorer la sensibilité à l'insuline. [Kitada et al. 2017].

III.6.5. Activité anti-inflammatoire :

L'extrait aqueux de feuilles d'espèces de *Passiflora* a montré une puissante action anti-inflammatoire. [Benincá et al., 2007]. Caractérisées par une inhibition de l'afflux de leucocytes dans la cavité pleurale et associées à un blocage marqué de la myéloperoxydase, de l'oxyde nitrique, des facteurs de nécrose tumorale et des taux d'interleukine-1, *P. edulis* s'est avéré plus efficace pour supprimer les facteurs de nécrose tumorale et les niveaux d'interleukine-1 que la dexaméthasone [Capasso et Sorrentino, 2005]. *Passiflora edulis* peut donc être une source de nouveaux candidats thérapeutiques anti inflammatoire.

III.6.6. Activité anti-anxiété :

L'anxiété est connue comme un problème de santé mentale très courant dans la population en générale. *Passiflora edulis* est un remède populaire utilisé pour l'anxiété. Plusieurs espèces de passiflores ont été largement utilisées comme médecine traditionnelle en raison des activités sédatives et tranquillisantes [Barbosa et al., 2008 ; Sarris. 2018 ; Fonseca et al., 2020].

III.6.7. Activité antitumorale :

L'extrait de *Passiflora edulis* a le pouvoir d'inhiber l'activité des enzymes métastases et l'angiogenèse qu'ils sont les deux métalloprotéases impliquées dans l'invasion tumorale. [Puricelli et al., 2003 ; Mota et al., 2018].

Partie II
Etude expérimentale



Chapitre I :
Etude in vitro



I.1. Matériel végétale

I.1.1. Les graines de *Passiflora edulis Sims* :

Les graines de *Passiflora edulis Sims* ont été fournies par Nafoods Group JSC (province de Nghe An, Vietnam) en 2016 et identifiées par le botaniste Dr. Nguyen Quoc Binh, Musée national de la nature du Vietnam, VAST, Hanoi, Vietnam. Un spécimen de référence (C-573) a été déposé dans l'herbier de l'Institut de chimie des produits naturels, VAST, Hanoi, Vietnam.

I.1.2. Préparation de la fraction d'acétone polyphénolique riche en stilbène des graines de *Passiflora edulis*

I.2. Analyse phytochimique :

I.2.1. Préparation de l'extrait :

Préparation de la fraction d'acétone riche en stilbène polyphénolique des graines violettes de *Passiflora edulis*. La fraction d'acétone riche en stilbène a été préparée à partir des graines séchées en poudre (5,0 kg) de *P. edulis*, qui ont été retirées de l'huile en les trempant trois fois dans du n-hexane (3×15 L) à température ambiante pendant trois jours. Après filtration et concentration sous pression réduite pour obtenir une fraction de n-hexane (880 g), les poudres de graines séchées et huileuses (4200 g) ont ensuite été extraites trois fois avec de l'acétone à 70% dans de l'eau (v/v, 3×12 L) par sonication pendant 3 heures. La solution a été concentrée sous pression réduite pour donner la fraction d'acétone de 330 g (rendement de 6,6 %) (PEAS).

I.2.2. Dosage des polyphénols totaux :

La teneur phénolique totale de la fraction acétone des graines de *P. edulis* (PEAS) a été déterminée à l'aide de la méthode colorimétrique Folin-Ciocalteu (FC) décrite précédemment par Singleton et Rossi [35] avec quelques modifications. Brièvement, chaque échantillon mesuré (5 ml) a été pipeté dans les tubes à essai et mélangé avec 2,5 ml de réactif Folin-Ciocalteu à 10 % (v/v) dans de l'eau distillée. Le mélange a été laissé reposer pendant 8 min, puis 2 ml de solution de Na_2CO_3 à 7,5% (p / v) ont été ajoutés et incubés dans l'obscurité pendant 2 h à température ambiante. L'absorbance du mélange a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-vis Jasco v-630. L'acide gallique a été utilisé comme échantillon témoin et standard. Les courbes d'étalonnage ont été construites en utilisant de l'acide gallique à différentes concentrations : 5, 10, 20, 40, 50, 100 et 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dans de l'eau distillée. Chaque expérience a été répétée 3 fois et les résultats moyens ont été pris. La teneur totale en phénols a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, représentée par le logiciel

Microsoft Office Excel 2016 pour obtenir l'équation de régression ($y = 0,0359x + 0,3532$) et la valeur de régression linéaire ($R^2 = 0,999$). Les étapes de détermination de l'échantillon analytique sont similaires à celles de la construction de la courbe standard ci-dessus. Enfin, la TPC a été exprimée en mg d'équivalent acide gallique par gramme d'échantillon d'essai sec (mg GAE eqv/g) selon la courbe étalon. Les composés phénoliques totaux dans la fraction des graines d'acétone ont été calculés par formule : $TPC = C \times V/m$, où TPC est la teneur phénolique totale (mg/g), dans l'équivalent en acide gallique (EGA), C'est la concentration d'acide gallique établie à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml), V est le volume de fraction (ml) et m est le poids de la fraction végétale séchée (g).

I.2.3. Dosage des flavonoïdes :

La teneur en flavonoïdes dans l'extrait de *passiflora edulis* a été fait selon la méthode colorimétrique décrite par [Topçu et al., 2007] adoptés aux micro-volume (microplaquette à 96 puits). Un volume de 50 µl de l'extrait a été mélangé avec 130 µl de méthanol et 10 µl d'une solution d'acétate de potassium (CH (COOK) à 1M ensuite 10 µl de nitrate d'aluminium (Al (NO₃)₃ à 10%. Le mélange a été mis à température ambiante pendant 40 min d'incubation puis une lecture d'absorbance a été réalisée à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La quercitrine a été utilisé comme un standard pour tracer la courbe d'étalonnage, suivant la même manière de la préparation d'échantillon.

Les résultats de taux des flavonoïdes totaux ont été exprimés en microgramme équivalent quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg E).

I.2.4. Dosage des tannin condensés :

Le dosage des tannin condensés dans notre extrait est déterminé selon la méthode décrite par **Julkunen-Titto, (1985)**. Un volume de 50 µl de l'extrait a été mélangé avec 3 ml de vanilline à 4% et 750 µl d'acide chlorhydrique pure (HCL). Après 20 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 550 nm par rapport à un blanc préparé sans extrait. Dans les conditions préparatoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif (Standard) pour réaliser la courbe d'étalonnage.

Les résultats de la teneur des tanins condensés ont été exprimés en microgramme équivalent Catéchine par milligramme d'extrait (µg EC/ mg E).

I.3. Analyse chromatographique :

I.3.1. La chromatographie sur couche mince à haute performance (HPTLC) :

HPTLC est un type très avancé de chromatographie largement utilisé ces dernières années pour l’empreinte digitale des plantes médicinales, des produits et pour le criblage des substances métabolique, la quantification des ingrédients actifs et des médicaments à base de plantes, l’analyse phytochimique et biomédicale. Il est plus sensible et possible d’exécuter plus d’échantillons dans un court laps de temps, en utilisant une petite quantité de solvant. C’est l’une des techniques instrumentales sophistiquées basées sur toutes les capacités de la chromatographie sur couche mince.

I.3.1.1. Le principe

C’est une méthode analytique puissante qui convient également aux tâches analytiques qualitatives et quantitatives. La séparation peut résulter de l’adsorption ou de la partition ou des deux phénomènes, selon la nature de l’adsorbant utilisé sur les plaques et le système de solvants utilisé pour le développement.

Le solvant en phase mobile s’écoule à travers à cause de l’action capillaire. Les composants se déplacent en fonction de leurs affinités vers l’adsorbant. Les composants ayant plus d’affinité envers la phase stationnaire se déplacent plus lentement et les composants ayant moins d’affinité envers la phase stationnaire voyagent plus rapidement.

HPTLC ont lieu avec une plage d’écoulement capillaire à grande vitesse de la phase mobile. Il y a trois étapes principales qui comprennent,

1. La précision du volume de l’échantillon analysé à la couche chromatogramme et la position appropriée sont obtenues à l’aide d’un instrument approprié.
2. Le solvant migre la distance prévue en couche par action capillaire dans cet échantillon de procédé séparé dans ses composants.
3. Le densitomètre est utilisé pour balayer les pistes de séparation avec faisceau lumineux dans la région visible ou UV

I.3.1.2. Protocol

Toutes les analytiques chromatographie ont été réalisés selon la procédure de la pharmacopée européenne sur des plaques TLC (Thin Layer de chromatography) de gel de silice à support de verre C18 collées en verre de 10x10 cm incorporant un indicateur fluorescent (F254s) (E. Merck, Darmstadt, Allemagne). les extraits et les étalons ont été repérés sur les plaques à l’aide d’applicateur de bandes automatisés linomat au système CAMAG HPTLC (Automatic Tlc sampler (ATS4)) , le développement des plaques unidimensionnelles a été réaliser dans des chambres en verre (10 x 10 x 5 cm) double cuve CAMAG (Automatic Developing Chamber

2 (ADC2)) , saturé dans la phase mobile pendant 20 min , avant l'application de la bande , en utilisant comme solvant de développement à température ambiante (25,2 °C) , L'humidité contrôlée a été établie par ADC-2 en utilisant MgCl₂ (33% HR) pendant 10 min . Après les plaques HPTLC ont été dérivatisées et visualisées dans le spectre visible lumière blanche, UV366 et UV 254 à l'aide du visualiser TLC (CAMAG, Suisse) et numérisées à l'aide du scanner de plaque Tlc (CAMAG, Suisse). Les systèmes ont été pilotés par le logiciel vision CATS version 2.5.

I.3.1.3. Les acides phénoliques

L'application d'un volume précis de 2µl de chaque échantillon de l'extrait avec les 3 concentrations (5mg/ml , 2mg/ml , 1mg/ml) a été réalisée à l'aide d'une seringue microlitre CAMMAG (ATS4) , 10ml d'une phase mobile composé d'un mélange de a été utilisée pour le développement de la plaque après une saturation de 20 min avec 25 ml de solution de développement , la plaque développée a été pulvérisée avec 2 ml de réactif Fast Blue Salt B (0.5 g de fast blue salt blue dissout dans 100 ml d'eau distillée , ensuite la plaque a été dérivatisée avec buse jaune niveau 4 , la plaque a ensuite été retiré séchés à l'air libre et scannée densitométrique à 245nm / 366 nm et à la lumière blanche

Les étalons resveratol, acide sinapique, acide rosmarinique, acide ferulique, magnolol, acide ginkgolique, acide vanillique, arbutin ont été préparés en concentration de 1000ppm (1mg dans 1ml de méthanol).

I.3.1.4. Les flavonoïdes

A partir de trois concentrations de l'extrait (1 mg/kg , 2 mg/kg , 5mg/kg) , et les contrôles positives spiranoside , myrestin , apigenin , naringin , isoquercitroside , baicalein , taxifolin , quercitin dihydrate à une concentration de 1mg/ml , 2 ml d'extrait et de contrôles positives a été repérés sur la plaque de silice Tlc à l'aide de l'applicateur de bande automatisé linomat au système CAMAG HPTLC dans des bandes de 6 mm de large , la plaque a été chauffée à 100°C pendant 3 min , ensuite la plaque a été pulvérisée avec 2 ml de réactif NP (1 g d'acide diphenilborinique aminoethylester dissout dans 100 ml d'éthanol) avec buse verte niveau 3 , et de PEG (5 g de polyéthylène glucol 400 (macrogol) dissout dans 100 ml d'éthanol) avec buse bleue , niveau 2 , et la plaque a été photographiée immédiatement après la dérivatisation sous la lumière blanche , UV 254nm et UV 365 nm à l'aide du système visualiser .

I.3.1.5. Les terpenoïdes

L'extrait et les normes ont été appliquée avec CAMAG ATS4 sur la plaque de Hptlc avec des concentrations différentes 1 mg/ml , 2mg/ml et 5mg/ml pour l'extrait et 1mg/ml pour les normes

camphor , terpin , thymol , hydroxyecalysonne , menthol , après le développement la plaque a été pulvérisée avec 2ml de réactif d'anisaldehyde-sulfuric acide (10 ml d'acide sulfurique sont soigneusement ajoutés à un mélange glacé de 170 ml de méthanol et 20 ml d'acide acétique à cette solution, 1 ml d'anis aldéhyde est ajouté) avec buse bleue , niveau 3 , la plaque a ensuite été chauffée à 100 °C pendant 3 minutes . Des photos de la plaque développée et pulvérisée ont été prises avec CAMAG Tlc visualiser à la lumière blanche, UV254 nm et UV 365 nm.

I.3.1.6. Les alcaloïdes :

L'application de l'extrait en trois concentration (1 mg/ml, 2mg/ml, 5mg/ml) et les standards noscapine, ascorpine, caféine, peiminine, quinine, théophylline, atropine, théobromine, (1mg/ml) a été fait sur la plaque à l'aide d'un applicateur des échantillons CAMAG linomat avec un volume de 2ml. Après le développement la plaque a été immédiatement pulvérisée avec 2 ml de réactif de dragonoff (solution A : 0,85 g de nitrate basique de bismuth sont dissous dans 10 ml d'acide acétique et 40 ml d'eau sous chauffage. Solution B : 8 g d'iodure de potassium sont dissous dans 30 ml d'eau juste avant la pulvérisation, 1 ml de chaque solution est mélangé avec 4 ml d'acide acétique et 20 ml d'eau) avec buse rouge niveau 2.

Des photos de la plaque déprivatisée ont été prises avec CAMAG Tlc visualiser 2 sous la lumière visible.

I.3.2. Chromatographie liquide à haute performance HPLC-DAD-MS :

La fraction PEAS a été filtrée à travers un filtre de 0,45 µm avant d'être analysée avec HPLC-DAD (système 1290 Infinité LC avec un détecteur à matrice de diodes (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) et un système MS (MS/MS) tandem haute résolution (HR) : 6530 Sharp-Mass quadrupôle time-of-flight (QTOF) LC/MS (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) équipé d'un instrument d'ionisation par électro pulvérisation. La CLHP a été réalisée sur un système HPLC Agilent 1290 infinité comprenant une pompe quaternaire, un échantillonneur automatique, un détecteur DAD, une colonne Agilent Proshell 120 SB-C18 (3,0×50 mm I.D., granulométrie 2,7 µm) et un débit de 0,3 ml/min avec un système de solvant gradient de 5 % à 90 % d'acétonitrile dans l'eau pendant 25 minutes.

I.3.2.1.les condition de l'analyse HPLC-MS :

L'extrait a été filtré à travers un filtre de 0,45 µm avant l'analyse HR-ESI-MS acquise sur un système Agilent 6530 Accurate-Mass QTOF LC/MS (Agilent, Santa Clara, USA). La CLHP a

été réalisée sur un système HPLC 1290 infinity comprenant un dégazeur, une pompe quaternaire, un échantillonneur automatique, un détecteur DAD et une colonne J'sphère ODS H80 (250 mm × 20 mm I.D). Le débit a été fixé à 0,3 ml/min. La phase mobile est constituée d'eau de qualité CLHP (solvant A) et d'acétonitrile à 100 % (solvant B). Le programme d'élution en gradient était le suivant : les solvants A et B étaient de 95 à 5 % (3 min), 70 à 30 % (8 min), 50 à 50 % (15 min), 20 à 80 % (25 min) et 0 à 100 % (27 min); le débit était de 1 ml/min et une pression maximale de la pompe de 4000 psi a été maintenue. Les composés phénoliques ont été identifiés à une longueur d'onde de 210 nm.

Les composés naturels ont été provisoirement identifiés par l'interprétation des spectres de masse ainsi que par la comparaison de leur temps de rétention avec les données de la littérature.

I.4. Amarrage moléculaire (Docking)

Une étude d'amarrage moléculaire a été réalisée à l'aide de l'Auto dock Vina 1.2.2 [41]. Les ligands des graines de fruits de la passion ont été préparés à l'aide du logiciel ChemsSketch 2021.1.2 [ACD/Chem Sketch, version 2021.1.2, Advanced Chemistry Développement, Inc., Toronto, ON, Canada, www.acdlabs.com, 2021] et optimisés à l'aide du champ de force MMFF94s.

Toutes les substances étudiées ont ensuite été converties du format *. Mol2 au format *. Pdbqt en utilisant MGLTool version 1.5.6rc3. L'AChE HUMAIN (ID PDB : 4EY7) et la protéine BChE (ID PDB : 4BDS), Co-cristallisées avec le donépézil et la tacrine, respectivement, ont été récupérées de la banque de données sur les protéines RCSB. Les modèles de protéines 4EY7 et 4BDS ont été préparés en éliminant l'eau, les hétéroatomes et les cofacteurs et en ajoutant de l'hydrogène et de la charge de Kollman avant l'amarrage moléculaire. Les coordonnées du centre de la boîte de grille sont déterminées en fonction du centre de la cible AChE à (X = 133,1 ; Y = 116,1 ; Z = 41,3) et de la cible BChE à (X = -14,0 ; Y = -43,9 ; Z = 27,1). La taille de la boîte de grille de 24 x 24 x 24 Å a été choisie pour couvrir la région d'interaction des protéines 4EY7 et 4BDS. L'exhaustivité est définie sur 400 et tous les autres paramètres ont été définis par défaut. Les résultats de l'amarrage sont analysés et présentés de manière interactive à l'aide de la suite logicielle BIOVIA Discovery Studio Visualiser (BIOVIA, Daussault Systèmes, BIOVIA Discovery Studio Visualizer, 21.1.0.0, 2021).

Les valeurs ΔG ont ensuite été converties en pK_i , pred, où K_i (constante inhibitrice) a été calculé par la formule $K_i = IC_{50} / (1 + [S]/K_m) = \exp(\Delta G/R \times T)$, donc $IC_{50} = \exp(\Delta G/R \times T) \times (1 + [S]/K_m) / K_i$ (tableau 2), où K_m est la constante de Michaelis; R : la constante des gaz, $T =$

298,15K, et [S] est la concentration du substrat (1M). En utilisant cette méthode, les affinités de liaison du ligand-protéase ont été déterminées et rapportées dans l'unité kcal/mol.

I.5.Résultats

I.5.1. Résultats des analyse phytochimique

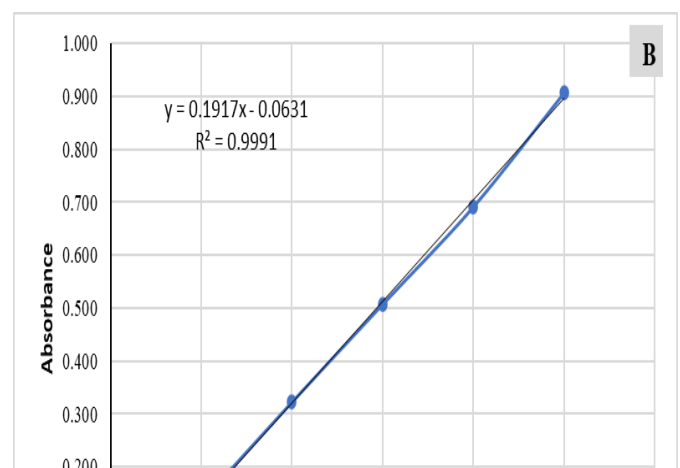
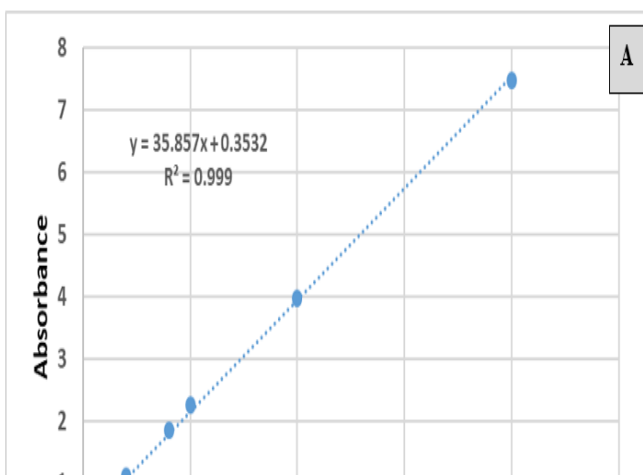
I.5.1.1. Dosage des métabolites secondaire :

Une analyse phytochimique de la fraction de PEAS a révélé la présence de composés phénoliques, qui sont intimement associés aux activités biologiques de la fraction. La teneur

totale en polyphénols, flavonoïdes et les tanins condensé de la fraction acétone à 70 % des graines a été déterminée à l'aide de la méthode Folin Ciocalteu, quercitine et catéchine respectivement et exprimée en mg d'équivalent en acide gallique (EAG) par gramme d'extrait. La teneur totale en phénol a été calculée à l'aide de la courbe d'étalonnage (**figure 25A**), composée de l'équation de courbe $y = 0,0359x + 0,3532$ et du coefficient de régression linéaire $R^2 = 0,999$. La teneur phénolique totale de la fraction acétone des graines de fruits de la passion a été établie à $413,87 \pm 1,71$ mg GAE/g d'extrait.

La teneur des flavonoïdes a été calculée à l'aide de la courbe d'étalonnage (**figure 25B**), composée de l'équation de la courbe $y = 0.1917x - 0.0631$ et du coefficient de régression linéaire $R^2 = 0,999$. La teneur phénolique totale de la fraction acétone des graines de fruits de la passion a été établie à 236.57 ± 6 mg GEQ/g d'extrait.

La teneur des tanins a été calculée à l'aide de la courbe d'étalonnage (**figure 25C**), composée de l'équation de la courbe $y = 0.1359x - 0.0409$ et du coefficient de régression linéaire $R^2 = 0,999$. La teneur phénolique totale de la fraction acétone des graines de fruits de la passion a été établie à 150.63 ± 6.27 mg EC/g d'extrait.



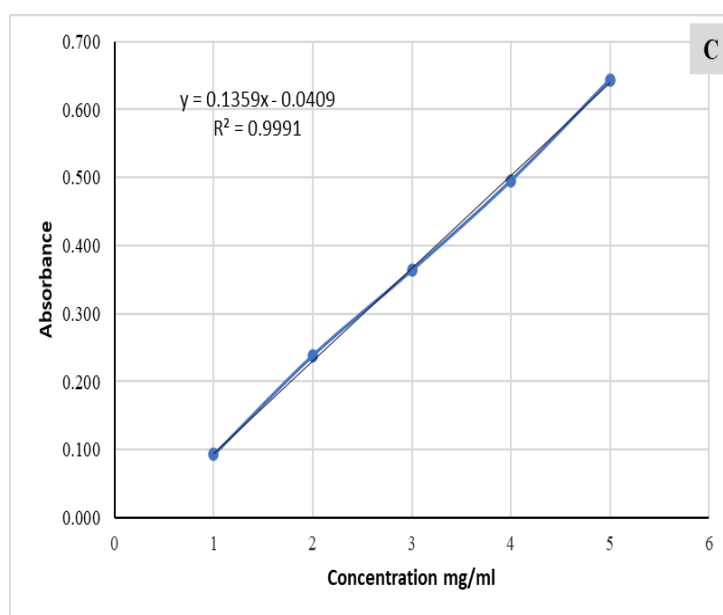


Figure 25 : Courbes d'étalonnages : A : Acide gallique, B : Quercétine, C : Catéchine

I.5.2. Les résultats de la chromatographie sur couche mince à haute performance (HPTLC) :

I.5.2.1. Les composés phénoliques :

La figure montre l'apparition des composés phénolique dans PES (les voies 3 / 6 / 12 / 14) Sous forme de bandes de couleur rouge, mouve, brunes, jaune, alors que PES à 1mg/kg (la voies 9) ne semble pas contenir de composés phénoliques. (Fig. 26)

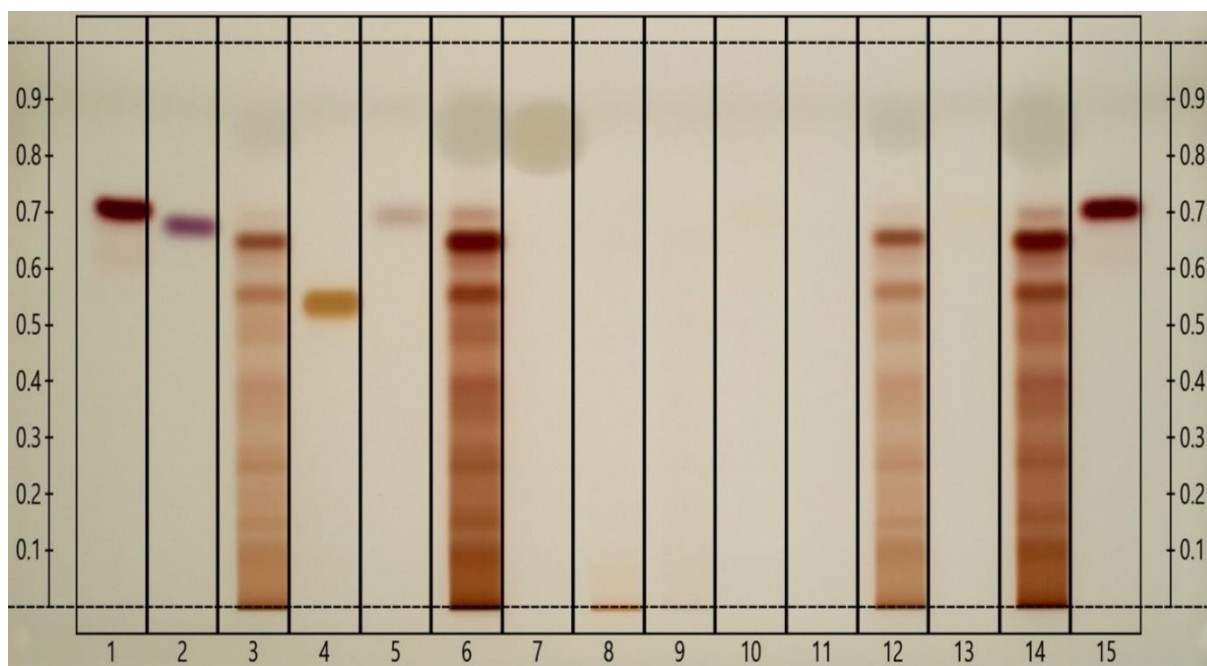


Figure 26 : Profile HPTLC de graines de *Passiflora edulis*, sur une plaque de gel de silice F254 ; phase mobile : chloroforme , Acétate d'éthyle , acid formique , méthanol (40 / 40 / 8 / 12) (v/v/v/v) , la plaque a été pulvérisée avec le réactif Fast blue B et visualisée sous lumière visible . les standard utilisés : Resveratrol (voie 1) , Acide sinapique (Voie 2) , Acide Rosmarinique (Voie 4) , Acide Ferulique (Voie 5) , Magnolol (Voie 7) , Acide ginkgolique (Voie 8) , Acide vanillique (Voie 10) , Arbutin (Voie 11) , Acide vanillique (Voie 13) , Resveratrol (voie 15) . PES (Voies 3 / 6 / 12 / 14).

I.5.2.2. Flavonoïdes

Les résultats révèlent que l'extrait acétonique des graines de *Passiflora edulis* riche en flavonoïdes telle que spiranosides, Apigenin, isoquersitine, taxifolin, quercitine dihydrat et Naringin et Baicalein sont apparait comme des lignes faibles et complètement invisibles. De plus les chromatogrammes HPTLC de PES sont assez similaires, montrent que les flavonoïdes sont très bien extraits. (Fig. 27)

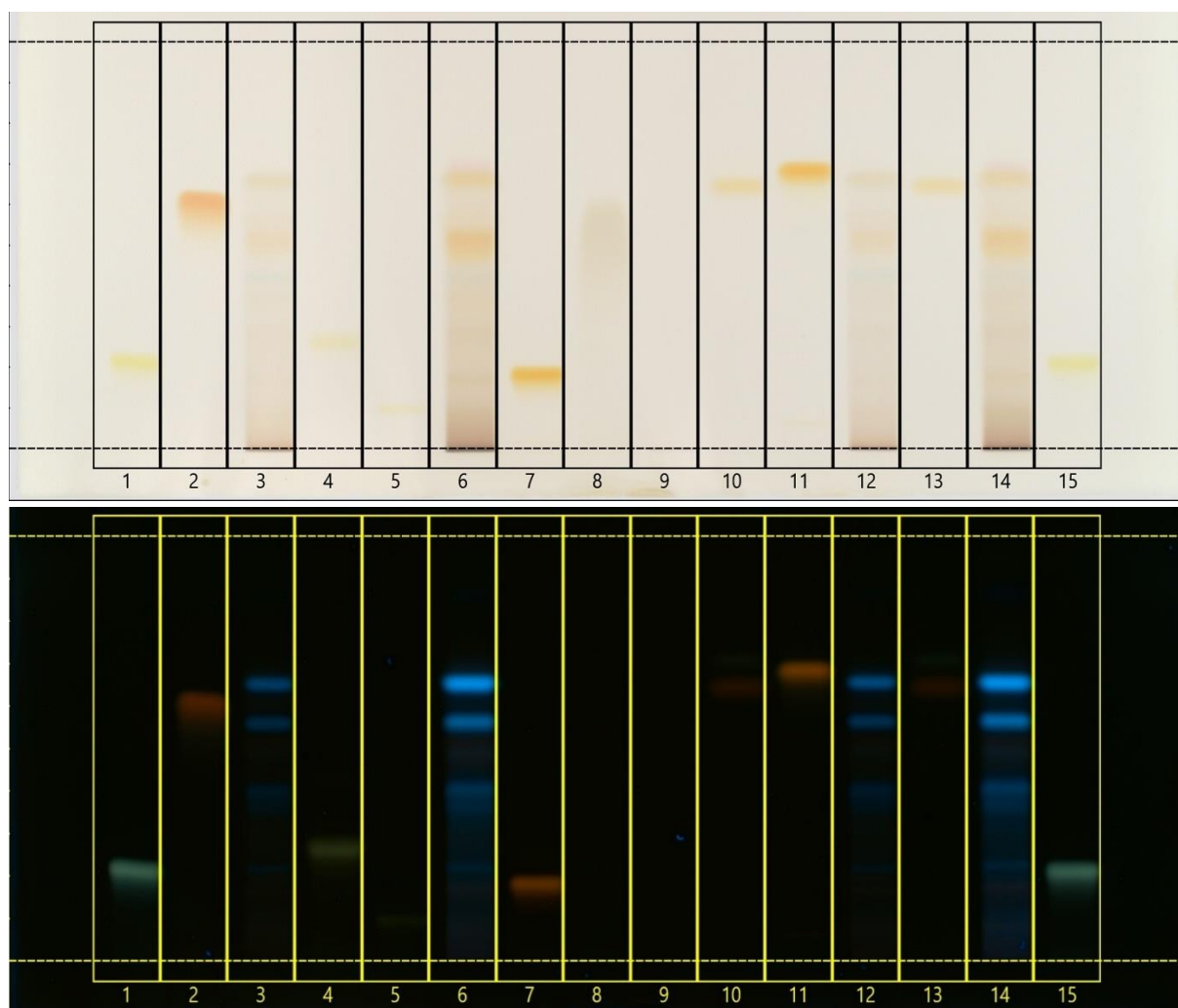


Figure 27 : Profile HPTLC de graines de *Passiflora edulis*, sur une plaque de gel de silice F254 ; phase mobile : chloroforme , Acétate d'éthyle , acid formique , méthanol (40 / 40 / 8 / 12) (v/v/v/v) , la plaque chauffée à 103 °C pendant 3 min , pulvérisée avec les réactif NP et PEG et visualisée sous lumière visible et UV 366 . les standard utilisés : Spiranoside (voie 1) , Myrestin (Voie 2) , Apigenin (Voie 4) , Naringin (Voie 5) , Isoquercitine (Voie 7) , Baicalein (Voie 8) , Taxifolin (Voie 10) , quercitine dihydrate (Voie 11) , Taxifolin (Voie 13) , Spiranoside (voie 15) . EPS (Voies 3 , 6 , 9 , 12 , 14) .

I.5.2.3. Terpenoïdes

L'extrait des graines des *Passiflora edulis* est très riche en terpenoïdes qu'ils apparaissent sous forme des bandes des couleurs différents orange, vert, rouge, bleu, marron révèlent la présence de terpin monohydrate, thymol, hydroxyecalyson, menthol avec l'absence de Camaphor dans PES. (Figure 28)

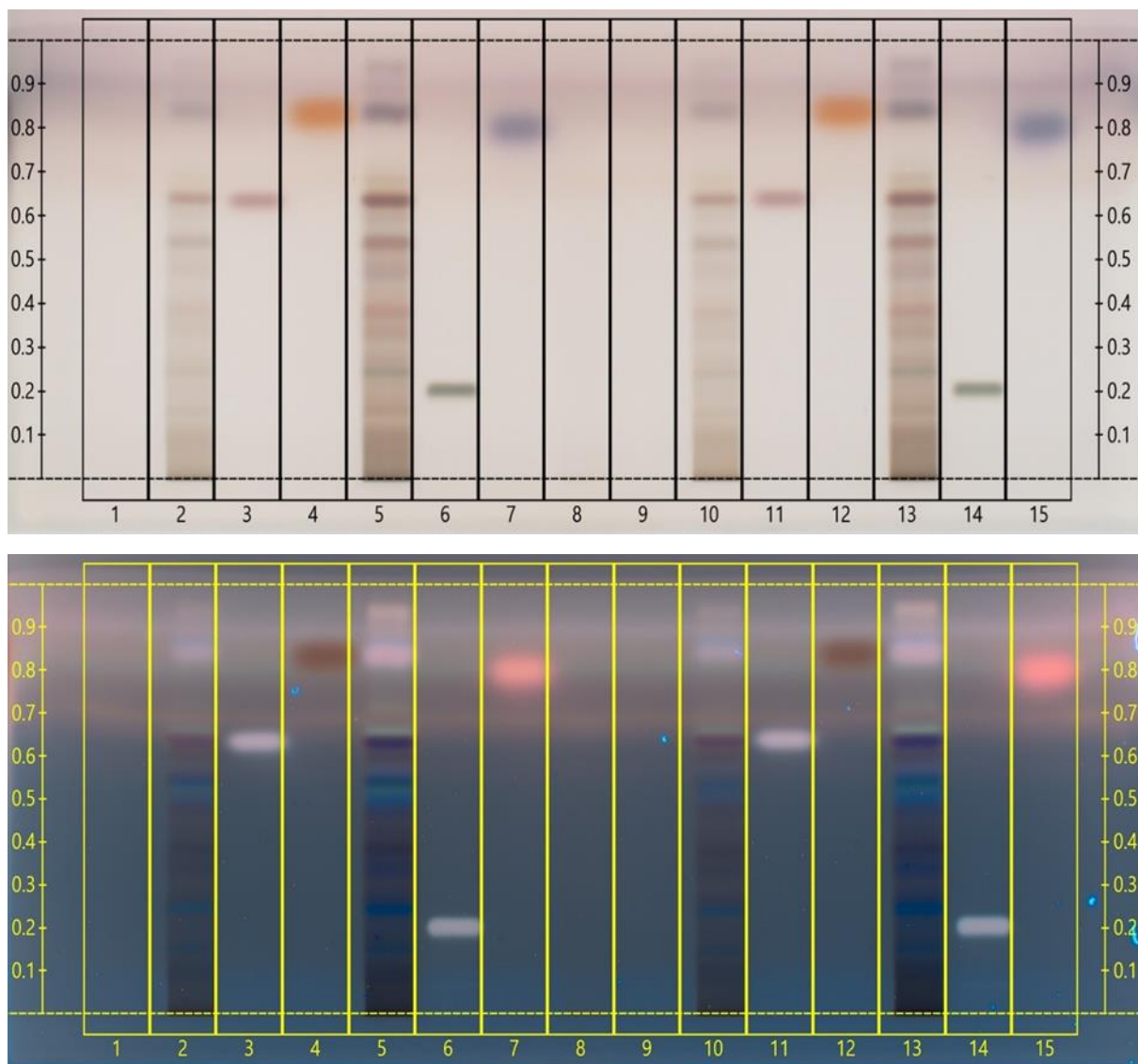


Figure 28 : Profile HPTLC de graines de *passiflora edulis*, sur une plaque de gel de silice F254 ; phase mobile : chloroforme , Acétate d'éthyle , acid formique , méthanol (40 / 40 / 8 / 12) (v/v/v/v) , la plaque chauffée à 103 °C pendant 3 min , pulvérisée avec le réactif 10 % acide sulfurique et visualisée sous lumière visible et UV 366 . les standard utilisés : Camaphor (voie 1) , Terpin monohydrate (Voie 3) , thymol (Voie 4) , Hydroxyecalyson (Voie 6) , Menthol (Voie 7) , Camaphor (Voie 9) , Terpin monohydrate (Voie 11) , thymol (Voie 12) , Hydroxyecalyson (Voie 14) , Menthol (voie 15) .PES (Voies 2 , 5 , 10 , 13) .

I.5.2.4. Alcaloïdes

D'après la pulvérisation par le réactif dragondrof, la photo apparait que l'extrait des graines de *Passiflora edulis* est pas vraiment contient des quantités importantes des alcaloïdes, par l'apparition des bandes jaune orange faible, telle que Noscapine, Ascopine, peiminine, Quinine, Atropine. (Fig. 29)

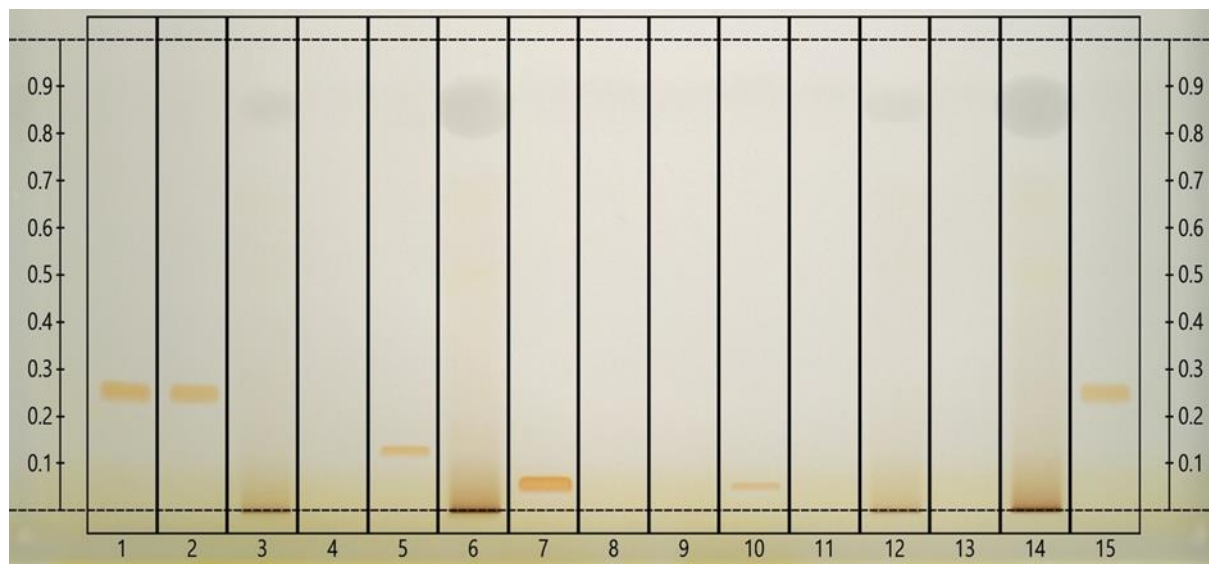


Figure 29 : Profile HPTLC de graines de *Passiflora edulis*, sur une plaque de gel de silice F254 ; phase mobile : chloroforme , Acétate d'éthyle , acid formique , méthanol (40 / 40 / 8 / 12) (v/v/v/v) , la plaque a été pulvérisée avec le réactif Dragondroff's et visualisée sous lumière visible. les standard utilisés : Noscapine (voie 1) , Ascopine (Voie 2) , Cafféine (Voie 4) , Peiminine (Voie 5) , Quinine (Voie 7) , Atropine (Voie 10) , Theopromine (Voie 11) , Caffeine (Voie 13) , Noscapine (Voie 15). PES (voies 3 , 6 , 9 , 12 , 14) .

I.5.3. Détermination des composés phénoliques à l'aide de l'analyse HPLC-DAD-MS

La teneur en phénols totaux de l'extrait d'acétone à 70 % a été analysée à l'aide de HPLC-HR-ESI-MS et les résultats ont permis d'obtenir trois composés, dont le trans-piceatannol (PE-1) et la scirpusines A et B (PE-2-3).

La figure 30 illustre un profil typique de HPLC-DAD-MS des constituants de la fraction acétone des graines de *P. edulis*. Cette analyse HPLC-MS a révélé la présence de composés phénoliques avec le trans-piceatannol (3,4,3',5'-tétrahydroxy-trans-stilbène) (PE-1), la scirpusine B (PE-2) et la scirpusine A (PE-3) comme constituants majeurs (**Tableau 06**).

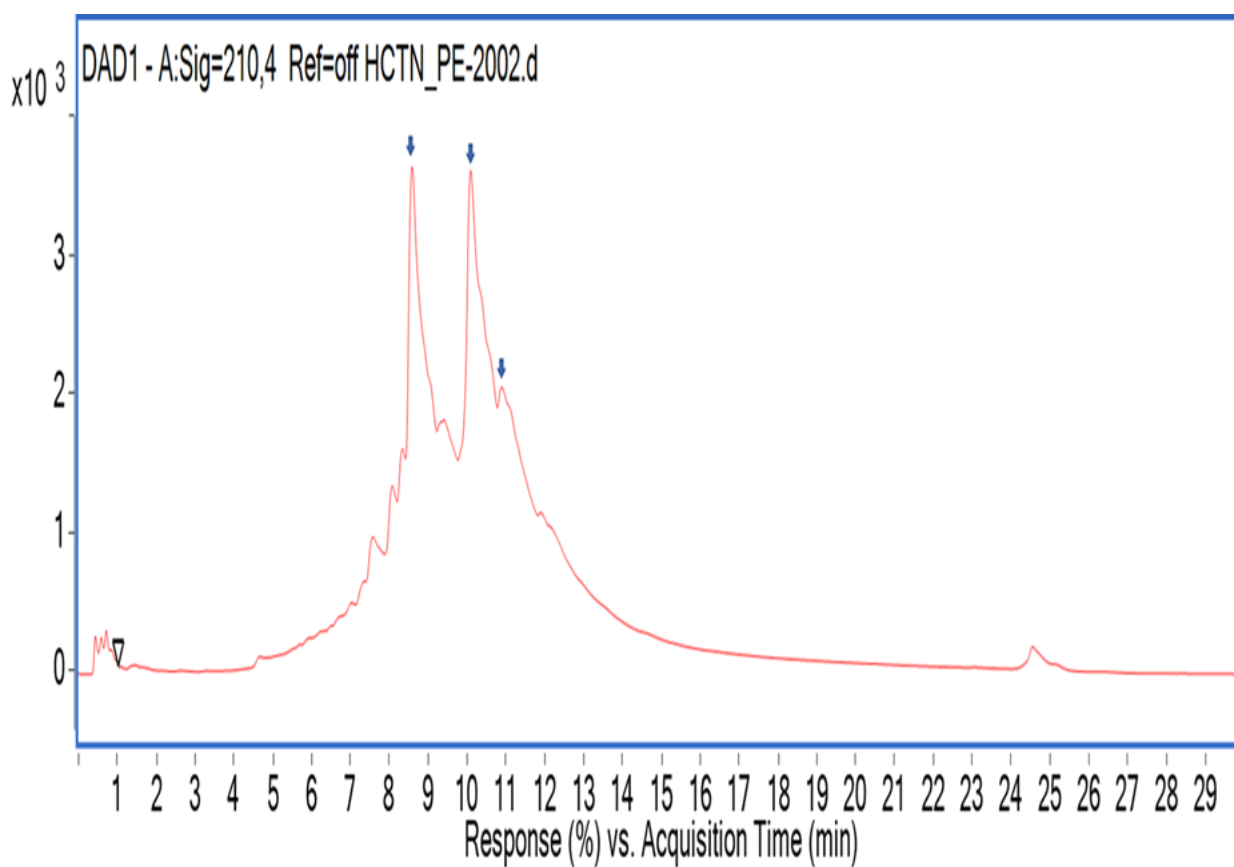
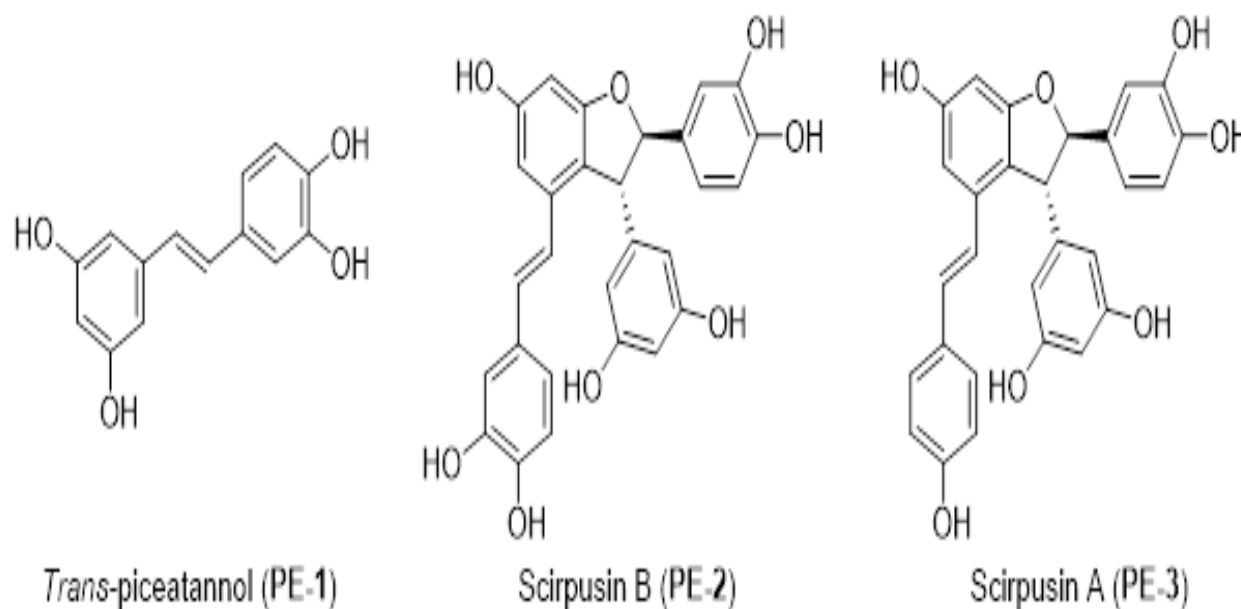


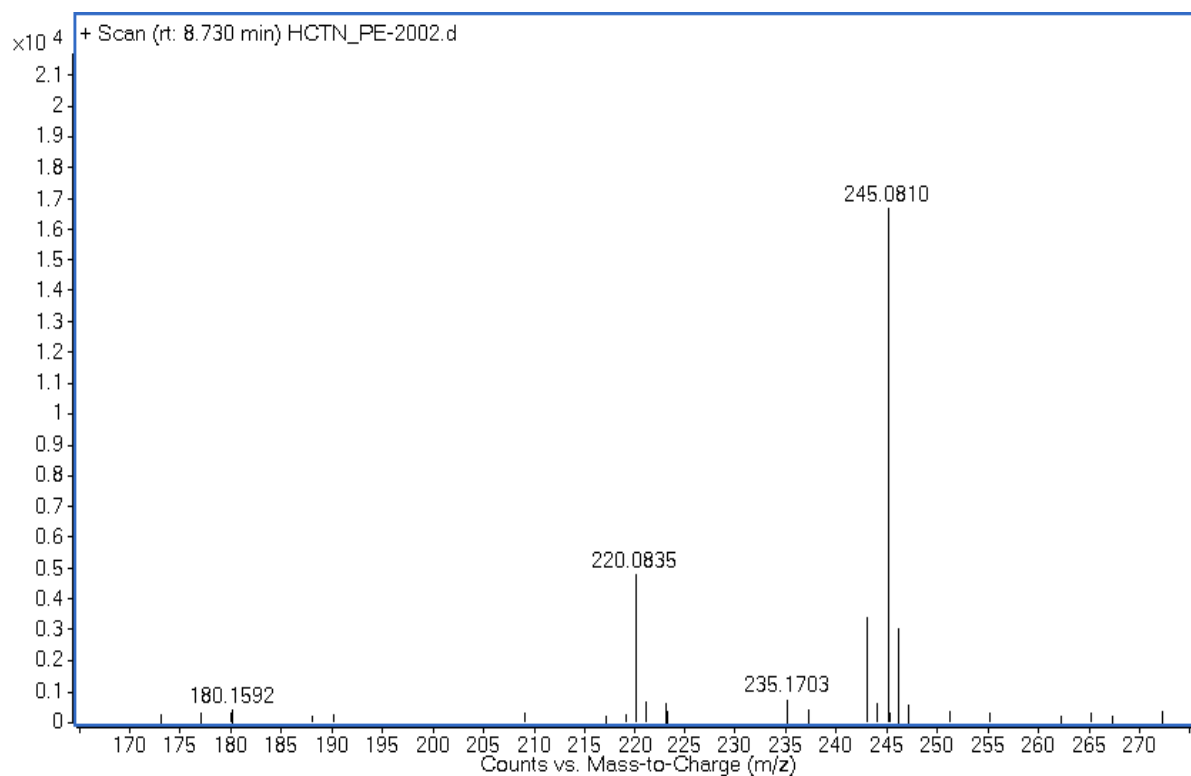
Figure 30 : Profil HPLC-DAD de la fraction PEAS à 210 nm. Le trans-piceatannol (PE-1), la scirpusine B (PE-2) et la scirpusine A (PE-3) ont été détectés comme constituants majeurs.

Tableau 06 : Composés de stilbène de la fraction de graine de *P. edulis* (PEAS) identifiés par l'analyse HPLC-DAD-MS

Pic	Rt (min)	Composée	MF / MW	[M+H]
1	8.714	trans-piacetannol (PE-1)	C ₁₄ H ₁₂ O ₄ (MW = 244)	245.0810
2	10.255	scirpusin B (PE-2)	C ₂₈ H ₂₂ O ₈ (MW = 486)	487.1391
3	11.034	scirpusin A (PE-3)	C ₂₈ H ₂₂ O ₇ (MW = 470)	471.1438

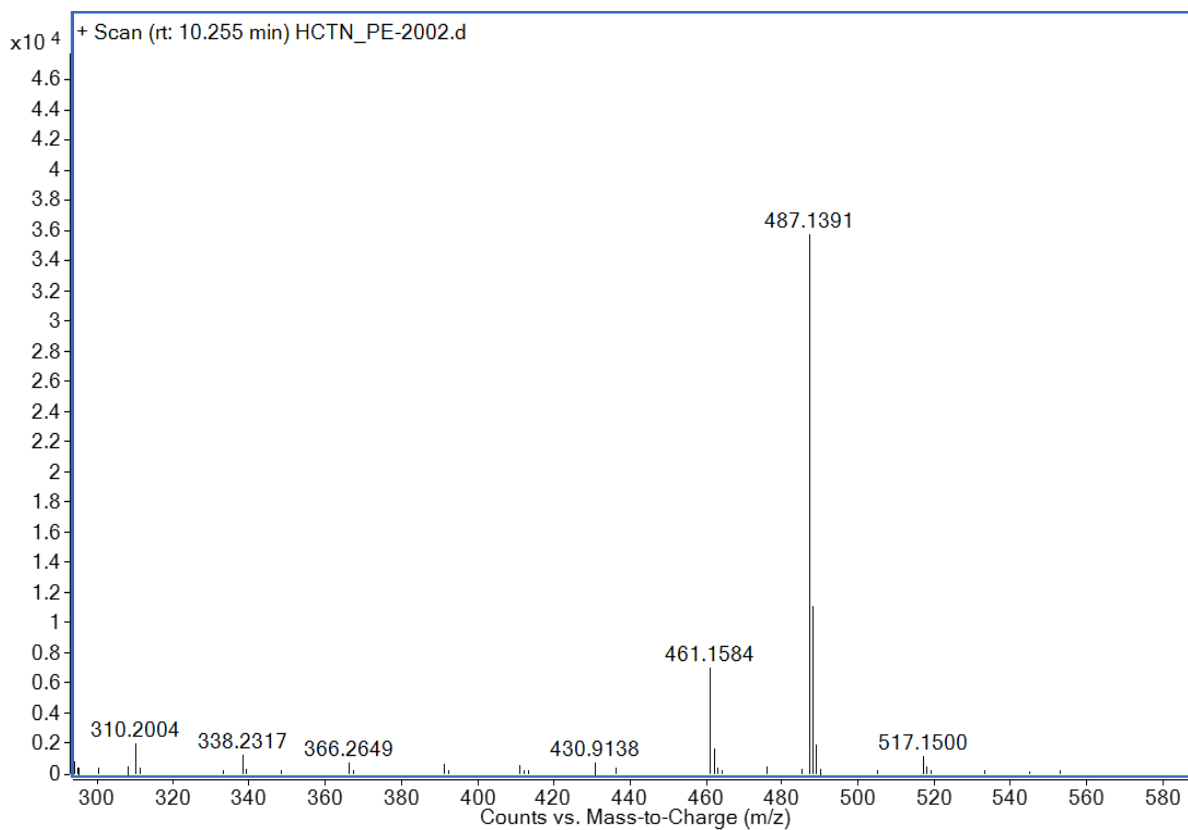
(Rt): Retention time; (MF / MW) Molecular formula / Molecular weight; (M+H)Mass spectrum (HR-ESI-MS)

**Figure 31** : Structures chimiques de 3 composés **PE1-3** détectés par HPLC-HR-ESI-MS



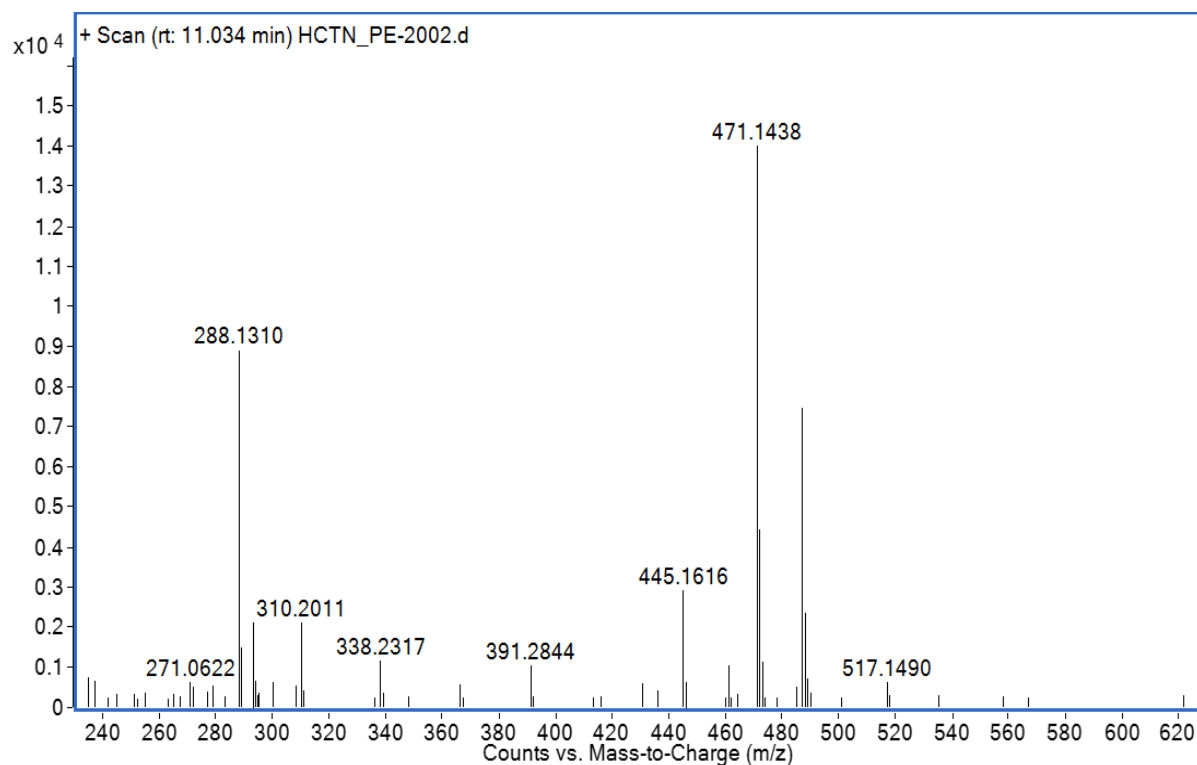
Formula (M)	Score (MFG) ▾	Mass	Mass (MFG)	m/z (Calc)
C ₁₄ H ₁₂ O ₄	99.89	244.0737	244.0736	245.0808

Figure 32 : Spectre HR-ESI-MS du trans-piceatannol ($T_R = 8,7$ min.)



Formula (M)	Score (MFG ▾)	Mass	Mass (MFG)	m/z (Calc)
C ₂₈ H ₂₂ O ₈	99.73	486.1318	486.1315	487.1387

Figure 33 : Spectre HR-ESI-MS de la scirpusine B (T_R= 10,2 min.)



Formula (M)	Score (MFG ▾)	Mass	Mass (MFG)	m/z (Calc)
C ₂₈ H ₂₂ O ₇	100	470.1365	470.1366	471.1438

Figure 34 : Spectre HR-ESI-MS de la scirpusine A (T_R= 11,0 min.)

I.5.4. Amarrage moléculaire

Sur la base de notre analyse HPLC-MS et des résultats antérieurs dans les constituants chimiques des graines de *P. edulis* débarrassées de l'huile, nous avons sélectionné cinq stilbènes ainsi que deux composés témoins positifs pour l'analyse de l'amarrage moléculaire afin de comprendre le mécanisme d'action possible et le mode d'interactions entre ces composés et deux enzymes cérébrales humaines, AChE (PDB ID : 4EY7) et BChE (ID DE LA BASE DE DONNÉES : 4BDS) (**Fig. 35**).

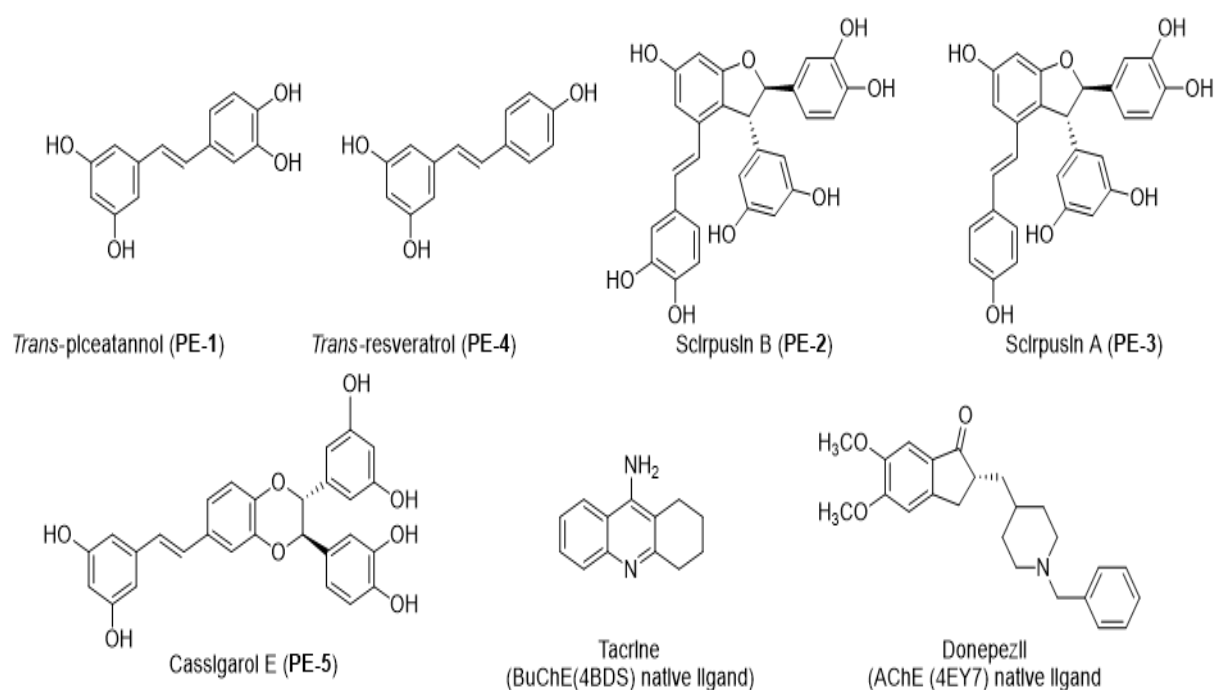


Figure 35 : Structures des stilbènes à partir des graines de *P. edulis* et les ligands natifs AChE et BChE.

Les résultats de la simulation d'amarrage, composés des paramètres d'amarrage et des interactions du réseau, y compris l'énergie de liaison G (kcal/mol), l'interaction hydrophobe, l'empilement et la CI50, préd., sont présentés dans le **tableau 07 , 08** et la **Figure 36 . 37**. Le résultat de l'analyse de l'amarrage moléculaire a indiqué que les énergies de liaison libre des composés à l'AChE et au BChE variaient entre $-7,08$ et $-11,55$ kcal/mol. Contre AChE, l'ordre des énergies de liaison négatives était le cassigarol E < la scirpusine A < la scirpusine B avec des valeurs de ΔG de $-11,55$; $-9,85$ et $-8,89$ kcal/mol, respectivement. Ces valeurs de ΔG étaient beaucoup plus faibles que celles de la tacrine témoin positive ($-8,71$ kcal/mol).

De plus, l'ordre des énergies de liaison négatives contre BChE était la scirpusine A < le cassigarol E < la scirpusine B avec des valeurs de ΔG de $-11,55$; $-10,71$; et $-9,91$ kcal/mol, respectivement. Ces valeurs de ΔG étaient plus négatives que $-9,90$ kcal/mol et inférieures à celles du donépézil témoin positif ($-9,07$ kcal/mol). Le trans-piceatannol (PE-1) et le trans-resvératrol (PE-4) ont eu une faible activité inhibitrice contre le BChE. Cassigarol E (PE-5) présentait des énergies de liaison remarquablement faibles à l'AChE et au BChE avec des valeurs G de $-11,55$ et $-10,71$ kcal/mol, et des potentiels inhibiteurs correspondants de CI50, des valeurs de préd de $0,003$ et $0,014$ M, respectivement. La scirpusine A (PE-3) a été liée aux sites actifs de l'AChE avec une énergie de liaison G de $-9,85$ kcal/mol et une IC50, valeur préd. De $0,059$ M. De plus, il possédait l'énergie de liaison la plus élevée ($-11,55$ kcal/mol) et la valeur de prédation IC50 la plus faible de $0,003$ M.

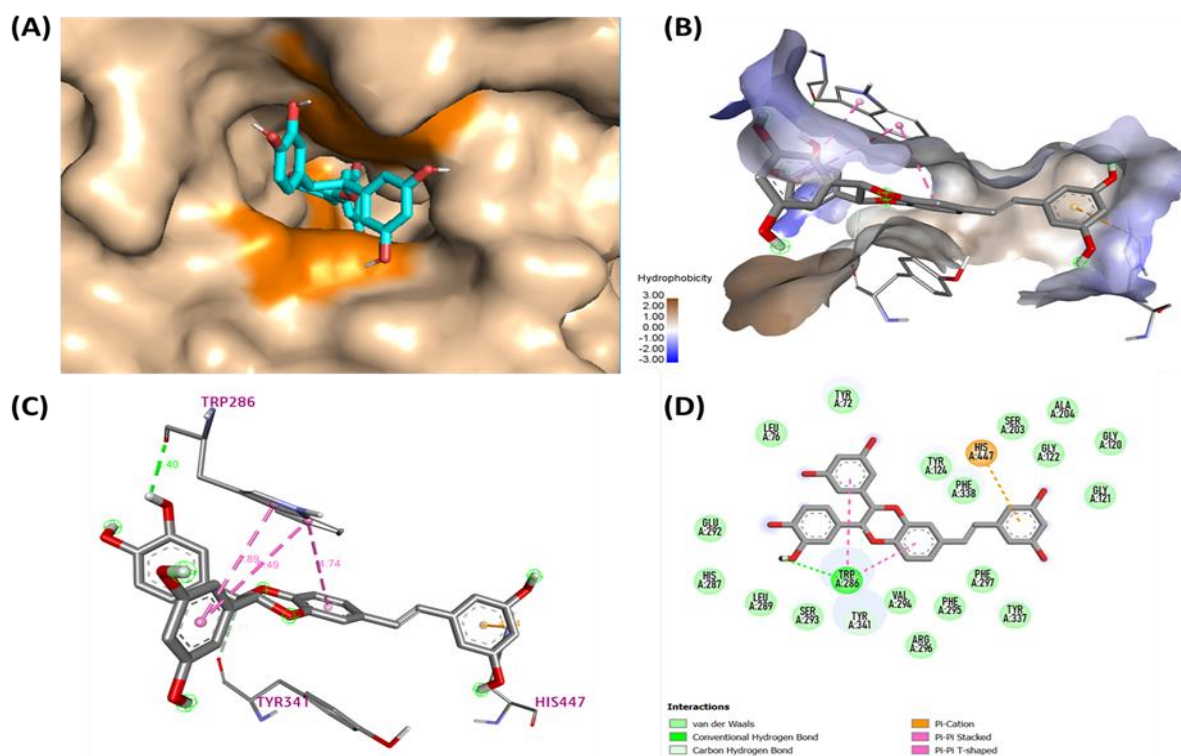


Figure 36 : Mode de liaison prédit pour le cassigarol E avec hAChE (code PDB : 4EY7) (A) Vue du sommet de la gorge du site actif, montrant le cassigarol E sous forme de bâtonnets cyan, liés au site anionique périphérique de hAChE. (B) Le diagramme 3D de la surface de l'hydrophobicité entre hAChE et les substrats, (C) Le diagramme 3D des interactions entre hAChE et cassigarol E. (D) Le diagramme 2D des interactions entre hAChE et cassigarol E a été décrit sous forme de lignes pointillées de différentes couleurs : vert : liaison hydrogène ; rose : π -empilable et violet : $-\sigma\pi\pi$

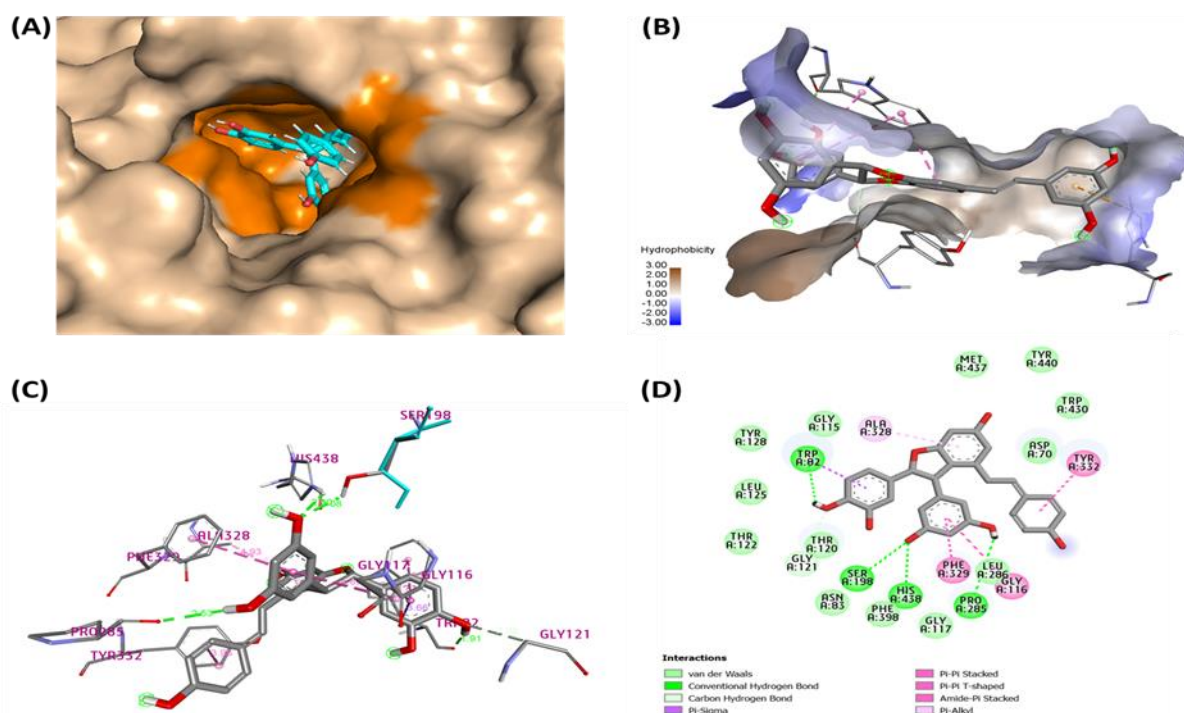


Figure 37 : Mode de liaison prédit pour la scirpusine A avec hBChE (code PDB : 4BDS) (A) Vue du haut de la gorge de liaison, montrant la scirpusine A sous forme de bâtonnets cyan, liés au site actif de hBChE via les interactions ALA328, PHE329, GLY116, TYR332. (B) Le diagramme 3D de surface de l'hydrophobicité entre hBChE et les substrats, (C) Le diagramme 3D des interactions entre hBChE et la scirpusine A. (D) Le diagramme 2D des interactions entre hBChE et la scirpusine A a été décrit sous forme de lignes pointillées de différentes couleurs : vert : liaison hydrogène ; rose : π - π empilement ; et orange : π -cation.

Tableau 07 : Amarrage moléculaire des composés PE-1–5 avec AchE.

No	Composé	AchE			
		Énergie de liaison (Kcal /mol)	IC50, préd. (µM)	Résidus de liaison en H	Résidus d'interaction hydrophobe
PE-1	Trans-piceatannol	-8.833	0.332	ARG296, TYR341	TYR341, TYR337
PE-2	Scirpusin B	-8.89	0.302	SER293, TYR124	TRP286
PE-3	Scirpusin A	-9.855 0.059	ASN283	ASN283, TRP286, TYR72 HIS287,	TYR341, TRP286
PE-4	Trans-resveratrol	-8.773,	0.368	ASP74	TYR341 , TYR337, PHE338, TRP286
PE-5	Cassigarol E	-11.55	0.003	TRP286	TRP286, HIS447
P-6	Donepezil	-11.36*	0.005	PHE295	Trp286, TYR341, PHE338, TYR337, TRP86
P-7	Tacrine	-8.712**	0.408	TYR341, SER293	PHE338, TRP286

Tableau 08 : Amarrage moléculaire des composés PE-1–5 avec BChE.

No	Compound	BchE			
		Binding energy (Kcal /mol)	IC50,pred. (μ M)	H-bonding residues	Hydrophobic interaction residues
PE-1	Trans- piceatannol	-7.158	5.623	LEU286	TRP231, PHE329, ALA328, TRP82
PE-2	Scirpusin B	-9.912	0.054 -	-	TYR332, PHE329, ALA328, HIS438
PE-3	Scirpusin A	-11.55	0.003	TRP82, SER198, HIS438, PRO285	ALA328, PHE329, GLY116, TYR332
PE-4	Trans- resveratrol	-7.084	6.372	-	-
PE-5	Cassigarol E	-10.71	0.014	TRP82, GLU197	GLY115, ALA277, ALA328, TRP82
P-6	Donepezil	-9.074*	0.221	-	TRP82, PHE329, LEU286, GLU197
P-7	Tacrine	-8.208**	0.955	-	TRP82, ALA328

I.6. Discussion

Les graines de passion violettes séchées et réduites en poudre ont été dégraissées par trempage dans du n-hexane à température ambiante à l'aide d'un sonicateur pour produire l'extrait de n-hexane et les graines à base d'huile. Grâce à l'étude de la littérature et à des expériences préliminaires sur l'extraction de graines de fruit de la passion avec différents solvants tels que le MeOH, l'EtOH à 96 % et l'acétone/eau de différents ratios, nous avons constaté que l'extrait aqueux d'acétone à 70 % donnait le rendement le plus élevé en composés phénoliques (données non présentées). Par conséquent, les graines dégraissées ont été extraites avec 70 % d'acétone dans l'eau, ce qui a permis d'obtenir la fraction d'acétone pour une évaluation biologique plus approfondie. Par rapport à d'autres résultats publiés,

La teneur en phénols totaux dans la fraction acétone des graines dégraissées de fruit de la passion pourpre de notre étude était relativement élevée à $413,87 \pm 1,71$ mg EAG/g.

Nos résultats sont soutenus par les travaux de [Kawakami, S et al., 2021 ; Matsui, Y. et al., 2010] qu'ils ont indiqué que l'analyse des teneurs totales en polyphénols dans la peau, la pulpe et les graines de *P. edulis* montre 88% des polyphénols totaux se trouvaient dans les graines. Divers polyphénols (y compris les stilbènes) ont été isolés et identifiés à partir de graines.

Goud et al ont rapporté en 2021 que le TCP des graines (non dégraissées) du fruit de la passion pourpre du nord-est de l'Inde par différents solvants (EtOAc, eau, acétone, MeOH) variait de 31 à 55 mg GAE/g d'extrait [Purohit, S et al., 2021]. Avec différentes méthodes d'extraction telle que l'extraction éthanolique, Acide oléanolique Yepes, A et al en 2021 [Yepes, A et al., 2021] a montré que la teneur des phénols est élevée ($0,32 \pm 0,04$ g d'extrait GA/g) qu'est similaire à celle rapportée par [Oliveira et al., 2016], qui ont mis en évidence une teneur de $0,39 \pm 0,1$ g d'extrait de GA/g de graines de fruit de la passion dégraissées.

Par contre Purohit, S et al 2021 [Purohit, S et al 2021] a enregistré que les extraits au méthanol du fruit de la passion pourpre et jaune du nord-est de l'Inde par différents solvants (EtOAc, eau, acétone, MeOH) ont la teneur en phénols totaux la plus élevée, suivis de leur extrait d'acétone respectif. Tous les extraits d'acétate d'éthyle et aqueux présentaient également la valeur la plus faible de TPC. Les extraits méthanoliques de YPFR et d'YPFS ont montré des TCP de l'ordre de $66,52 \pm 4,36$ mg GAE/g d'extrait et de $62,30 \pm 9,07$ mg GAE/g d'extrait, respectivement, ce

qui était supérieur à l'extrait méthanolique de PPR (61,37±1,90) et de PPF (54,63±0,23). Oxydation dans les huiles et les aliments gras [Kaur, C., & Kapoor, H. C. (2002), Rumbaoa, R. G. O et al., 2009], ce qui améliore la qualité des aliments en prolongeant la durée de conservation des aliments. C'est également un fait bien documenté que les composés phénoliques de différents extraits de plantes présentent des propriétés antimicrobiennes et antifongiques [Manach, C et al., 2004, A Moure et al 2001].

Diverses techniques d'extraction, notamment la macération (MAC), l'extraction par lixiviation assistée par ultrasons (UE) et l'extraction par fluide supercritique (SFE), ont également été utilisées pour améliorer la production polyphénolique à partir des graines de fruit de la passion.

[Purohit et al., 2021] a indiqué que la teneur la plus élevée en TPC a été observée avec un extrait d'EtOH à 50 % avec des valeurs (mg GAE eq/g d'extrait) de 284 (MAC), 336 (UE) provenant du tourteau et 142 (MAC), 61,3 (UE) provenant des graines [Oliveira, D. A et al., 2016]. La teneur en TPC était supérieure à celle de la fraction acétone des graines de *P. subpeltata* récoltées en Inde (340,70 mg GAE/g d'extrait) pour les résultats de [Saravanan, S., & Parimelazhagan, T. 2013].

[Purohit, S et al., 2021] ont rapporté que L'extrait méthanolique d'YPPR (73,38±2,04 mg QUE/g) et l'extrait d'acétone de PPR (71,72±2,04 mg QUE/g) présentaient la teneur totale en flavonoïdes la plus élevée parmi tous les autres extraits avec différents solvants d'extraction.

Les flavonoïdes sont des substances thermolabiles et cela pourrait être la raison du rendement significativement inférieur des flavonoïdes dans l'extrait aqueux. Sur le contenu du TCF .

L'extrait d'écorce de fruit de la passion jaune et violet avait des teneurs en flavonoïdes plus élevées que leurs graines. Flavonoïdes ont de nombreuses propriétés bénéfiques pour la santé en raison de leur potentiel antioxydant élevé et aident à induire de nombreux systèmes enzymatiques protecteurs humains cruciaux. Les effets protecteurs des flavonoïdes ont été discutés dans de nombreuses études en tant qu'agent antibactérien et antiviral [Pandey, A. K. 2007]. En dehors de cela, les flavonoïdes ont également un rôle potentiel dans les maladies dégénératives comme les cancers et les troubles cardiovasculaires [Cook, N. C., & Samman, S. (1996). Rice-evans, C. A].

Les travaux de le même auteur sur le contenu des TPC à partir de l'analyse ANOVA. L'analyse phytochimique qualitative a également corroboré la présence de composés phénoliques, ce qui est attribuable à la présence de tanins. Les tanins sont largement attribués dans le traitement de différentes maladies comme la déficience immunitaire, le carcinome, les maladies cardiaques, etc. [**Kähkönen, M. P. 1999**].

La méthode HPTLC optimisée a été en place pour obtenir le profil phénolique dans l'extrait des graines de *Passiflora edulis*. La visualisation de la plaque CCM après la dérivation avec le réactif Fast blue B (pour les acides phénolique) , les réactif NP et PEG (pour les flavonoïdes) , le réactif 10 % acide sulfurique (pour les terpenoïdes) , le réactif Dragendorff's (pour les alcaloïdes) dans le but de améliorer la fluorescence des composés séparés à lumière visible et UV 366 .de l'extrait .

Les motifs de couleur des composés phénoliques détectés dans les chromatogrammes HPTLC avec la lumière visible et UV366 à l'aide de réactifs de visualisation ont permis un regroupement préliminaire de ceux-ci par familles/classes [**Karthika et PulSamy, 2015**].

La coloration des taches jaune orangé, brun-vert terne et violet-rouge-orange est caractéristique des flavonoïdes, des flavones et des anthocyanes sous la lumière UV, respectivement [**Stanek et Jasicka-Misiak, 2018 ; Karthika et PulSamy, 2015**].

L'acide caféique, l'acide p-coumarique, l'acide chlorogénique et l'acide férulique sont détectés sous forme de taches bleu clair et bleu foncé, tandis que certains phénols simples tels que l'acide gallique n'ont pas de fluorescence sous la lumière UV et se présentent sous forme de taches absorbantes sombres [**Stanek et Jasicka-Misiak, 2018**].

Les chromatogrammes HPTLC obtenus ont démontré que plusieurs composés phénoliques pouvaient être séparés, les résultats ont montré que l'extrait des graines de *Passiflora edulis* analysées par HPTLC présentaient des bandes colorés dominats, suivies des bandes brunes et jaunes mouve, rouge qui correspondent aux acides phénoliques et des bandes de couleurs jaune, rouge, orange et verte qui correspondent aux flavonoïdes. Des bandes de couleurs vert, bleu, marron qui correspondent aux terpenoïdes et bandes jaunes qui correspondent aux alcaloïdes

D'après les résultats de notre étude le dosage des flavonoïdes a marqué une teneur élevée dans les graines de *Passiflora edulis*, ces résultats a été confirmé avec notre études HPTLC

Divers flavonoïdes ont été détectés dans les graines de passiflora edulis telle que spiranosoides, Apigenin, isoquersitine, taxifola, quercitine dihydrat et Naringin et Baicalein, avec d'autre méthodes et solvants d'extraction plusieurs étude a été mené pour identifier les flavonoïdes des graines de passiflora edulis puisque le solvant et les méthodes d'extraction sont différents donc les flavonoïdes extraits ce n'est pas les mêmes.

[Dos Santos, L. C et al., 2021]. Ces études ont confirmé que l'extrait des graines de PE riche en flavonoïdes telle que la taxifoline, d'autre part **[Saito, S et al., 2017]** a signalé que la taxifoline a également été associée à des effets thérapeutiques contre la maladie d'Alzheimer. Les auteurs ont trouvé des résultats très prometteurs car la taxifoline empêchait la détérioration cérébro-vasculaire chez la souris, observant également une diminution des dépôts de β amyloïde chez les souris traitées avec ce phénolique. **[Saito, S et al.,2017]**

Lorsque les flavonoïdes sont extraits avec l'éthanol Des aglycones telles que l'épicatéchine, la quercétine et le kaempférol, ainsi que des glycosides tels que la rutine, l'iso quercétine, la malvidine 3,5-diglucoside, l'orientine, l'isoorientine, la vitexine et l'isovitexine, ont été détectés dans les graines de P. edulis **[Dos Reis, L. C. R al., 2018, Yamamoto, T et al.,2018, Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M. (2013), Rodríguez, Á. A. J et al., 2021]**.

[Dos Reis, L. C. R et al., 2018] a trouvé que le flavonoïdes kaempférol est relativement élevé à 3,75 mg/g des graines. Le kaempférol a diverses fonctions physiologiques telles que des propriétés anticancéreuses, antioxydantes, anti-inflammatoires et neuroprotectrices **[Imran, M et al., 2019]**. Un autre flavonoïde contenait 421,56 et 341,59 $\mu\text{g/g}$ de graines d'isovitexine et de vitexine, respectivement **[Rodríguez, Á. A. J et al., 2021]**.

Un autre flavonoïde contenait 421,56 et 341,59 $\mu\text{g/g}$ de graines d'isovitexine et de vitexine, respectivement **[Rodríguez, Á. A. J et al., 2021]**. Des composés tels que l'isoorientine, l'isovitexine et l'orientine ont également été détectés dans des pelures de P. edulis **[da Silva Francischini, D et al 2020]** et des extraits de feuilles **[Alves, J. S. F et al., 2020]**, ce qui suggère que ces composés sont largement localisés dans diverses parties de P. edulis ainsi que les graines **[Kawakami, S et al.,2021]**

L'analyse chromatographie HPTLC a signalé aussi que l'extrait acétonique des graines de passiflora edulis est riche en acides phénolique (Resvératrol. Acide sinapique. Acide Rosmarinique. Acide Ferulique Magnolol Acide ginkgolique); en terpenoïdes (terpin monohydrate, thymol, hydroxyecalysonne, menthol) et des alcaloïdes par l'apparition des bandes jaune. Ces résultats sont similaires avec les travaux de **[Rodríguez, Á. A. J et al.,2021 ; Murillo, E., & Méndez, J. 2012.)**.

La fraction acétone contenait des stilbénoides, notamment du piceatannol (PE-1), des scirpusines A-B (PE-2-3) selon l'analyse HPLC (SI). Une composition comprenant de la scirpusine A, de la scirpusine B et du piceatannol est également présente dans les rhizomes de *Cyperus rotundus* (la fraction acétate d'éthyle) [Majeed, D. M et al., 2013] et dans les graines du fruit de la passion jaune [Pan, Z. H et al., 2020]. Malgré le fait que cette couche d'acétate d'éthyle présentait une activité anti-adipogénique dans les adipocytes de souris 3T3-L1 avec une valeur IC50 de 9,39 (mg/ml) [Majeed, D. M et al., 2013], il a été découvert que chaque constituant possédait des activités distinctes.

Les travaux réalisés par Cuong, T. D et al 2019 ont noté que le fractionnement guidé par inhibiteur de SEH a conduit à l'isolement de cinq composés phénoliques trans-resvératrol (1), trans-piceatannol (2), sulfurétine (3), (+) -balanophonine (4) et cassigarol E (5) à partir de l'extrait à l'éthanol des graines de *Passiflora edulis Sims* cultivées au Vietnam.

Le piceatannol et sa fraction dimère, la scirpusine B, présentaient de puissantes propriétés antioxydantes, vasorelaxantes, anti-artérioscléreuses et cardioprotectrices [Matsumoto, Y., & Katano, Y. 2021]. La scirpusine A, en tant que dimère d'hydroxy stilbène, a moins de groupe hydroxyle sur le cycle A2 par rapport à la scirpusine B et a montré une plus grande activité inhibitrice de l'agrégation amyloïde-bêta-peptide avec une valeur CE50 de 0,7 0,3 (M) et une activité inhibitrice de la \pm μ bêta-sécrétase [Rivière, C et al., 2010]. Les scirpusines A et B ont toutes deux des effets neuroprotecteurs en protégeant les neurones de l'hippocampe des neurotoxines induites par l'exposition chronique aux corticostéroïdes et en empêchant la formation de fibrilles amyloïdes [Sim, Y et al., 2016].

[Dos Santos, L. C et al., 2021] a défini que Les sous-produits de *Passiflora edulis* (PFBP) (les graines) sont une riche source de polyphénols, dont le piceatannol a récemment fait l'objet d'une attention particulière.

[Rège, S. D et al 2014] qui ont déclaré que le resvératrol est largement étudié dans le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Nombreux travaux ont été rapporter sur l'isolement des stilbènes des graines de *Passiflora edulis*, en particulier le piceatannol (3,30,4,50-tétrahydroxy-trans-stilbène), qui est considéré comme l'un des principaux composants des graines de P. edulis. Le piceatannol a déjà été signalé comme un puissant inhibiteur de la tyrosine kinase [Oliver, J. M et al., 1994] et est récemment devenu connu comme un activateur de la sirtuine (SIRT), qui est l'un des facteurs

qui régulent le métabolisme énergétique [Howitz, K. T. et al., 2003, Dai, H et al., 2018]. Selon des études sur la quantité de piceatannol contenue dans les graines de *P. edulis* déterminée par extraction à l'éthanol, des concentrations de 4,8 [Matsui, Y. et al., 2010], 5,7 [Sano, S et al., 2011], 13,97 [Pan, Z. H et al., 2020] et 36,8 mg [De Santana, F. C et al., 2017] par gramme de graines sèches ont été rapportées. Par conséquent, par rapport à d'autres plantes, la partie comestible des graines de *P. edulis* est riche en piceatannol. Les différences dans la teneur en piceatannol des graines de *P. edulis* rapportées entre les études (4,8 à 36,8 mg de piceatannol/g de graines sèches) peuvent être dues à des différences dans les solvants et les conditions d'extraction, ainsi que dans la région d'origine et la saison de récolte de *P. edulis*. En plus du piceatannol, le resvératrol (c'est-à-dire un activateur de SIRT) est également présent dans les graines de *P. edulis*. Le resvératrol est détecté dans l'extraction de l'éthanol et de l'acétone et serait extrait plus efficacement avec de l'acétone qu'avec de l'éthanol [Krambeck, K et al., 2020]. En outre, les graines contiennent également des dérivés du piceatannol et du resvératrol, tels que la scirpusine B, le cassigarol D, le cyperusphénol B, le cyperusphénol D, l'astringine, le piceid, le pinostilbène et la gnétine C [Pan, Z. H et al 2020, Yamamoto, T et al 2019, Sano, S et al., 2011]. La scirpusine B, le cassigarol D, le cypérusphénol B et le cypérusphénol D auraient des activités inhibitrices de la α -glucosidase [Pan, Z. H et al., 2020]. La scirpusine B, qui est un dimère du piceatannol, a également été signalée comme présentant de forts effets vasorelaxants [Sano, S et al., 2011].

Plusieurs composés classés comme acides phénoliques ont également été trouvés dans les graines de *P. edulis*. L'acide caféique, l'acide chlorogénique, l'acide férulique, l'acide gallique et l'acide rosmarinique ont été détectés dans les graines lorsqu'elles sont extraites avec du méthanol [Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M 2013]

Par contre Purohit, S [Purohit, S et al 2021], l'analyse HPLC a été effectuée pour détecter le flavanol dans les extraits d'YPF et de PPF a montré la présence de quercétine, de myricétine et de kaempférol ; Cependant, aucun des extraits n'a montré la présence d'isorhamnétine. Il a été observé que l'acide gallique était présent dans tous les extraits à des concentrations variables allant de 17,52 à 83 mg/g, principalement dans l'extrait d'acétone YPFS. L'acide caféique n'a été détecté dans aucun des extraits, tandis que l'acide férulique n'a été trouvé que dans les extraits méthanoliques de YPFR et PPFR. D'autre part, l'acide pcoumarique n'a été trouvé que dans les extraits méthanoliques de YPFS, PPFR et PPFS .

Les enzymes cérébrales humaines AChE et BChE catalysent la dégradation de l'acétylcholine (Ach), qui est essentielle à tous les processus cérébraux en tant que neurotransmetteur et

neuromodulateur. Il a été rapporté que chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, la production et la demi-vie de l'AChE sont considérablement réduites, provoquant un défaut dans les cellules cérébrales [Onoja, J. O et al., 2021]. Par conséquent, la recherche d'inhibiteurs de la cholinestérase (ChEI) capables d'inhiber l'activité enzymatique de l'AChE et de la BChE, augmentant ainsi la concentration d'ACh dans le cerveau et améliorant les troubles cognitifs, est un sujet d'un intérêt intense. Plusieurs CHEI, tels que la rivastigmine, le donépézil, la tacrine, l'huperzine-A et la galantamine, sont les premiers médicaments prescrits comme médicaments symptomatiques, en raison de l'absence de remèdes disponibles pour arrêter la progression de la MA [Miles, J. A., & Ross, B. P. 2020. Liu, S et al., 2014]. Notre modélisation informatique des enzymes AChE et BChE et l'analyse de l'interaction des ligands ont révélé que la majorité des stilbènes, en particulier le cassigarol E (PE-5) et la scirpusine A (PE-3), se lient avec une grande affinité aux régions cibles des protéines AChE et BChE et peuvent être de puissants inhibiteurs de ces enzymes.

Dans une structure de gorge profonde de 20 Å de la protéine AChE, l'analyse aux rayons X a révélé la présence d'au moins trois sites actifs. Il possède un site actif catalytique (CAS) au fond (composé de Ser203, His447 et Glu334), un site anionique périphérique (PAS) (Tyr72, Asp74, Tyr124, Glu285, Trp286 et Tyr341) à l'entrée de la gorge, un site de liaison à la choline (CBS) (Trp86, Tyr337 et Phe338) et un site de liaison anionique (ABS) (Trp86, Tyr133, Tyr337 et Tyr449) au milieu de la gorge. On sait qu'ils servent de site de liaison pour le donépézil standard et certains ligands [Liu, S et al., 2014, Maraković, N et al., 2016]

Comme le montrent les tableaux 07, 08 et la figure 8A-B, deux stilbènes simples, le trans-piceatannol (PE-1) et le trans-resvératrol (PE-4), ne possédaient que deux cycles phényles, ont montré une activité inhibitrice modérée de l'AChE avec des valeurs de CI_{50} , préd de 0,332 et 0,386 -M, respectivement, par des interactions hydrophobes avec des résidus d'acides aminés CBS/ABS et PAS, en particulier Tyr337 et Tyr341 d'AChE (Tableau 07). Cependant, ces deux composés ont montré une faible activité inhibitrice contre BChE (tableau 08) avec des valeurs de IC_{50} , pred. De 5,623 et 6,372 μ M, respectivement, indiquant son action sélective sur la protéine AChE, similaire à celle rapportée par [Dorababu, A. 2022]. Sur la base de ces résultats d'amarrage, deux stilbènes simples, le trans-piceatannol (PE-1) et le trans-resvératrol (PE-4), provenant des graines de fruit de la passion pourpre, ont été classés comme composés inhibiteurs sélectifs de l'AChE

La majorité des stilbènes (PE-1-5) ont interagi avec les résidus d'acides aminés Trp286 et Tyr341 à l'entrée de la gorge d'une manière comparable à celle de la tacrine et du donépézil.

Cassigarol E (PE-5), undimère de piceatannol piceatannol, avait la valeur G d'énergie de liaison la plus élevée de 11,55 kcal/mol et une interaction hydrophobe significative avec le résidu His447 du CAS au fond de la gorge. Cassigarol E pourrait être décrit comme un ligand de liaison au CAS et au PAS (Tableaux 07. 08) en raison des interactions avec les résidus d'acides aminés du CAS (His 447) et du PAS (TRP286) de la protéine AChE. Ces interactions étaient similaires à celles des inhibiteurs de l'AChE disponibles dans le commerce, tels que les analogues de la bistacrine et de la tacrine, ainsi que du donépézil, qui est connu pour se lier simultanément au CAS et au SAP [Maraković, N *et al.*, 2016]. Trois des quatre cycles phényles du cassigarol E ont formé une variété d'interactions avec la cible AchE, y compris une liaison hydrogène avec le résidu d'acide aminé TRP286 (2,40 Å), deux interactions d'empilement des deux cycles aromatiques du squelette de la benzo-1.4-dioxine et de la chaîne latérale 1,3-dihydroxyphényle avec le résidu d'acide aminé CAS TRP286 et une interaction cationique du cycle phényle de style avec le résidu HIS447 contenant de l'azote. Ces diverses interactions du cassigarol E avec les acides aminés CAS et PAS pourraient être des facteurs primaires d'amélioration de l'activité inhibitrice contre l'AChE humaine, avec une valeur IC₅₀, pred très faible de 0,003 M (similaire à celle du donépézil (0,005 M), mais 110 et 122 fois inférieure à celles du transpiceatannol (PE-1) et du trans-resvératrol (PE-4)), respectivement (tableaux 07. 08, Fig. 36)

En outre, le cassigarol E a démontré sa capacité à inhiber le BChE avec une faible valeur de CI₅₀, pred de 0,014 M, ce qui était 68 fois inférieur à celui du témoin positif, la tacrine (IC₅₀, pred = 0,955 M) et 401 et 455 fois inférieure à celles du trans-piceatannol (PE-1) et du trans resvératrol (PE-4), respectivement (tableaux 07. 08). Sur le plan phytochimique, le stilbène polyphénolique cassigarol E a été isolé pour la première fois à partir de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait dégraissé de graines violettes de *P. edulis* [Cuong, T. D *et al.*, 2019]

Selon les résultats de l'amarrage contre BChE, la scirpusine A (PE-3) a la valeur G d'énergie de liaison la plus faible de 11,55 kcal/mol par rapport au donépézil et à la tacrine (9,074 et 8,208 kcal/mol, respectivement) [Saravanan, S., & Parimelazhagan, T. (2013)., da Silva, F. D. A *et al* 2020]. La scirpusine A (un dimère d'hydroxy stilbène), comme le cassigarol E (un dimère de piceatannol), a quatre cycles phényliques ; cependant, contrairement au cassigarol E, tous les cycles phényles de la scirpusine A participent à diverses interactions de liaison à la cible BChE, y compris les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes. La scirpusine A (PE-3) a formé quatre liaisons hydrogène à partir de groupes phényl hydroxyle vers les résidus d'acides aminés TRP82 (1,91 Å), Ser198, HIS438 (2,10 Å) et PRO285 (2,53 Å). Ces

interactions de liaison H n'ont pas été trouvées avec le témoin positif (tacrine). Les quatre interactions hydrophobes - empilement du dimère scirpusine A ont été établies à partir de ses trois fractions phényles, dont une du groupe p-hydroxy styryl phényle au TYR332, une du cycle benzofuranyle à l'ALA328 et deux de la chaîne 1,3-dihydroxyphényle aux résidus PHE329 et GLY116, significativement différentes de celles du témoin positif (tacrine) (tableaux 07. 08) mais similaires aux résultats rapportés par Paudel et al. [Paudel, P 2019]. La dernière chaîne latérale 1,3-dihydroxyphényle possédait non seulement une liaison hydrogène, mais aussi une interaction -sigma avec TRP82. Par conséquent, la scirpusine A possédait une activité inhibitrice avec une faible IC50 nanomolaire, une valeur préd. De 0,003 contre BChE (Figure 8B), ce qui était 318 fois inférieur à celui de la tacrine (IC50, préd. = 0,955 μ M), et 1874 et 2124 fois inférieur à ceux du trans-piceatannol (PE-1) et du trans-resvératrol (PE-4), respectivement (Tableau 07.08). Tous ces résultats indiquent que deux dimères de stilbène, le cassigarol E et la scirpusine A, sont des inhibiteurs potentiels de l'AChE et de la BChE.

Cette étude est une étape préliminaire pour déterminer l'activité neuroprotectrice des parties de *Passiflora edulis* et ses compositions chimiques actives. D'après toutes les recherches (chimiques, in vivo et in silico), la fraction polyphénolique riche en stilbène à 70% d'acétone des graines de fruit de la passion (PEAS) a démontré une action anti-Alzheimer élevée et mérite d'être étudiée à l'avenir pour la prévention ou le traitement de la maladie d'Alzheimer. Cependant, des expériences supplémentaires telles que l'activité inhibitrice in vitro contre la cholinestérase et contre le dépôt du peptide -amyloïde et la dégénérescence des neurones cérébraux de la composition du stilbène devraient être faites afin de mieux comprendre leur mécanisme exact d'action thérapeutique et de le développer davantage en tant que candidat médicament pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Etude de [Wen, H et al., 2018] ont indiqué que les stilbénoides possèdent une activité neuroprotectrice. De plus, de nombreuses études ont montré que l'activité antioxydante et antiproliférative des stilbénoides est liée à leur structure chimique [Cai, Y. J et al., 2004, Murias, M et al., 2005, Fulda, S. 2010].

I.7. L'évaluation des activités Biologique

I.7.1. Détermination de l'activité antioxydante

I.7.1.1. Matériels et méthode

I.7.1.1.1. Activité antioxydante de l'extrait des graines de *passiflora edulis* par l'effet scavenger du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

➤ **Principe :**

L'effet piègeur ou le pouvoir antiradicalaire de l'extrait des graines de *passiflora edulis* a été déterminé par la méthode du DPPH selon le protocole [Lekhal et al., 2011].

Le DPPH c'est un radical libre relativement stable en présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette, se réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine, de couleur jaune [Bozin et al. 2008]. Quand une solution de DPPH 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl est mélangée avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène, antioxydante, il y'a formation de la forme réduite 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine (Figure 38). Ceci provoque la perte de la coloration violette en coloration jaune caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm.

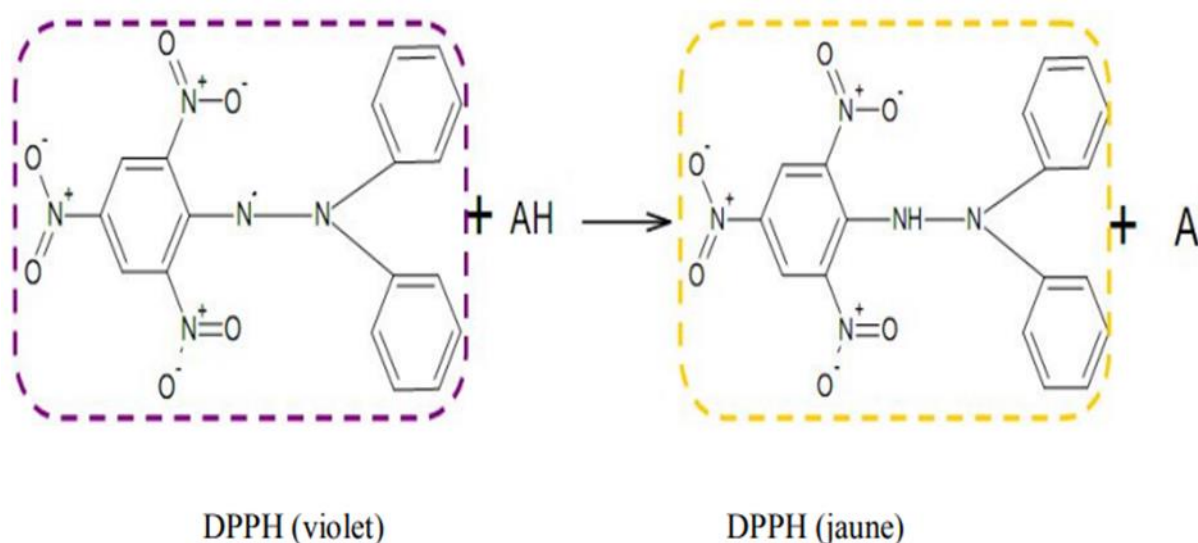


Figure 38 : Structure chimique du radical DPPH[•] et de sa forme réduite

➤ **Protocole :**

Sur une microplaque à 96 puits, un volume de 160µl de la solution de DPPH (0.1mM) est mélangé avec 40 µl de l'échantillon à différentes concentrations, pour chaque concentration le test est effectué en 3 exemplaires, le mélange réactionnel a été maintenu à l'abri de la lumière et à température ambiante, les absorbances ont été mesurées à 517 nm. Le contrôle positif est présenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique préparé dans les mêmes conditions que l'échantillon pour tracer la courbe d'étalonnage.

Les plus faibles valeurs d'absorbances indiquent une activité de piégeage des radicaux libres supérieure, L'activité antioxydante, qui exprime la capacité de piéger le radical DPPH° a été estimée par le pourcentage d'inhibition de DPPH.

Le pourcentage d'inhibition (PI%) est calculé par la relation suivante :

$$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test) / Abs\ contrôle] \times 100$$

Abs contrôle : est l'absorbance de la réaction ne contenant que le réactif.

Abs test : est l'absorbance de la réaction contenant le réactif et l'extrait.

I.7.1.1.2. Activité antioxydante de l'extrait des graines de passiflora edulis par l'effet scavenger du radical FRAP, Ferric Reducing Antioxydant Power :

Le pouvoir réducteur de l'extrait est déterminé selon la méthode [Benzie et strain, 1996] et [Pulido et al., 2000, Agbodan et al., 2014], avec quelque modification, cette méthode est basée sur la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe (III)-TPTZ)₂] en un complexe tripyridyltriazine ferreux [(Fe (II)-TPTZ)₂] par un antioxydant (AH) à un pH de 3,6 pour maintenir la solubilité du fer (Fig. 39).

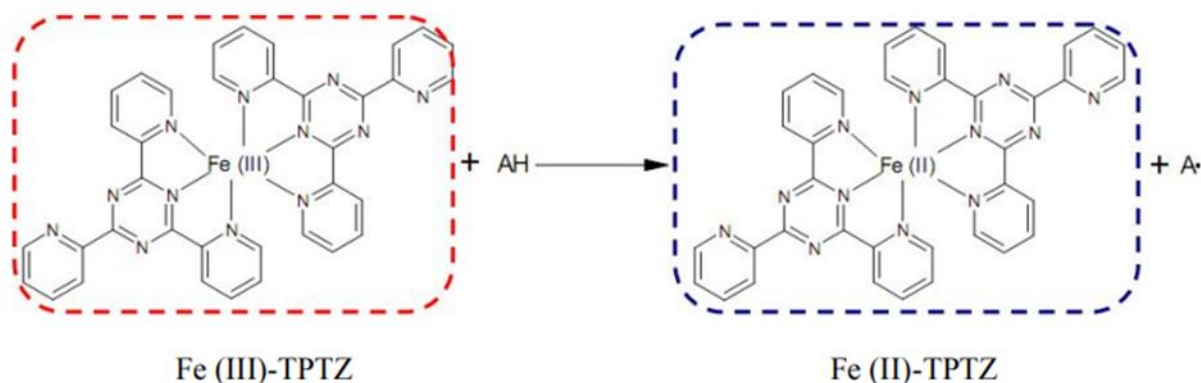


Figure 39 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe (III)-TPTZ et un antioxydant (AH).

➤ Protocole

Le réactif FRAP a été produit par réaction dans un rapport de volume 10.1.1 des trois solutions suivantes : une solution d'acétate de sodium 300mM et pH =3.6, une solution de TPTZ (2,4,6-Tris (2-pyridyl) -s-triazine) à 10mM (HCl 40 mM comme un solvant) et une solution de FeCl₃ à 20mM, puis le mélange réactionnel FRAP est conservé dans un bain à 37 °C le test consiste à faire réagir, un volume de 50µl de l'extrait a été mélangé avec 1500µl de réactif de FRAP. Le mélange a ensuite été incubé à température ambiante et dans l'obscurité pendant 6 min, les absorbances sont mesurées à 594 nm. En parallèle, le Sulfate De Fer Heptahydraté FeSO₄ 7H₂O à différentes concentrations est utilisés comme contrôles positifs dans les mêmes conditions opératoires.

L'inhibition des radicaux libres FRAP en pourcentage a été déterminée à l'aide de la même équation précédemment utilisée pour la méthode DPPH.

I.7.1.1.3. Activité antioxydante de l'extrait des graines de passiflora edulis par l'effet scavenger du radical libre ABTS L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) :

Dans la méthode TEAC (Trolox équivalent antioxydant capacité) est basé sur la capacité d'un échantillon à piéger ou transformer le radicale cation ABTS*⁺ (couleur bleu-vert) en ABTS*⁺ moins coloré et plus stable, cette décoloration est quantifiée par spectrophotomètre à 734 nm.

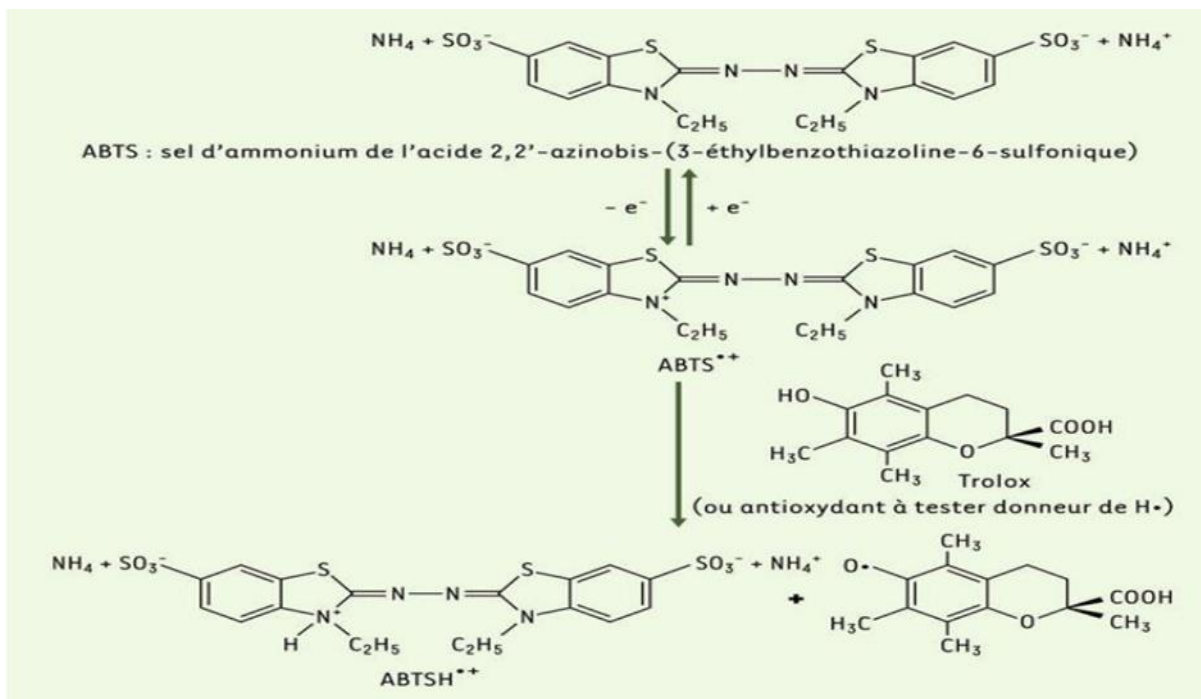


Figure 40 : Formation et piégeage du radical ABTS*+ par un antioxydant donneur de H.

[Marc *et al.*, 2004]

➤ Protocole

L'analyse spectrophotométrique du piégeage du radical ABTS*+ a été déterminée par la méthode Re et al 1999. Le radical ABTS*+ est obtenu à partir de la réaction d'ABTS à 7mM et persulfate de potassium 2.45mM, ce mélange a été obtenu dans l'obscurité à température ambiante pendant 12h, puis cette solution a été diluée jusqu'à l'obtention d'une absorbance de 0.708 ± 0.025 nm avant l'utilisation, dans une microplaque à 96 puits, 160µl d'ABTS*+ a été mélangé avec 40µl de différentes concentrations de l'extrait. Après 10 min d'incubation les absorbances ont été mesurées à 734 nm en utilisant un lecteur de microplaque à 96 puits.

La courbe d'étalonnage est tracée le trolox (un antioxydant standard) qui est préparé sous les mêmes conditions que l'extrait.

Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS*+ est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{ABTS (\%)} = \frac{(\text{A controle} - \text{A extrait})}{\text{A controle}} \times 100$$

I.7.1.2. Résultats

Il existe de nombreuses méthodes de l'activité antioxydante qui diffèrent sur le plan de leurs principes d'analyse et les conditions expérimentales et les antioxydants ont des contributions différentes au potentiel antioxydant totale (**Wojdyło et al., 2007**). Pour cette raison l'utilisation de plusieurs tests antioxydants complémentaires est utile afin d'évaluer le potentiel antioxydant de l'extrait des graines de *Passiflora edulis*.

Dans notre travail nous avons utilisé Trois méthodes pour évaluer l'activité antioxydante in vitro de *passiflora edulis* à savoir : DPPH, ABTS, FRAP. Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que les radicaux libres ou les complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capables d'inhiber la génération de radicaux. Ces antioxydants peuvent agir selon deux mécanismes majeurs : soit par transfert d'atomes d'hydrogène, soit par transfert d'électrons [**Prior et al., 2005**].

La concentration inhibitrice IC50 a été calculée par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)]. Ce paramètre est défini comme étant la concentration efficace de l'extrait capable de piéger 50 % des radicaux libres du mélange réactionnel, où l'activité la plus forte correspond à L'IC50 la plus faible.

I.7.1.2.1. Test de piégeage du radical libre 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) :

La capacité antioxydante totale de l'extraits est calculée à partir de la courbe d'étalonnage, établie en utilisant l'acide ascorbique comme antioxydant de référence, cette courbe à pour équation la formule suivante $16.437x - 3.614$ avec un R^2 0.9991, les valeurs importantes des absorbances obtenues indiquent la forte capacité antioxydante de cette molécule standard (Acide Ascorbique).

Les résultats de l'activité de piégeage des radicaux libre DPPH de notre extrait acétonique des graines de *passiflora edulis* montrent que PES présente des capacité antioxydantes très important un pourcentage de 47.12 % avec un IC50 de 6.12 $\mu\text{g/ml}$

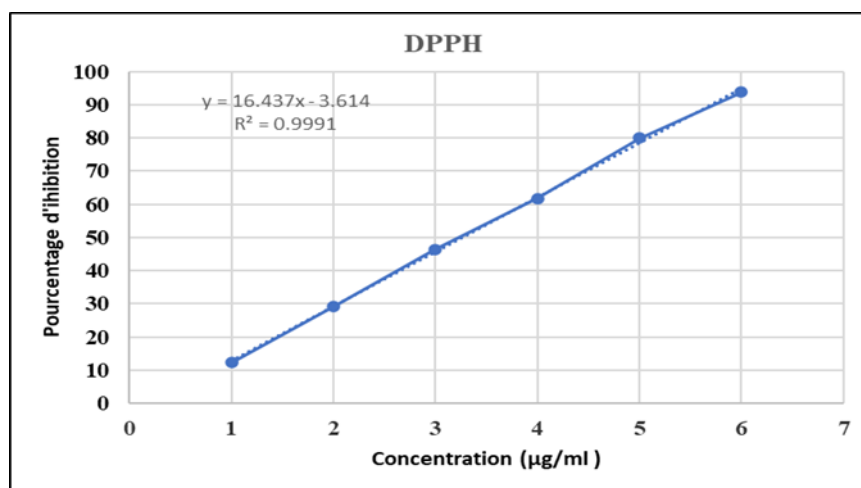


Figure 41 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la détermination de la capacité antioxydante de *Passiflora edulis*.

I.7.1.2.2. Activité de piégeage vers l'ABTS*+

La capacité antioxydante de l'extrait acétonique des graines de *Passiflora edulis* a été évaluée par le test des radicaux libre ABTS+. Nos résultats ont révélé que l'extrait des graines de passiflora edulis a un pouvoir antioxydant élevée 34.18% et un IC50 de 6.82 µg/ml.

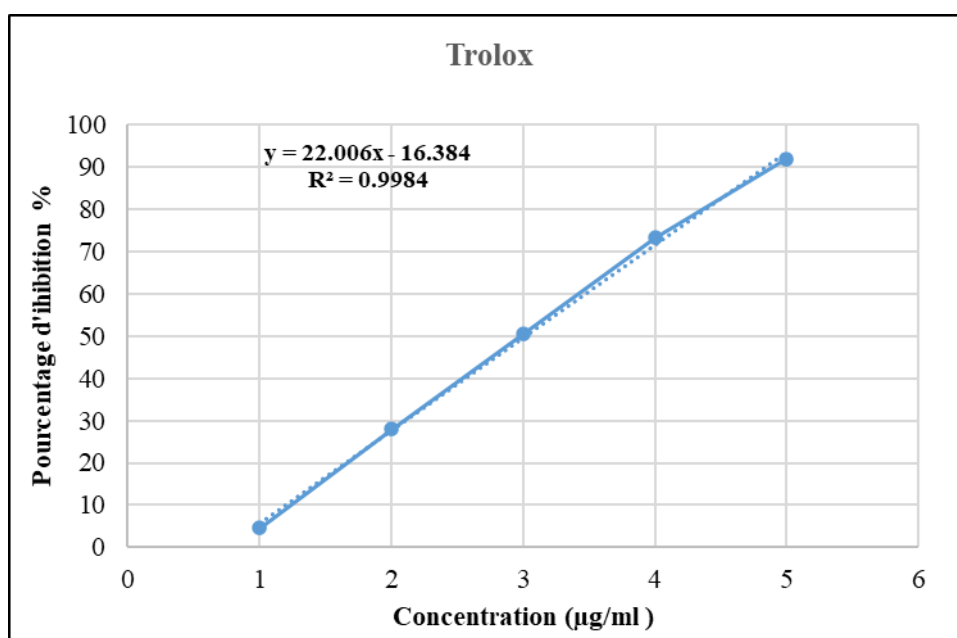


Figure 42 : Courbe d'étalonnage de Trolox pour la détermination de la capacité antioxydante de *Passiflora edulis*.

I.7.1.2.3. Détermination du pouvoir antioxydant du Fer

L'activité antioxydante de l'extrait des graines de passiflora edulis a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP, C'est une méthode de mesure de la puissance de l'extrait à réduire le Fe⁺³ en fer ferreux Fe⁺² qui est l'un des mécanismes antioxydants. C'est une technique rapide, facile et reproductible [Karagözler et al., 2008]. Beaucoup de publications actuelles ont indiqué qu'il y a une relation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants de quelques plantes [Bentabet et al., 2014]. Les résultats obtenus 24.36 ± 1.890 montre que l'extrait a un pouvoir antioxydant et chélateur du fer élevé.

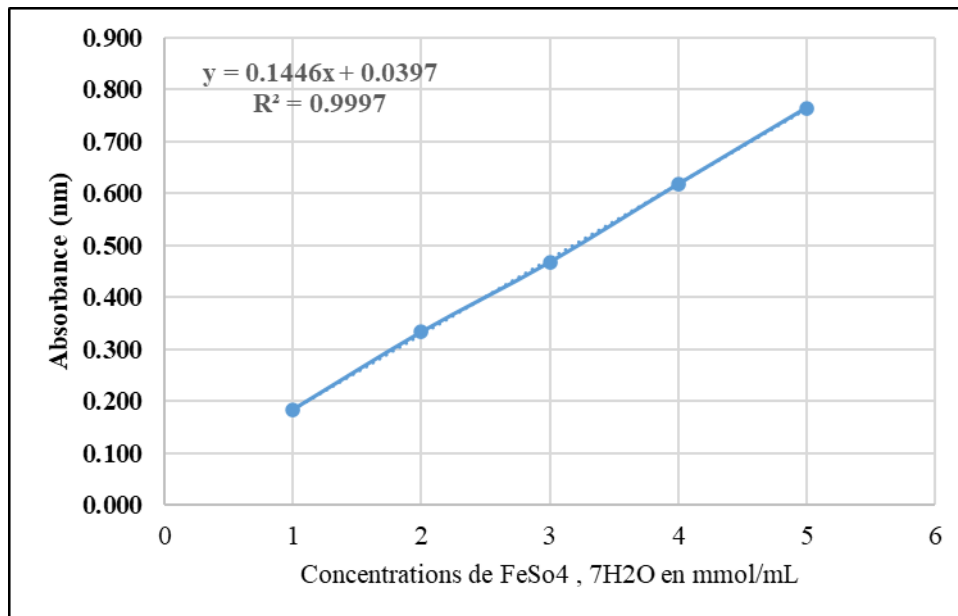


Figure 43 : Courbe d'étalonnage du sulfate ferreux heptahydraté (FeSO₄.7H₂O).

I.7.1.3. Discussion

Passiflora edulis à croûte violette ayant une saveur douce et caractéristique est cultivé et considéré comme l'un des fruits économiques de la Thaïlande. Il a été promu dans le nord du pays, notamment à Chiang Rai où la 2^{ème} usine royale de transformation alimentaire a été lancée. Les activités de production de fruits ont été réalisées dans des jus prêts à boire et concentrés, ce qui donne le résidu comprend des graines. La préparation de l'antioxydant récupéré à partir de graines de fruit de la passion est un défi pour minimiser l'impact environnemental et améliorer l'évaluation des suppléments à faible coût pour la promotion de la santé y compris les cosmétiques [de Oliveira, A. C 2009 ; Schieber, A et al., 2001].

En ce qui concerne les valeurs obtenues à partir de cette étude, il est important de mentionner qu'il existe une diversité de protocoles d'extraction qui rendent difficile la comparaison des résultats avec des autres travaux et même certains auteurs ont montré que la concentration en phénols peut être augmentée lorsque différentes variables associées au processus d'extraction sont optimisées [de Santana et al., 2017].

Par exemple les résultats de [Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M. 2013] ont indiqué que l'extrait de graines de fruit de la passion obtenu à partir de résidus de production de jus (graines) par reflux méthanolique et par une autre partition liquide-liquide, a montré une action différentielle en fonction de la polarité de la fraction, étant l'antioxydant le plus puissant de la fraction EtOAc ($IC_{50} \text{ DPPH} = 2,7 \pm 0,2$).

L'analyse qualitative et quantitative d'extraits acétoniques a détecté une teneur significative en composés phénoliques et flavonoïdes, ce qui a permis d'améliorer le potentiel antioxydant d'extraits. L'effet antiradicalaire significatif des échantillons a également été observé avec la forte capacité de piégeage de l'extrait des graines de *passiflora edulis* sur les radicaux libres DPPH FRAP ABTS. Le radical DPPH a la couleur violette et l'ABTS la couleur verte. Avec l'ajout de l'extrait radical de fruit, le DPPH et l'ABTS sont réduits, présentant une couleur jaune, avec pour conséquence la disparition de l'absorption. À partir des résultats, il détermine le pourcentage d'activité antioxydante et de piégeage des radicaux libres.

Le test DPPH est basé sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical du DPPH, un radical libre stable contenant un électron impair, qui est responsable d'une forte bande d'absorption à 515-520 nm. En présence de composés antioxydants, le DPPH peut accepter un électron ou un atome d'hydrogène de la molécule piègeuse antioxydante, pour être convertir en une molécule

de DPPH plus stable. Comme la forme réduite de DPPH est jaune pâle, plus la capacité de piégeage des radicaux libre d'un composé antioxydant est grand, plus la solution de DPPH est réduite et moins la couleur pourpre est présente dans l'échantillon. [Siddhuraju, P., & Becker, K. 2007] a mentionné que Le pouvoir réducteur du *Passiflora edulis* est dû à la présence de groupes hydroxyle dans les composés phénoliques tels que les flavonoïdes qui servent de donneur d'électrons, réduisant les ions ferriques en ions ferreux, augmentant ainsi la quantité d'ions ferreux et entraînant une augmentation du pouvoir réducteur de l'extrait.

[El-Missiry, M. A., & El Gindy, A. M. 2000] qui ont montré que la capacité antioxydante des plantes est principalement due à leurs composés phénoliques élevés donc à leurs groupes hydroxyles.

L'extrait des graines de *passiflora edulis* a montré une relation concentration-réponse pour tous les tests de l'activité antioxydante. La réponse DPPH en termes de valeur IC50 de l'extrait des graines de *passiflora edulis* a été calculées à partir de graphe de pourcentage récupérées et comparée aux valeurs d'acide ascorbique un effet antioxydant très élevée a été observée pour la valeur de IC50 6.12 µg/ml avec un pourcentage de 47.12% Cela était peut-être dû à la capacité de donne d'hydrogène des composés poly phénoliques présents dans l'extrait. Notre résultat est presque identique avec les travaux de [Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M 2013]. Ont signalé que La partie EtOAc était l'antioxydant le plus puissant (IC 50DPPH = 2,7 ± 0,2 µg/ml) qui était significativement (p < 0,05) meilleur que l'extrait aqueux des graines de *Passiflora edulis* (IC50DPPH = 177,8 ± 1,3 µg/ml) . Dans le terme de l'extraction des graines de *passiflora edulis* avec différents solvants d'extraction les travaux [de Purohit, S en 2021] ont enregistré que l'extrait méthanolique de YPFR (44,05±1,41 µg/mL), YPFS (58,42±4,12 µg/mL), PPF (126,56±0,53 µg/mL) et PPFS (108,55±2,30 µg/mL) présent la plus forte activité de piégeage des radicaux DPPH, suivi de leurs extraits d'acétone [Purohit, S et al., 2021] .

Bien que l'ABTS soit invoqué sur le mécanisme antioxydant similaire à DPPH, le puissant piégeur ABTS*+ devrait donner un radical anionique ou deux radicaux neutres ou deux électrons pour compenser le radical cationique d'ABTS*+ [Kanlayavattanakul, M., & Lourith, N. 2011]. Les composés phénoliques fonctionnent comme des anti-oxydants secondaires ou préventifs qui chélatent efficacement avec les métaux ioniques sujet à l'oxydation dans le système biologique. Hydroxyle Les groupes en malposition du cycle phénolique sont importants dans la chélation des ions métalliques [Craft, B. D et al., 2012].

Test ABTS a également été effectué pour l'extrait PES afin de vérifier son niveau d'antioxydant in vitro en déterminant sa valeur IC50 présent une réponse élevée (6.82 µg/ml et pourcentage de 34.18 %) notre résultats sont soutenus par les travaux de [Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M. 2013] qu'ils ont rapporté que La partie EtOAc était l'antioxydant le plus puissant (IC50ABTS = 9,0 ± 0,0 µg/ml) qui était significativement (p < 0,05) meilleur que l'extrait aqueux des graines de *Passiflora edulis* (IC50ABTS = 15,4 ± 0,0 µg/ml)

Nos résultats sont similaires avec les travaux de Purohit, S qu'il a trouvé que Les extraits méthanoliques YPFS (yellow passion fruit seeds) (82,27±1,65 µg/ml), et PPF (purple passion fruit) (68,24±3,14 µg/ml) présentaient donc les valeurs IC50 les plus basses. Et montrant l'activité antioxydante la plus élevée, suivies de leurs extraits d'acétone respectifs. L'acétate d'éthyle et les extraits aqueux se sont avérés avoir une activité antioxydante moindre que leurs homologues au méthanol et à l'acétone. [Purohit, S et al., 2021]. Cette fraction présentait également le plus grand pouvoir réducteur ferrique (EC 1 mM FeSO4 = 2 813,9 ± 11,6) et l'effet inhibiteur de la tyrosinase (39,9 ± 0,0 % à 1 mg/ml), en plus du facteur de protection solaire de l'extrait d'EtOAc était comparable à celui de l'acide férulique [Lourith et Kanlayavattanakul, 2013]. Dans le même ordre d'idées, ils ont également étudié l'extrait à l'éthanol des graines de *P. edulis*, affirment que le résidu de traitement du jus de fruit de la passion (graines) c'est une source de composés fonctionnels, et que la fraction antioxydante agit comme un écran solaire avec une protection efficace contre les rayons UV, ainsi qu'un agent blanchissant pour la peau [Lourith et al., 2017], tandis que d'autres études ont rapporté des valeurs de 41,67 ± 0,30 mmol ET/g d'activité antioxydante ORAC pour un extrait de méthanol de graines de *P. edulis* [Vagula et al., 2019].

Des extraits obtenus avec de l'éthanol, de l'eau et de l'acétate d'éthyle, rapportant les valeurs IC50 suivantes : 2,70 × 10⁻³-0,18 mg de graines. ml⁻¹ pour le test DPPH ; et 9,0 – 47,6 µg de graines.mL⁻¹ pour le test ABTS [dos Reis et al., 2018; Lourith et Kanlayavattanakul, 2013 ; Yepes et al., 2021]. Le pouvoir antioxydant réducteur ferrique des graines de PPF a été déterminé comme étant de 0,13 à 2,81 mg de graines. ml⁻¹ (EC1mM FeSO4) et de 14,2 µmol d'extrait TE.g⁻¹-, tandis que le test ORAC appliqué aux graines a donné 18,3 µmol d'extrait TE.g⁻¹ [dos Reis et al., 2018 ; Lourith et Kanlayavattanakul, 2013 ; Yepes et al., 2021].

Plusieurs études ont été mener pour confirmer le pouvoir antioxydants de *Passiflora edulis* avec différentes méthodes d'extraction et des solvants variée sur des autres parties de *Passiflora edulis f. edulis purple*. L'activité antioxydante des extraits PPF a été testée. En utilisant le dosage DPPH, les valeurs de CI50 enregistrés étaient de 32,93 µg d'extrait. ml⁻¹ et de 69,8 mg

de pelure. ml-1 pour les extraits d'eau chaude ou d'éthanol respectivement [Domínguez-Rodríguez et al., 2019 ; dos Reis et al., 2018].

Comparativement avec d'autres extraits d'eau chaude sous pression d'autres espèces de pelures de *Passiflora* a montré que les extraits de PPF présentaient une activité DPPH plus élevée que les extraits de *Passiflora ligularis* et de *Passiflora edulis f. flavicarpa* (298,6 et 718,9 µg d'extrait. ml-1) mais inférieure à celle des extraits de *Passiflora mollissima* (10,6 mg d'extrait. ml-1) [Domínguez-Rodríguez et al., 2019].

Cependant, lorsque des extraits d'éthanol ont été utilisés, l'activité du DPPH était la plus faible pour les extraits de PPF (69,8 mg de Peel. ml-1) par rapport aux extraits de *P. edulis f. flavicarpa* (16,9 mg de peel. ml-1) et de *Passiflora caerulea* (24,5 mg de peel. ml-1) [dos Reis et al., 2018]. De plus, un extrait optimisé pour la récupération des anthocyanes avec une teneur de 5,77 mg. g-1 d'écorce PPF sèche de glucoside de cyanidine-3-O, a révélé une capacité antioxydante mesurée par des dosages de DPPH et de pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) de 4,90 et 5,29 µmol de Trolox.g-1 d'extrait respectivement, ce qui dépassait les valeurs de scaving radicalaire rapportées pour l'huile d'avoine, les vins blancs et rouges [Herrera-Ramirez et al., 2020].

Dans la même étude Le dosage à base de cations radicalaires 2,2' -azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) IC50 déterminé présente également la plus faible activité antioxydante de l'extrait éthanolique de peeling PPF (93,7 mg de peel.mL-1) par rapport aux autres espèces (22,2 et 29,5 mg de peel.mL-1 pour *P. edulis f. flavicarpa* et *Passiflora caerulea*, respectivement) [dos Reis et al., 2018].

[Fonseca, A. M et al., 2022] a confirmé que Le manque de standardisation des différentes méthodes appliquées pour évaluer le potentiel antioxydant ainsi que les différentes conditions d'extraction rend difficile la comparaison des résultats entre les fractions de PPF. D'après la composition chimique on s'attendrait à ce que l'activité antioxydante des pelures soit supérieure à celle de la pulpe et des graines, compte tenu de leur teneur plus élevée en TCP. Les essais in vitro ne corroborent pas cette hypothèse. Bien qu'une corrélation entre le TCP et la capacité antioxydante soit fréquemment observée, d'autres types de composés peuvent également avoir un impact sur cette activité biologique, à savoir les caroténoïdes ou les stérols qui peuvent être le cas dans le PPF.

Les graines de *P. edulis* contiennent une grande quantité d'antioxydants tels que les polyphénols, et l'extrait de graines a été signalé comme ayant une activité antioxydante élevée

dans le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH), le 2,20-azino-di-(acide 3-éthylbenzthiazoline sulfonique) (ABTS), la capacité de réduction ferrique du plasma, la capacité d'absorption des radicaux oxygénés et l'eau de Javel β -carotène [de Santana, F. C et al., 2017 ; Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M. 2013 ; Yepes, A et al., 2021]. Santana et al. Ont extrait des composants des graines de *P. edulis* dans diverses conditions d'extraction et ont étudié la corrélation entre la teneur en composants et l'activité antioxydante dans chaque condition [De Santana, F. C et al., 2017]. Les résultats ont montré une corrélation positive entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante des extraits, ce qui suggère que les polyphénols sont un composant majeur responsable de l'activité antioxydante. En comparant l'activité antioxydante de l'extrait de graines de *P. edulis* avec celle d'autres espèces de *Passiflora*, les CI50 de *P. edulis*, *P. tripartita*, *P. ligularis*, et *P. pinnatistipula* étaient respectivement de 2,7 à 132,6, 3,2, 73,9 et 372,2, telles que déterminées par le test DPPH ; tandis que les CI50, telles que révélées par les tests ABTS, étaient de 9,0, 96,2, 23,9 et >1000, respectivement [de Santana, F. C et al., 2017, Loizzo, M. R et al., 2019, Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M. 2013, Yepes, A et al., 2021], suggérant que l'activité antioxydante de *P. edulis* est plus qu'égale à celle des autres espèces de *Passiflora*.

Les polyphénols contenus dans les graines de *P. edulis* contiennent une grande quantité de piceatannol, qui a été signalé comme ayant une activité antioxydante [Sano, S et al 2011, Wen, H et al 2018]. Il est donc considéré comme responsable de l'activité antioxydante des extraits de graines. Dans un modèle de rat soumis à un stress oxydatif induit par la streptozotocine, l'ingestion d'extraits d'éthanol provenant de la peau et des graines de *P. edulis* a eu un effet protecteur sur le cœur, le foie et les reins contre le stress oxydatif en augmentant les niveaux de superoxyde dismutase et en diminuant les niveaux de substance réactive à l'acide 2-thiobarbiturique [Kandandapani, S et al., 2015]. De plus, des tentatives ont été faites pour microencapsuler des extraits d'écorces et de graines de *P. edulis* afin de maintenir et d'améliorer leur activité antioxydante in vivo [Taborda, J. A. V et al., 2021]. Les extraits microencapsulés ont montré que leur activité antioxydante restait à 60% du niveau de prédigestions après le processus de digestion [Taborda, J. A. V et al., 2021]. Une autre étude a démontré que l'encapsulation de l'extrait de graines de *P. edulis* à l'aide d'amidon de riz acylé maintenait également l'activité antioxydante [Yepes, D. F. M et al., 2021]. Par conséquent, la technologie des microcapsules peut représenter un moyen efficace de transporter les extraits dans le corps tout en maintenant leur activité ou de les transporter à des endroits spécifiques du corps pour exercer leurs fonctions.

I.7.2. Détermination d'activités anti-Alzheimer via l'inhibition de l'acétylcholinestérase

I.7.2.1. Matériel et méthode

L'activité anticholinestérase a été démontré selon le protocole d'ellmen avec peu modification ce test est basé sur la capacité d'acétylcholinestérase à dégrader l'Acétylthiocholine (analogue de l'acétylcholine) en thiocholine, ce dernier va réagir avec le 5,5'-dithiobisnitrobenzoate (DTNB) pour former 5-thio-2-nitrobenzoate (TNB) un complexe de coloration jaunâtre stable a un pH=7.8 et à température ambiante.

En présence d'un inhibiteur enzymatique, cette réaction va permet de quantifier l'inhibition exprimée par IC50 qui est la concentration diminuant l'activité enzymatique à moitié.

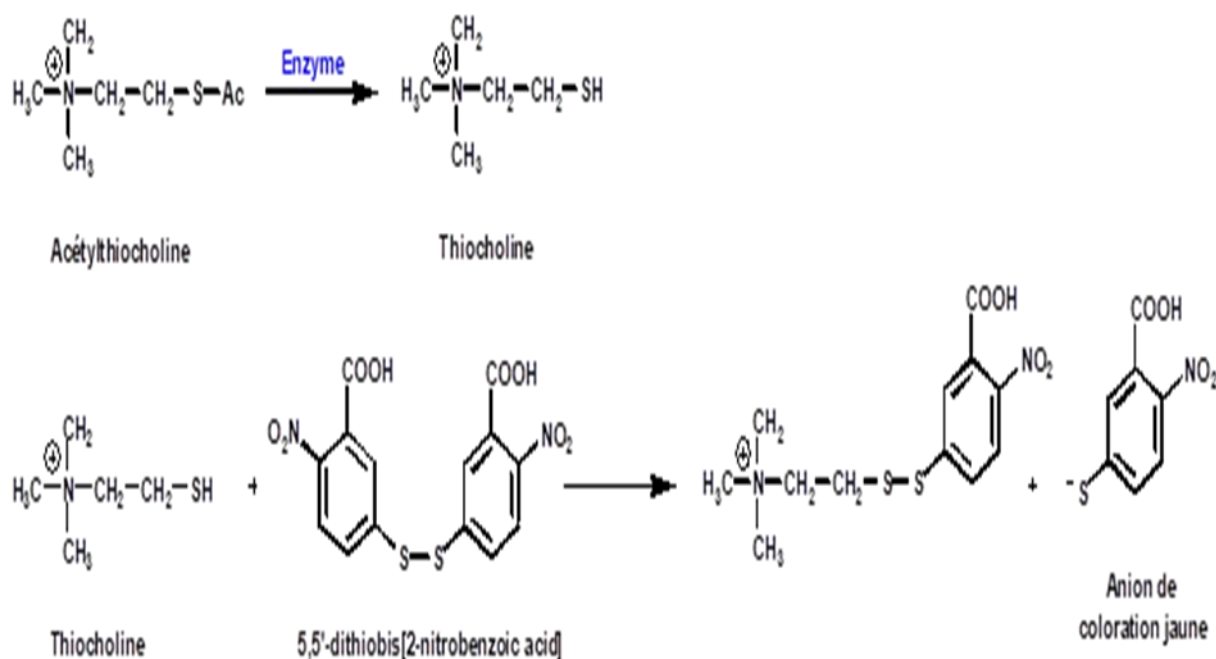


Figure 44 : Réaction colorimétrique d'Ellman

❖ Protocole

En effet trois solutions tampons ont été préparés

- Tampon A: 50 mM dihydroxy methyl aminomethane Tris-HCL, pH= 8
- Tampon B : tampon A contenant 0.1% de sérum albumine bovine et laisser s'hydrater quelques heures à 4°C (sans agiter)
- Tampon C : tampon A contenant 0.1 M NaCl et 0.02M MgCl2.

Dans une microplaque de 96 puits, un volume de 375 µl de tampon B (50 mM Tris-HCl, pH=8, contenant 0.1% de sérum albumine bovine), et mélangé avec 20 µl d'extrait et 25 µl de la solution d'enzyme (AChE, 0,28 U / ml), ce mélange a été incubé pendant 15 min à 37°C. Puis, 80 µl de la solution ATCI (0,15 mM d'acétylthiocholine iodide) et 500 µl de réactif d'Ellman DTNB (0.3 mM de 5,5'-dithiobisnitrobenzoate) ont été ajoutés. Le mélange final réactionnel a été incubé pendant 30 min à 37°C à l'obscurité. Et les tests ont été répétés en triplicatas. La galantamine a été utilisée comme standard

La dégradation du substrat a été suivie spectrophoto-métriquement par l'apparition de la couleur jaunâtre, les absorbances ont été mesurés à une longueur d'onde de 412nm.

Le pourcentage d'inhibition de l'AchE est déterminé en comparant le taux relatif de réaction des échantillons à l'échantillon contrôle en utilisant la formule suivante :

$$I (\%) = (Ac - Ae) / Ac \times 100$$

I% : Le pourcentage d'inhibition

Ac : absorbance de la solution enzymatique en absence de l'extrait.

Ae : absorbance de la solution enzymatique en présence de l'extrait.

I.7.2.2. Résultats

Les résultats ont montré que la fraction acétonique des graines de *Passiflora edulis* était capable d'inhiber l'activité de l'acétylcholinestérase à des concentrations différentes avec un pourcentage de 60.92 %, la valeur de IC50 a été estimée à 4.48 µg/ml. Tandis que la valeur IC50 de standard galanthamine était 2.56 µg/ml. (Fig. 45)

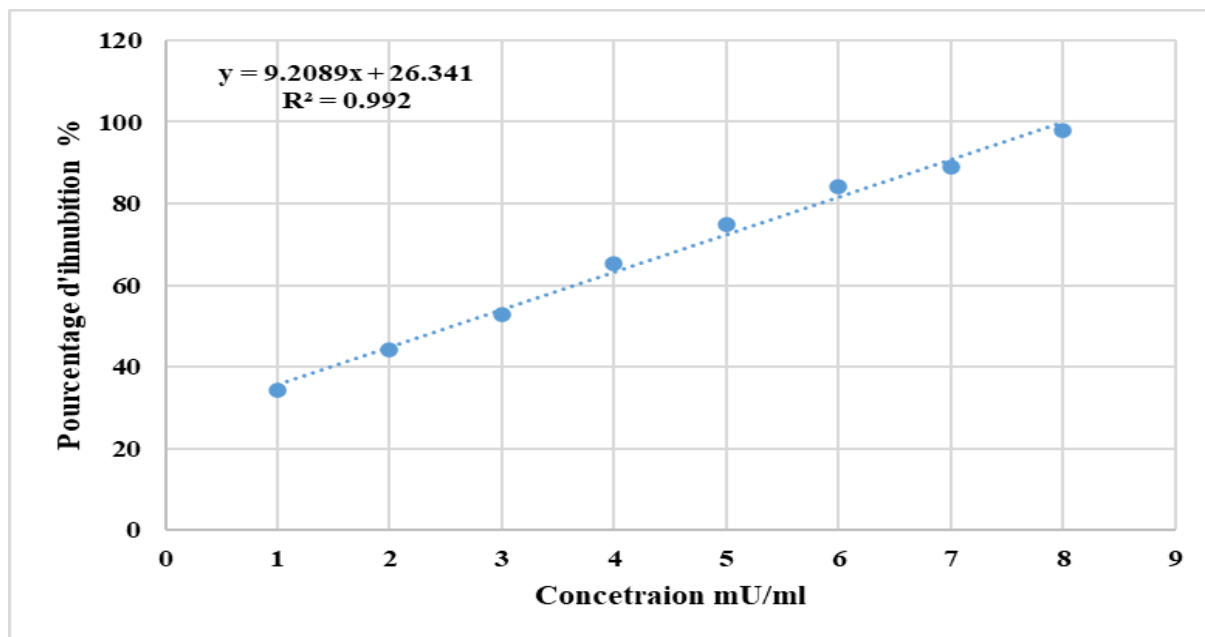


Figure 45 : pourcentage d'inhibition de l'acétylcholinestérase de galanthamine

I.7.2.3. Discussion

L'étiologie de la maladie d'Alzheimer est associée à la déficience d'un neurotransmetteur, l'acétylcholine (ACh), qui est impliqué dans la communication entre les neurones du cerveau [Pisani, L et al., 2019] joue un rôle important dans la progression de la maladie d'Alzheimer. L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme du cerveau qui décompose l'ACh en métabolites inactifs, la choline et l'acétate, et donc l'activité accrue de cette enzyme peut entraîner une carence en ACh. [Chiroma, S. M et al.,2019].

Des médicaments (inhibiteurs de l'AChE) capables de restaurer les niveaux appropriés d'ACh ont été développés sur la base de l'hypothèse cholinergique de la maladie d'Alzheimer, dans laquelle ces médicaments agissent en inhibant l'action de l'AChE [Giacobini, E 2000].

[Zhou et al., 2021]. Il est rapporté que l'AChE est un bon candidat pour la conception de médicaments dans le traitement de la maladie d'Alzheimer ; comme dans la MA, il y a une carence en acétylcholine. [Sahibzada, M. U. K et al.,2022].

Par conséquent, les inhibiteurs de l'AChE sont toujours le pilier du traitement de la maladie d'Alzheimer, bien qu'ils ne guérissent pas la maladie, mais jouent un rôle important dans la prise en charge palliative de la maladie d'Alzheimer [Pisani, L et al., 2019]

[Dos Santos, L. C et al., 2021] dans ce travail, ils ont trouvé que l'enrichissement d'un stilbène (piceatannol) dans l'extrait des graines de *Passiflora edulis* a conduit à une diminution de l'activité de l'AChE, ce qui est peut-être lié à la capacité de leur structure moléculaire à entrer en compétition avec le substrat (acétylcholine) dans les sites anioniques et anioniques périphériques.

Le piceatannol, d'autres composés présents dans l'extrait de *Passiflora edulis* pourraient avoir exercé des effets inhibiteurs de l'AChE. [Dos Santos, L. C et al., 2021].

Plusieurs études in vivo et in vitro ont signalé l'importance des plantes médicinales dans le traitement des troubles neurologique [Ratheesh et al., 2017 ; Faheem et al., 2022].

Dans notre travail, la fraction des graines de *Passiflora edulis* a inhibé l'activité de l'AChE de manière importante. Par conséquent PE pourrait être envisagé pour évaluer sa possibilité en tant que candidat alternatif puissant pour la conception d'un médicament efficace pour traiter la maladie d'Alzheimer.

Chapitre II
Etude in vivo



II.1. Matériel animal

Des souris de souche NMR pesant 30 ± 5 g procurés apurés de l'institut de pasteur-Alger- en septembre 2021. Ont été utilisés pour les expériences de cette thèse. Les animaux ont été gardés dans l'animalerie de laboratoire de pharmacognosie et api phytothérapie de l'université de Abdelhamid Ibn Badis avec un accès d'eau et un régime alimentaire standard en granulé venant de l'office National des Aliments de Bétail (O.N.A.B) de bouzeréa -Alger-

Les souris ont été acclimatées aux conditions de l'animalerie 14 jours avant le début de l'expérimentation sous des conditions contrôlées : un cycle nyctéméral de 12 heures lumière /12 heures obscurité avec une température ambiante et un taux d'humidité était favorable. On s'assurera de disposer d'animaux de taille et de tranche d'âge appropriées pour toute la durée de l'essai.

II.2. Test de toxicité

II.2.1. Principe

Avant de procéder aux expérimentations on doit rassembler toutes les informations disponibles sur l'échantillon d'essai (substance d'essai), à savoir l'identification, la structure chimique et les propriétés physico-chimiques avec des essais de la toxicité de l'échantillon *in vivo*. Les données Toxicologiques sur l'échantillon sont utiles pour apprécier la pertinence de l'essai pour sélectionner la dose initiale et maximale appropriée, ce test a été réalisé selon la méthode d'Organisation de la Coopération Economique et Développement (O.C.D.E 2008).

Ce test consiste à administrer l'extrait dans un volume constant pour toute la gamme des doses à tester en variant la concentration de la préparation administrée.

Les souris sont observées individuellement pour toute manifestation de toxicité telle qu'augmentation de l'activité, salivation, convulsion, coma et mort au cours des 30 premières minutes suivant l'administration de l'extrait et régulièrement durant 24 heures puis quotidiennement par la suite pendant 14 jours.

II.2.2. Protocole

20 souris de souche NMRI pesant 28 ± 3 g ont été réparties en 4 groupes, 5 souris pour chacun

L'extrait est administré par gavage intragastrique en une seule dose à l'aide d'une sonde gastrique. Les souris doivent être à jeun avant l'administration de l'extrait, on supprime la nourriture mais pas d'eau, 3 ou 4 heures avant le test, après la période de jeun les souris sont pesées, ensuite l'extrait leur est administré, les doses sont calculées en fonction du poids

corporel a jeune de chaque souris, après le gavage les souris peuvent continuer à être privés de nourriture durant 1 ou 2 heures.

Lot 1 (n=5) : les souris reçoivent l'extrait des graines de passiflora edulis à une dose de 100mg/kg ;

Lot 2 (n=5) : les souris reçoivent l'extrait des graines de passiflora edulis à une dose de 200 mg/kg.

Lot 3 (n=5) : les souris reçoivent l'extrait des graines de passiflora edulis à une dose de 1000mg/kg ;

Lot 4 (n=5) : les souris reçoivent l'extrait des graines de passiflora edulis à une dose de 2000 mg/kg.

II.2.3. Résultats

Après l'administration unique de l'extrait acétonique des graines de *passiflora edulis* à différentes concentration (100 , 200 , 1000 , 2000 mg/kg) et une observation de 14 jours , aucun signe de toxicité n'a été apparu , les résultats sont regroupé dans le tableau suivant : (**Tableau 09**) .

Tableau 09 : résultats de test de toxicité après 14 jours d'observation

	Extrait a cétonique des graines de <i>passiflora edulis</i>			
	100 mg/kg	200 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg
Trouble de comportement	-	-	-	-
Convulsion	-	-	-	-
Dénutrition	-	-	-	-
Diarrhée	-	-	-	-
Coma	-	-	-	-
Mort	-	-	-	-

II.2.4. Discussion

D'après les résultats, obtenus de test de toxicité, l'administration de l'extrait de P.E n'a pas développé aucun signe de toxicité, ce qui permet de choisir les doses utilisées dans notre recherche soit in vivo ou in vitro. Ces résultats sont similaires avec nombreuses recherche qui montrent que le fruit de *passiflora edulis* ne provoque des effets secondaires nocifs. Selon Devaki, K [Devaki, K et al ., 2012] la nature non toxique de l'extrait de P.E et son innocuité par la voie d'administration a une dose sélectionnée n'entraîne pas la mortalité des rats et d'après Clarke et Clarke [Clarke, E. G., & ML, C. 1997] tout composé ou médicament dont la DL 50est estimée supérieure à 1000 mg/kg pourrait être considéré comme peu toxique et sûr , cela confirme que l'extrait de P.E s'est avéré sûr jusqu'à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel .

Notre résultats ont concordé avec les travaux de [Zbinden, G., & Flury-Roversi, M. 1981] , [Maluf, E et al ., 1991] , [Afolayan, A. J., & Yakubu, M. T. 2009] , [Cao, S et al ., 2022] , [He, X et al., 2020] qu'ils ont trouvé que aucune modification majeure de l'altération des indices biochimique n'a été constaté dans les poids des organes , les paramètres hématologique et biochimique , les résultats de ses études ont établi que l'administration orale de l'extrait de passiflora edulis était sans danger jusqu'à 2000 mg/kg , et que l'ingestion de différentes concentration de 100 , 200 , 300 , 400 mg/kg d'extrait de passiflora edulis s'est avérée sûre et n'a pas d'effet nocif sue les fonction des rein , foie et moelle osseuse et qu'il n'était ni hépatotoxique ni néphrotoxique chez le rats albinos et les souris [Devaki, K et al ., 2012]. Il est important de noter que les paramètres hématologiques et le profil comportemental des souris, y compris les globules blancs, les globules rouges, l'Hb, les plaquettes, les neutrophiles et les lymphocytes n'ont présenté aucun changement anormal d'après les travaux de [Anurangi et Shamina, 2018].

Dans l'essai de toxicité aiguë de [Rodríguez, Á. A. J et al 2021], il n'y a pas eu de décès ou de signes toxiques après l'administration de l'extrait éthanolique des graines de passiflora edulis à 2000 mg/kg. Le gain de poids n'a pas varié dans les groupes traités par rapport au groupe témoin. L'autopsie n'a révélé aucune altération macroscopique des organes et tissus examinés.

L'extrait des graines de passiflora edulis est classés dans la catégorie des produits non classés selon les classes de toxicité de la Communauté européenne [Commission des Communautés européennes, 1992], car aucun signe de mortalité ou de toxicité n'est imputable à son administration.

D'après ces résultats, nous pouvons affirmer que l'extrait évalué n'a pas produit de toxicité significative à la dose limite dans l'essai de toxicité aiguë.

Ces résultats fournissent une base pour explorer davantage les utilisations cliniques du fruit de la passion. Cependant, des études plus nombreuses et approfondies sont encore nécessaires sur sa biodisponibilité et sa toxicité chez les animaux et les humains.

II.3. Evaluation des activités biologiques in vivo

II.3.1. Evaluation de l'activité neuroprotectrice de l'extrait des graines de *passiflora edulis*

35 souris femelle adultes ont été répartis en sept lots de 5 souris dans chaque lot comme suit :

Lot témoins(T) : a reçu une et l'eau distillé.

Lot Alzheimer (ALZ) : les souris reçoivent l'eau distillé par voie intragastrique pendant 45 jours suivies d'une administration de chlorure d'aluminium par voie orale à 100 mg/kg et le D-galactose par voie IP à 120 mg/kg pour le reste des 90 jours

Lot standard (STD) : Les souris ont reçu Rivastigmine à 1mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours.

Lot Alz-ED1 : Les souris ont reçu extrait de *passiflora edulis* à 100 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours.

Lot Alz-ED2 : Les souris ont reçu extrait de *passiflora edulis* à 200 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours.

Lot Ct-ED1 : Les souris ont reçu l'eau distillé par voie intragastrique pendant 45 jours suivies d'une administration d'extrait de *passiflora edulis* à 100 mg/kg par voie intragastrique, pour le reste des 90 jours

Lot Ct-ED2 : Les souris ont reçu l'eau distillé par voie intragastrique pendant 45 jours suivies d'une administration d'extrait de *passiflora edulis* à 200 mg/kg par voie intragastrique, pour le reste des 90 jours

Au dénouement des 90 jours les souris sont soumis à des test neurologique afin d'évaluer l'effet neuroprotectrice de *passiflora edulis*, les cerveaux ont été rapidement prélevés et lavés avec une solution saline froide sur la glace. Les échantillons de cerveau utilisés pour l'histologie ont été conservés dans le formaldéhyde à 10%, tandis que les échantillons de cerveau restants ont été stockés à -80°C jusqu'à ce qu'ils soient dosés (analyse biochimique plus approfondie).

II.3.2. Evaluation de l'activité anti-Alzheimer en parallèle de l'extrait des graines de *passiflora edulis* :

35 souris ont été réparties en sept lots dont 5 souris chacun, comme suite

Lot témoins(T) : a reçu une solution saline normale administrée par voie intrapéritonéale et par voie orale.

Lot Alzheimer (ALZ) : les souris reçoivent le D-galactose par voie IP à 120 mg/kg et le chlorure d'aluminium par voie orale à 100mg/kg

Lot Standard (STD) : le donépézile à 1mg/ kg par voie intragastrique a été administré à des souris traitées par le D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale et chlorure d'aluminium à 100 mg/kg par voie orale.

Lot Alz-ED1 : l'extrait de passiflora edulis à 100 mg/kg par voie intragastrique a été administré à des souris traitées le D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale et chlorure d'aluminium à 100 mg/kg par voie orale.

Lot Alz-ED2 : l'extrait de passiflora edulis à 200 mg/kg par voie intragastrique a été administré à des souris traitées le D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale et chlorure d'aluminium à 100 mg/kg par voie orale.

Lot ED1 : les souris reçoivent l'extrait de passiflora edulis à 100 mg/kg par voie intragastrique

Lot ED2 : les souris reçoivent l'extrait de passiflora edulis à 200 mg/kg par voie intragastrique

Après 70 jours les souris ont soumis à des tests neurologiques de comportement (labyrinthe en crois surélever, test noir/blanc, locomotrice, curiosité, la neige forcé) et de mémoire (labyrinthe à 8 bras « MST/MSR/Distinction de position ») et test de Morris

Après quoi ils ont été disséqués sous anesthésie, Trois cerveaux des souris de chaque lot ont été retiré rapidement et nettoyé avec une solution saline réfrigérée sur la glace et stockés à -80 °C jusqu'à la préparation de l'homogénat

Deux cerveaux des souris de chaque lot ont été récupéré et fixé dans le formaldéhyde à 10% jusqu'à l'étude histologique.

II.4. Les tests neurologiques

II.4.1. Tests de comportement neurologiques

L'évaluation comportementale est un élément clé pour examiner le statut nerveux (détermination du comportement). Ces directives s'appliquent aux animaux dans des essais

spéciaux, tels que l'activité locomotrice, la curiosité (test de trous) et les épreuves d'anxiété. [Zerrouki, 2012].

II.4.1.2. Activité locomotrice

Ce test a été adapté selon l'étude décrite par [Hall et al., 1934] chez le rat. Le test est basé sur la tendance naturelle des rongeurs à explorer un espace inconnu ce qui permet de mesurer leurs activités locomotrices. Au cours de ce test, le comportement de l'animal dans un nouvel environnement est évalué pendant 05 minutes en quatre phases consécutives. Il est placé, pour cela, dans une boîte d'expérimentation de 32X32 cm² vide et divisée en 16 carrés identique numérotée de 1 à 16. L'activité locomotrice est mesurée par le nombre de carrés visité par la souris. Laisser un temps de repos entre les quatre phases de test et cela afin de permettre à la souris d'explorer son nouvel environnement [Pittaras, 2011].

II.4.1.3. Curiosité (test de trous)

Le test de la planche à trous a été conçu pour étudier le comportement de la souris confrontée à un nouvel environnement. Dans l'essai de trous décrit par Bossière et Simon (1962), le but est d'évaluer l'effet d'un traitement et/ou une intoxication un sur le comportement d'exploration manifesté par la souris. La plaque en bois (60×45cm) est placée à 50 centimètres au-dessus de la terre et comportant 14 trous, d'un diamètre de 2 cm chacun, espacés de 5 cm. Le nombre de l'immersion des souris dans le trou a été compté pendant 3 phases avec une répétition, de durée de 5 minute chacune.

II.4.1.4. Epreuve d'anxiété

Dans ce test deux épreuves ont été réalisés :

II.4.1.4.1. Test de Double compartiment noir/blanc

Le test de transition clair / sombre ou « light / dark » test est un protocole largement utilisé pour mesurer le comportement semblable à l'anxiété Il est basé sur le comportement d'exploration naturelle des rongeurs vers de nouveaux environnements et leur aversion pour les zones fortement éclairées. [Crawley et Goodwin, 1980, Costall et al., 1989].

Les souris sont tout d'abord placées dans le compartiment lumineux puis elles peuvent évoluer librement dans le dispositif composé de compartiment clair et l'autre obscure. La durée du temps total passé dans le compartiment sombre est calculée en quatre phases de cinq minutes chacune.

II.4.1.4.2. Labyrinthe en croix surélevée

Le test du labyrinthe en croix surélevé permet de fournir des indications sur le comportement plus ou moins anxieux des animaux ainsi que sur leur tendance à prendre des risques. Ce modèle a été initialement décrit par Pellow et al. (1986). En effet, le bras ouvert sont plus anxiogènes et plus dangereux pour la souris car ils sont lumineux et non-protégés du vide. Au début du test l'animal est placé au centre du dispositif expérimental. Il peut ensuite se déplacer librement dans le dispositif expérimental. Pendant 5 minutes en quatre phases consécutives.

II.4.1.5. Test de persolt (test de la nage forcée)

Le test de Persolt ou Forced swimming test (FST), est un modèle comportemental qui permet de prédire l'efficacité d'un traitement antidépresseur [Porsolt et al., 1977]. Le test consiste à placer individuellement l'animal dans un bain d'eau tiède à 25 C°. Après une phase d'activité vigoureuse (temps d'adaptation), l'animal cesse de nager et se fige, adoptant un comportement de désespoir. On considère que l'animal est immobile lorsqu'il flotte en position horizontale et ne réalise que des mouvements de faible amplitude, suffisant à maintenir sa tête hors de l'eau. Le but de ce test est de calculer le temps d'immobilité de chaque souris.

II.4.2. Tests de mémoire

II.4.2.1. Le labyrinthe radiaire à huit bras

Mis au point par Wan et al., (1997), le labyrinthe radiaire à 8 bras est fréquemment utilisé dans les laboratoires d'études comportementales pour évaluer la mémoire spatiale ainsi que la mémoire non spatiale associée à des signaux de motivation (motivation alimentaire dans la plupart des cas). Le labyrinthe radiaire à 8 bras est constitué d'une zone centrale de 8 portes donnant accès à 8 bras de même taille. Les portes peuvent être ouvertes et fermées manuellement.

II.4.2.1.1. Mémoire spatiale de travail (MST)

Cette épreuve a été mise au point par **Olton David (1981)**. La souris doit chercher la nourriture au fond de chaque couloir, une erreur est enregistrée si la souris visite deux fois le même couloir. Le nombre de bras répété pour chaque souris est comptabilisé pendant une période de 4 jours d'apprentissage et le 5^{ème} jour représente le test de mémoire spatiale de travail, durant cinq minutes par séance.

II.4.2.1.2. Mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR)

Pour de cette épreuve, seulement deux bras du labyrinthe radiaire sont exploités. La souris est placée dans le centre du labyrinthe et les deux bras sont ouverts simultanément, et c'est à ce moment-là que le test commence. Ainsi le temps de séjour dans le bras éclairé avec nourriture est mesuré pendant 4 jours d'apprentissage et le 5^{ème} jour représente le jour de test de MSR, durant cinq minutes par jour séance.

II.4.2.1.3. Distinction de position

Le test se caractérise par l'utilisation de six bras dans un ordre alterné de bras appâté et non appâté. La souris est déposée sur la plateforme centrale et les six bras sont ouverts l'un après l'autre trois avec nourriture (bras appâté) et les autres sans nourriture (bras non appâté). Le test est ensuite entamé par l'ouverture des bras en paire de bras appâté et non appâté (3 paires en total). Le score est comptabilisé à chaque fois que la souris visite les bras appâtés. Cette épreuve est alors répétée durant 4 jours d'apprentissage et le 5^{ème} jours représente le jour de test de distinction de position, pendant cinq minutes par séance.

II.4.2.2. Piscine de Morris (Le labyrinthe aquatique)

Est l'un des tests les plus couramment utilisés pour mesurer l'apprentissage de la mémoire. Il a été conçu par Richard Morris au début des années 1980. Zerrouki et al.,2020 ont bien décrit cette épreuve, La tâche consiste à localiser le poste, utilisant des indices distaux hétérogènes, une plate-forme « refuge » où la souris cherchera refuge pour échapper au liquide moyen dans un bassin rempli d'eau trouble en ajoutant un colorant (colorant blanc pour notre test). Pour mener à bien cette tâche, la souris n'a que des indices externes sur l'appareil.

Pendant la référence de mémoire spatiale (MSR), la plate-forme est rendue invisible pour l'animal étant légèrement immergé et oblige l'animal à utiliser une stratégie fondée sur une représentation mentale de sa position.

Dans le cas de la mémoire spatiale de travail (MST), la plate-forme est exposée et donc pointe visible qui permet à la souris d'utiliser une stratégie de guidage.

II.5. Etude histologique

L'étude anatomopathologique est effectuée à la fin de l'expérimentation au niveau du laboratoire « Pharmacognosie & Api-phytothérapie » de l'université Abd El Hamid Ibn Badis – Mostaganem, suivant le manuel de techniques d'anatomo-cytopathologie [Marck, 2010].

II.5.1. Fixation

Les cerveaux sont prélevés puis fixés dans une solution de formol à 10%.

II.5.2. Macroscopie

L'examen macroscopique détaillé est une partie essentielle de l'étude d'une pièce opératoire donc nos pièces sont examinées, mesurée, pesée, palpée puis disséquée Préparation des fragments pour chaque cerveau, puis l'introduction de ces fragments dans des cassettes d'inclusion, les cassettes ont été marquées sur leur bord

II.5.3. Imprégnation (circulation)

Afin d'obtenir des coupes d'une épaisseur approprié il faut durcir le tissu, cela est réalisé par son imprégnation par une matière rigide qui lui donne la résistance mécanique voulue.

Cette étape repose sur la substitution de l'eau dans les tissus par une solution hydrophobe chimiquement inactive tell que la paraffine

Plusieurs étapes doivent être suivies :

❖ Post fixation :

- 1 bac de formol à 10%

❖ Déshydratation

- 1 bac d'éthanol 96% durant 1 heure
- 1 bac d'éthanol 96% durant 1 heure
- 1 bac d'acétone durant 2 heures

❖ Substitution

- 1 bac de toluène / xylène durant 2 heures

❖ Imprégnation

1 bac de paraffine à 70°C durant 1 heure

II.5.4. Inclusion

Mise de la pièce prélevée dans un moule en acier et son enrobage avec de la paraffine liquide. Une fois le bloc préparé, il est stocké dans un congélateur (-20°C).

II.5.5. Microtomie

Cette étape permet la réalisation des coupes sur le bloc à l'aide d'un microtome. L'ensemble des tranches obtenues forme un ruban de qualité très fine (2 à 4 μ m). Les coupes sont ensuite étalées sur des lames de verre en utilisant une plaque chauffante afin d'éviter la formation de plis et de stries. I.5.6. Coloration

Avant l'étape de déparaffinage, un séchage des lames est nécessaire pour faciliter l'adhérence des coupes sur la lame de verre. Cette cuisson est réalisée dans une étuve à 58°C pendant 1 heure.

❖ Déparaffinage

La première étape de toute coloration d'une coupe histologique est d'éliminer la paraffine du tissu pour que les colorants puissent le pénétrer.

1 bac de toluène / xylène durant 10 mn.

❖ Réhydratation

Consiste à substituer progressivement le solvant du tissu par des bains d'éthanol pour amener à l'eau.

1 bac d'éthanol à 70% durant 5 mn

1 bac d'éthanol à 80% durant 5 mn

1 bac d'éthanol à 96% durant 5 mn

Rinçage à l'eau durant 10 mn

❖ Coloration

La coloration est réalisée avec de l'Hématoxyline/Eosine

1 bac d'hématoxyline de Harris durant 5-10mn

1 bac d'eau acidifié

1 bac d'eau basique

1 bac d'éthanol 96%

1 bac d'éosine durant 5 mn

2 bacs d'acétone, 5 min chacun

1 bac de toluène ou xylène jusqu'au montage.

II.5.6. Montage

Cette opération consiste à fixer à l'aide d'une résine synthétique (solution EUKITT) une lamelle couvre-objet sur la coupe (la lame) afin de la protéger de la dégradation chimique des colorants qui s'oxydent à l'air et des bris mécaniques.

II.5.7. Lecture microscopique

Les tissus étudiés sont observés après montage par un microscope optique (photo microscopique) qui utilise la lumière visible afin d'évaluer certaines formes ou anomalies cellulaires et tissulaires. La lecture microscopique est effectuée après coloration des tissus qui permettent d'évaluer l'état cellulaire mis en évidence des structures, cette étape est réalisée par l'Hématoxyline/Eosine qui aide à colorer les noyaux en couleur mauve et le cytoplasme en rose clair.

II.6. Analyse statistique

L'analyse statistique des données expérimentales obtenues lors des tests effectués a été réalisée à l'aide d'un logiciel XLstat. Toutes les mesures de quantification sont représentées sous la forme « moyenne \pm SEM » et n représente le nombre de souris dans chaque groupe expérimental. Le seuil de significativité inférieure à 0,01 donne un effet hautement significatif, à 0,05 un effet significatif et pour une probabilité supérieure à 0,05, il est considéré que l'effet n'est pas significatif.

II.7. Résultats

II.7.1. Résultat de l'évaluation de l'activité neuroprotectrice de l'extrait des graines de *passiflora edulis* :

II.7.1.1. Test de comportement neurologique

Afin d'évaluer l'activité neuroprotectrice de la fraction acétone riche en stilbènes de la fraction de graines de *P. edulis* éliminée de l'huile, les expériences de mémoire ont été menées sur des modèles murins de troubles cognitifs induits par D-gal et AlCl₃. Tous les paramètres tels que les

actions des animaux (agressivité, mouvement, somnolence, réaction au bruit, etc.) et le temps d'apprentissage/score pour s'échapper du labyrinthe ont été présentés. Les expériences ont été réalisées et l'effet de la fraction acétone riche en stilbènes des graines oléagineuses de *P. edulis* sur le comportement animal et la fonction cognitive a été enregistré. Après induction par AlCl₃/D-gal, tous les groupes ont montré une faible réponse au bruit, une réduction des mouvements et une somnolence remarquable au cours des 3 premières semaines (**Tab 08**).

En général, une diminution de l'agressivité a été observée dans les groupes traités (doses de 100 et 200 mg/kg p.c.) et dans les groupes témoins positifs traités par la rivastigmine au cours des trois premières semaines. L'exposition chronique à AlCl₃ affecte de manière significative le groupe pathologique où les souris se déplaçaient lentement, augmentait la somnolence et réduisait la réaction au bruit et à l'agressivité.

Tableau 10 : Effets sur le comportement animal de la fraction acétone riche en stilbène des graines de *P. edulis* (PEAS) éliminées de l'huile.

Parameters	Témoin	Alz	Alz-ED2	Alz-ED1	Alz-STD
Réponse au bruit	+	-	+	+	+
Mouvement	+	-	-	-	-
Somnolence	+	++	+	+	+
Caractère agressif	+	-	-	-	-

II.7.1.1.1. Activité Locomotrice :

Les données présentées à la figure 45 montrent que tous les groupes traités soit avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* soit par le traitement synthétique rivastigmine et le groupe témoin sont hypo actifs par rapport au groupe Alzheimer qui a marqué une hyperactivité. Avec une différence significative avec le groupe ALZ-ED1 ($p \leq 0.01$). (Fig. 46)

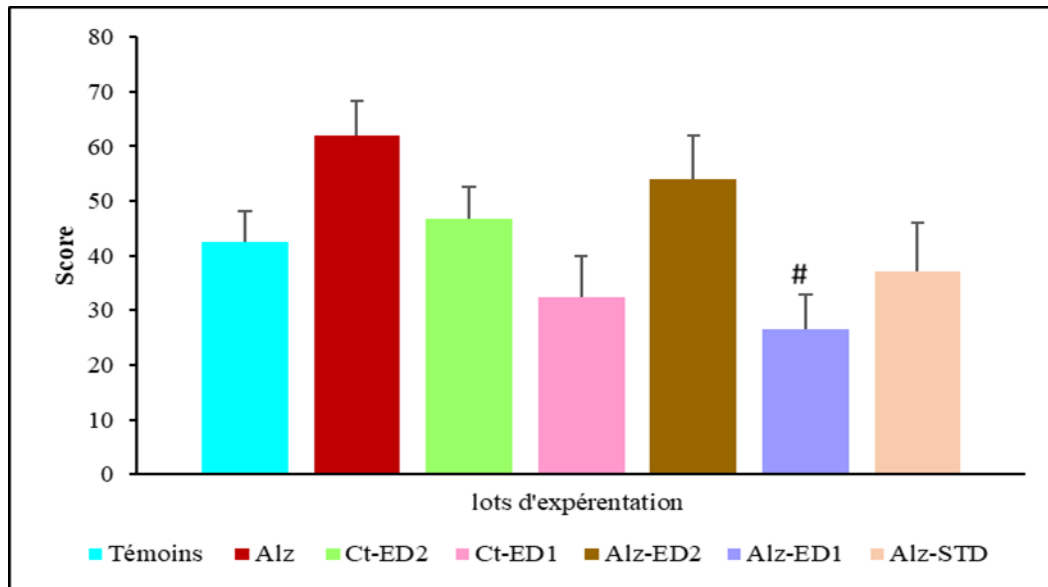


Figure 46 : Effet de PES sur l'activité locomotrice chez : souris témoins ; **Alz** : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 90 jours, **CT-ED1** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 100 mg/kg, **CT-ED2** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 200 mg/kg, **ALZ-ED2** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. **ALZ-ED1** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. **ALZ-STD** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 1 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ comparativement aux témoins. # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$, ### $P \leq 0.01$ comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.1.1.2. Test de curiosité (test de trous)

D'après 45 jours de traitement suivi par l'indication de la maladie d'Alzheimer pendant 45 jours, les résultats indiquent que les souris de tous les lots sont moins curieuses par rapport aux souris de lot témoin avec une différence très significative comparativement au lot Alzheimer ($P \leq 0.001$), tandis que les lots traités par extrait des graines de *passiflora edulis* et de rivastigmine ont marqué une forte curiosité par rapport au lot Alzheimer. (Fig. 47)

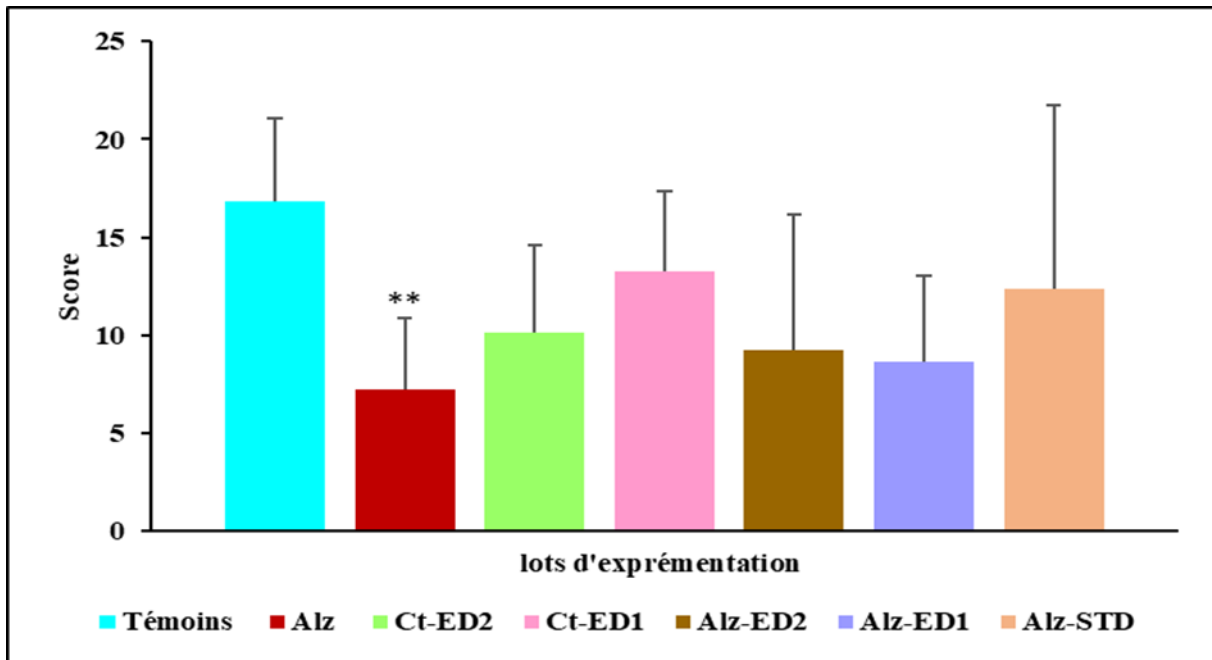


Figure 47 : Effet de PES sur l'activité de curiosité chez : souris **Témoins** ; **Alz** : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 90 jours, **CT-ED1** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 100 mg/kg, **CT-ED2** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 200 mg/kg, **ALZ-ED2** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d' $AlCl_3$ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. **ALZ-ED1** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d' $AlCl_3$ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. **ALZ-STD** : groupe modèle alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 1 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d' $AlCl_3$ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ comparativement aux témoins. # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$, ### $P \leq 0.01$ comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.1.1.3. Epreuve d'anxiété

II.7.1.1.3.1. Double compartiment noir/blanc

Les résultats présentés dans la figure 3 montrent que le traitement avec l'extrait a cétonique des graines de *Passiflora edulis* Provoque une augmentation du comportement anxieux qui est hautement significative pour le groupe ALZ-ED2 ($P \leq 0.001$) et très significative pour le groupe ALZ-ED1 et ALZ-STD ($P \leq 0.01$) comparativement au groupe Alz. En revanche le groupe Alzheimer traité avec chlorure d'aluminium et au D-galactose révèle une préférence très significative ($P \leq 0.01$) pour le compartiment blanc en comparaison avec les souris de groupe témoin. (Fig. 48)

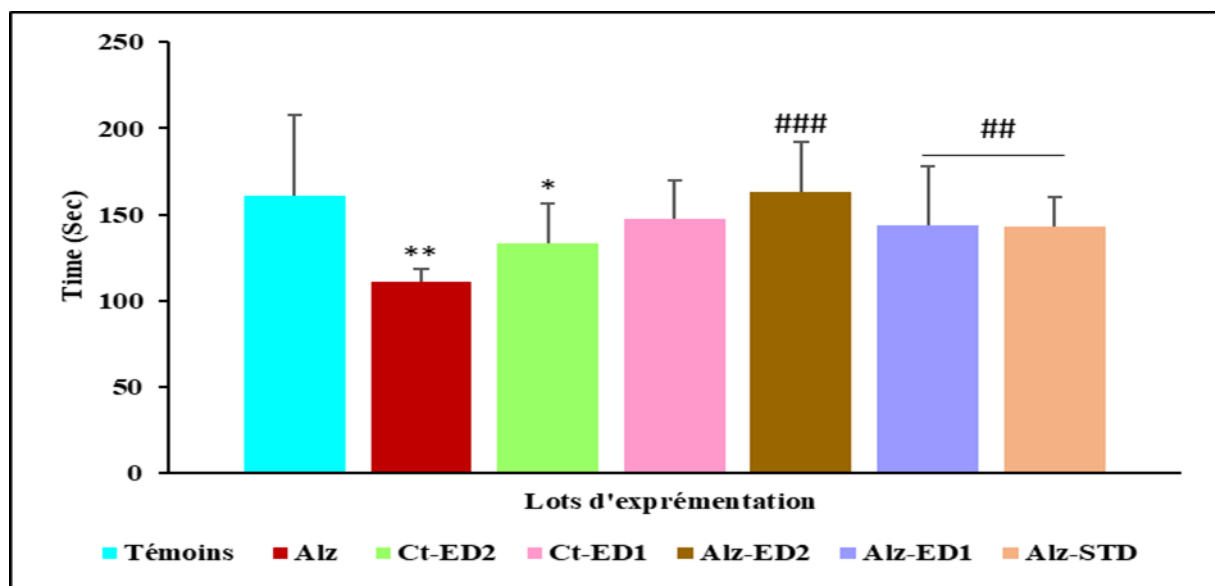


Figure 48 : Effet de PES sur l'activité de Double compartiment noir/blanc chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 90 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 100 mg/kg, CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 200 mg/kg, ALZ-ED2 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-STD : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 1 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ comparativement aux Témoins # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$, ### $P \leq 0.01$ comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.1.1.3.2. Test de labyrinthe en croix surélevée

Sur la base des résultats de ce test, il est clairement démontré une augmentation significative ($P < 0.01$) du temps de séjour dans les bras ouverts (prise plus élevée de risque) chez le groupe ALZ en comparaison avec le groupe témoins et les groupes traités. Tandis que la prise de risque est plus faible chez les groupes traités avec extrait des graines de *Passiflora edulis* (ALZ-ED1, ALZ-ED2) et le rivastigmine (ALZ-STD) par rapport aux souris modèle Alzheimer. Avec une différence très significative ($P < 0.01$). (Fig. 49)

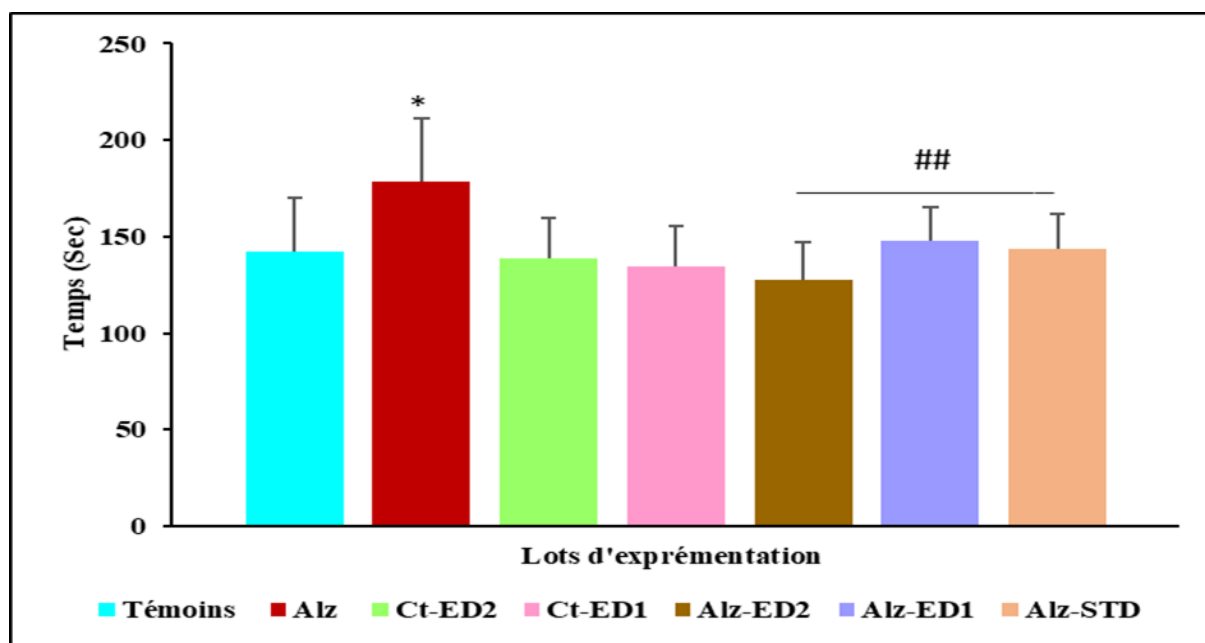


Figure 49 : Effet de PES sur l'activité de test de labyrinthe en croix surélevée chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 90 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 100 mg/kg, CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 200 mg/kg, ALZ-ED2 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d' $AlCl_3$ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d' $AlCl_3$ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-STD : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 1 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d' $AlCl_3$ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ comparativement aux Témoins. # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$, ### $P \leq 0.01$ comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.1.1.4. Test de Persolt (test de la nage forcée)

L'évaluation de l'effet anxiolytique de *passiflora edulis* à l'aide du test de Persolt montre que le traitement au chlorure d'aluminium et au galactose D diminue le temps d'immobilité chez les souris modèle Alzheimer, ce qui est un signe d'états anxieux. Le traitement par l'extrait des graines de *passiflora edulis* entraîne une augmentation hautement significative de l'immobilité ($p \leq 0,001$) et augmentation significative ($P \leq 0.50$) en comparaison avec le groupe Alzheimer. (Fig. 50)

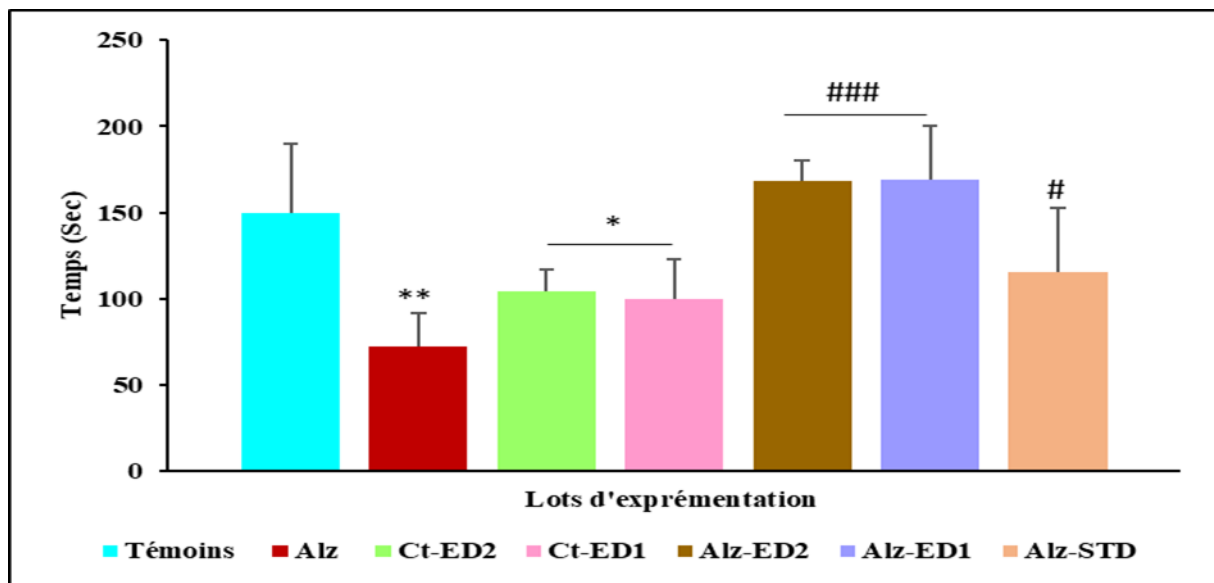


Figure 50 : Effet de PES sur l'activité de test de Persolt chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 90 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-STD : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 1 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ comparativement aux témoins. # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$, ### $P \leq 0.01$ comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.1.2. Tests de mémoire

II.7.1.2.1. Le labyrinthe radiaire à huit bras

II.7.1.2.1.1. Mémoire spatiale de travail (MST)

Les résultats du test de mémoire de travail spatiale ont révélé que le nombre de visites répétées dans le même couloir (le nombre d'erreurs) des souris modèles de la maladie d'Alzheimer (Alz) (score de 15) était significativement plus élevé que celui des autres groupes, y compris le groupe témoin, les groupes traités par Alz-ED2 et Alz-ED1, ainsi que le groupe rivastigmine (Alz-MST) (1 mg/kg) (scores de 7, 9, 11 et 11, respectivement). (**Fig. 51**)

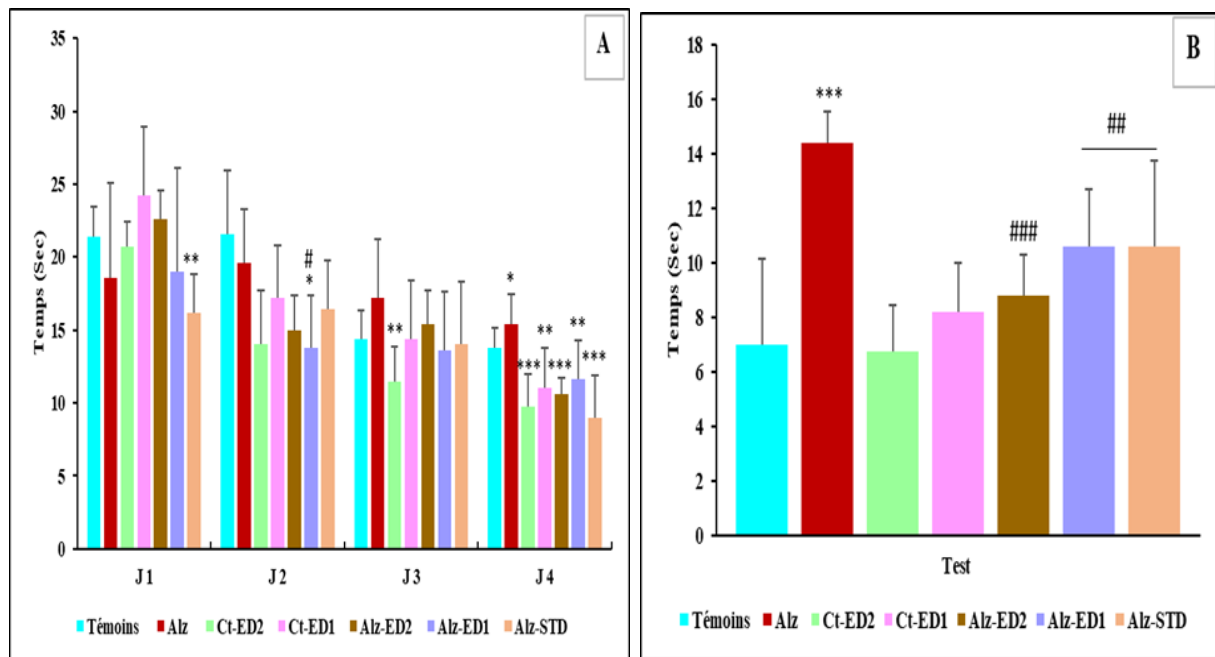


Figure 51 : l'effet de PES sur la mémoire spatiale de travail (MST). a : Mémoire spatiale de travail (4 jours d'apprentissage) ; b : test de mémoire spatiale de travail (MST) ; C : Contrôle ; Alz : Souris modèle de la maladie d'Alzheimer (administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associée à du D-Gal à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) provoquée pendant 45 jours, Alz-ED2, Alz-ED1 et Alz-STD : souris modèles de la maladie d'Alzheimer traitées avec une fraction PEAS à 200, 100 mg/kg et Rivastigmine à 1 mg/kg, respectivement pendant 45 jours, suivie d'une co-administration d'AlCl₃ (100 mg/kg par voie orale associée à du D galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pendant le reste des 90 jours. *P ≤ 0.05, **P ≤ 0.01, ***P ≤ 0.001 comparativement aux témoins. #P ≤ 0.05, ##P ≤ 0.01, ###P ≤ 0.01 comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.1.2.1.2. Mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR)

Dans le test de mémoire spatiale de référence, les souris témoins passent plus de temps dans le bras éclairé (145 sec) par rapport aux groupes Alz, Alz-ED2, Alz-ED1, Alz-STD qui sont restés respectivement 60 Sec, 85 Sec, 70 Sec, 95 Sec (avec une différence très significative ($P \leq 0,001$), les valeurs affichées dans ce test montrent que le temps de séjour dans le bras éclairé chez les souris Alzheimer traitées avec Alz-ED2 et Alz-STD est significativement plus élevé ($P \leq 0,001$) à chez les souris atteintes de la maladie d'Alzheimer . (Fig. 52)

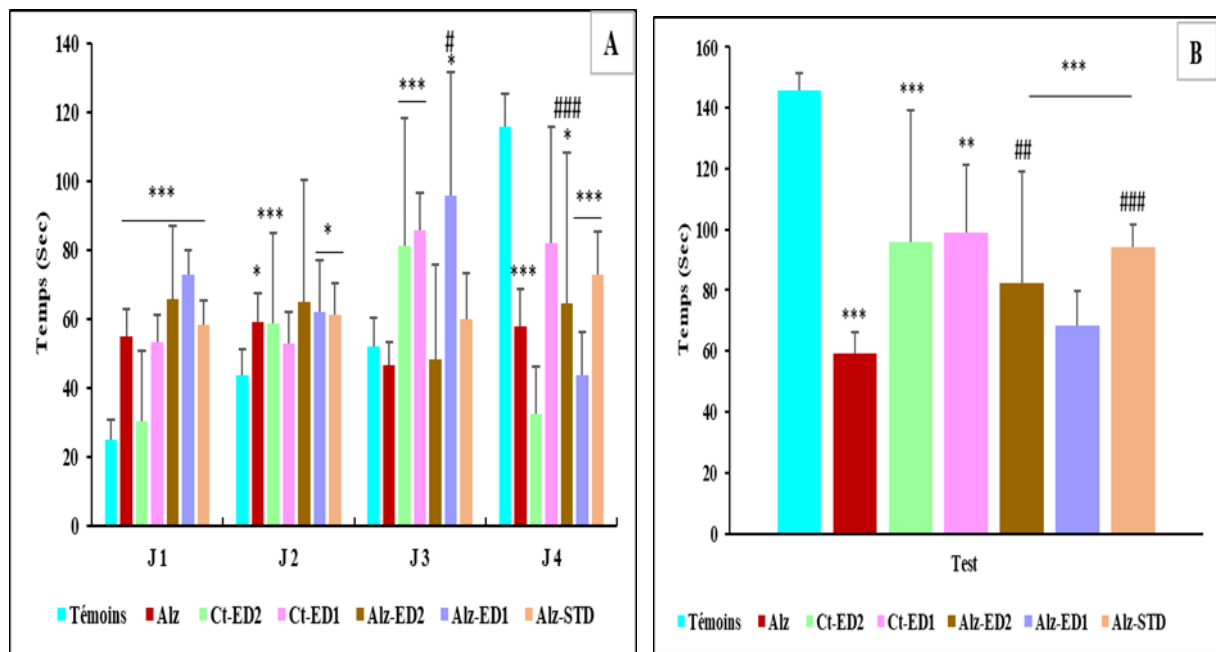


Figure 52 : l'effet de PES sur la mémoire spatiale de Référence (MSR). a : Mémoire spatiale de référence (4 jours d'apprentissage) ; b : test de mémoire spatiale de référence (MSR) ; C : Contrôle ; Alz : Souris modèle de la maladie d'Alzheimer (administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associée à du D-Gal à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) provoquée pendant 45 jours, Alz-ED2, Alz-ED1 et Alz-STD : souris modèles de la maladie d'Alzheimer traitées avec une fraction PEAS à 200, 100 mg/kg et Rivastigmine à 1 mg/kg, respectivement pendant 45 jours, suivie d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg/kg par voie orale associée à du D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pendant le reste des 90 jours. * $P \leq 0,05$, ** $P \leq 0,01$, *** $P \leq 0,001$ comparativement aux témoins. # $P \leq 0,05$, ## $P \leq 0,01$, ### $P \leq 0,01$ comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.1.2.1.3. Distinction de position

Le test de distinction de position a montré que la visite des bras appâtés par les souris témoins (9,5) est plus élevée que celle des souris des autres groupes, avec une différence très significative par rapport aux souris modèles de la maladie d'Alzheimer (score de 6) ($P \leq 0,001$). Alors que les groupes traités atteints de la maladie d'Alzheimer (Alz-ED2 / Alz-ED1 / Alz-STD) ont enregistré plus de visites de bras appâtés (score de 8, 8,5 et 7 respectivement) par rapport aux souris atteintes de la maladie d'Alzheimer (différence significative $P \leq 0,05$, $P \leq 0,001$). (Fig. 53)

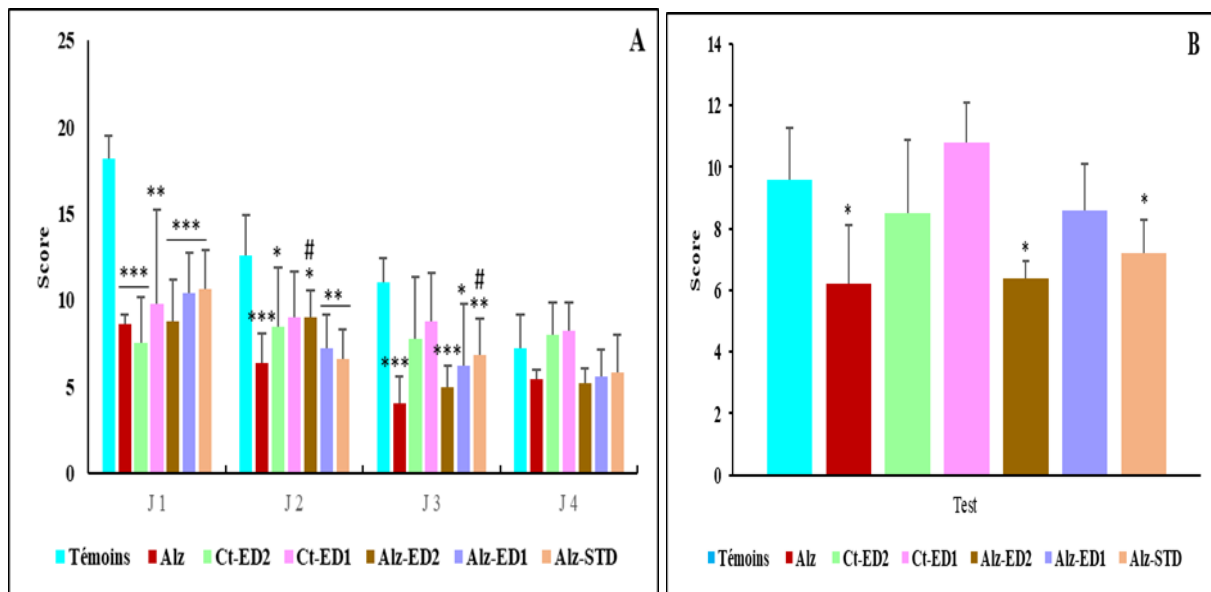


Figure 53 : l'effet de PES sur la Distinction de position. a : Mémoire spatiale de référence (4 jours d'apprentissage) ; b : test de mémoire spatiale de référence (MSR) ; C : Contrôle ; Alz : Souris modèle de la maladie d'Alzheimer (administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associée à du D-Gal à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) provoquée pendant 45 jours, Alz-ED2, Alz-ED1 et Alz-STD : souris modèles de la maladie d'Alzheimer traitées avec une fraction PEAS à 200, 100 mg/kg et Rivastigmine à 1 mg/kg, respectivement pendant 45 jours, suivie d'une co-administration d'AlCl₃ (100 mg/kg par voie orale associée à du D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pendant le reste des 90 jours. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ comparativement aux témoins. # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$, ### $P \leq 0.01$ comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.1.2.2. Piscine de Morris

II.7.1.2.2.1. Mémoire spatiale de travail (MST)

Lors de la journée de test du test de mémoire spatiale de travail (Piscine de Morris), les souris témoins ont passé 4 secondes pour trouver la plate-forme visible tandis que les souris atteintes de la maladie d'Alzheimer Alz-ED1 / Alz-ED2 traitées ont passé environ 3,5 et 2,5 secondes, respectivement, pour cette tâche. Les souris Alz-STD ont passé 1,5 seconde, ce qui était beaucoup plus rapide que celui du modèle Alzheimer avec 7,5 secondes ($P < 0,001$) (Fig. 54).

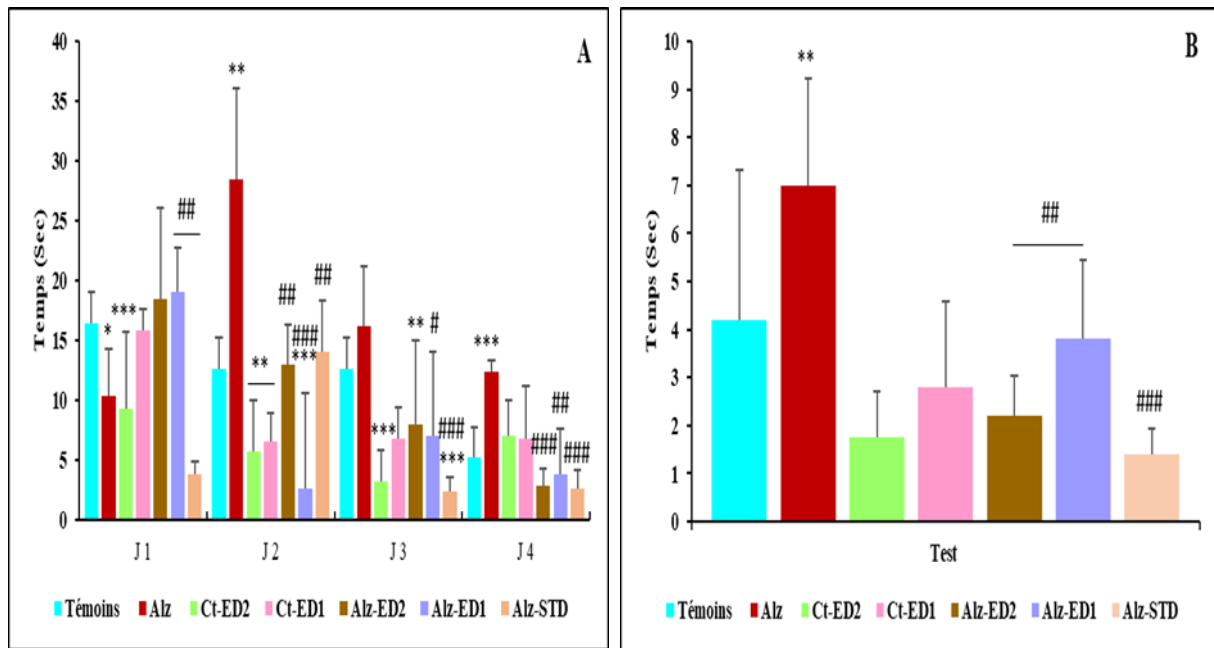


Figure 54: l'effet de PES sur la mémoire spatiale de travail (Piscine de Morris) . a : Mémoire spatiale de référence (4 jours d'apprentissage) ; b : test de mémoire spatiale de référence (MSR) ; C : Contrôle ; Alz : Souris modèle de la maladie d'Alzheimer (administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associée à du D-Gal à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) provoquée pendant 45 jours, Alz-ED2, Alz-ED1 et Alz-STD : souris modèles de la maladie d'Alzheimer traitées avec une fraction PEAS à 200, 100 mg/kg et Rivastigmine à 1 mg/kg, respectivement pendant 45 jours, suivie d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg/kg par voie orale associée à du D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pendant le reste des 90 jours. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ comparativement aux témoins. # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$, ### $P \leq 0.01$ comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.1.2.2.2. Mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR)

Au 5^{ème} jour du test de mémoire spatiale de référence, les souris modèles de la maladie d'Alzheimer (ALZ) ont également passé plus de temps à trouver la plate-forme invisible (10 sec) que tous les autres groupes de souris, par exemple les souris témoins (3,0 sec) et surtout les souris Alz-ED1 (2,5 sec) ($P < 0.001$) (**Fig. 55**).

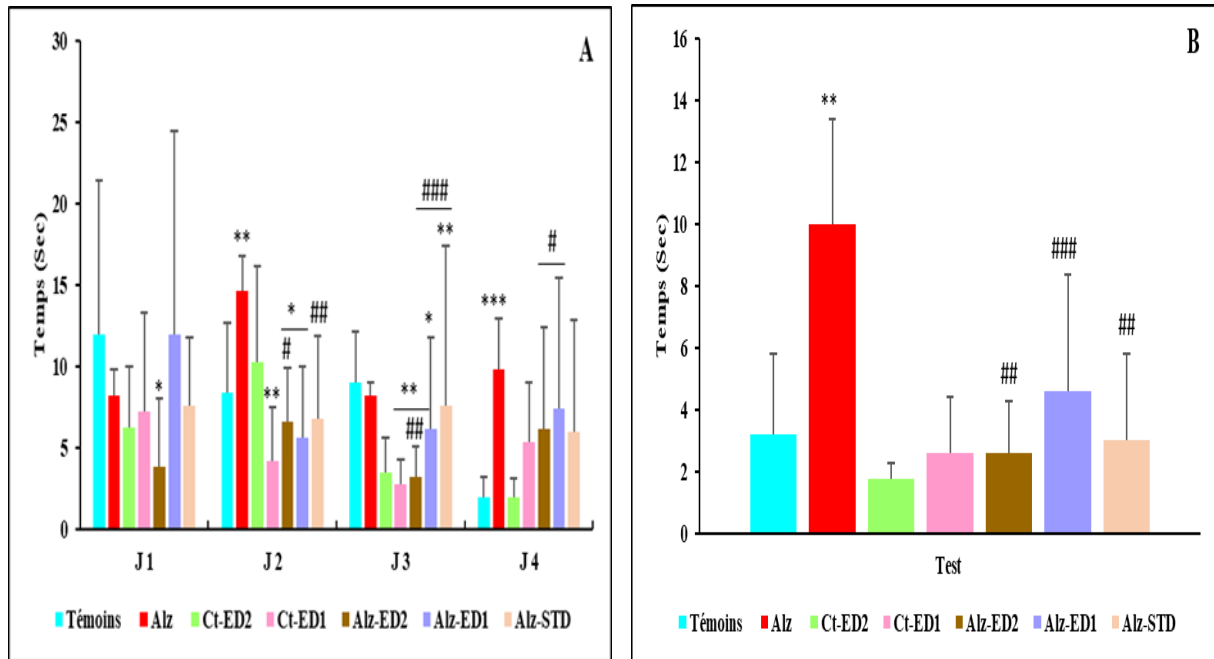


Figure 55 : l'effet de PES sur la mémoire spatiale de Référence conditionnée (Piscine de Morris). a : Mémoire spatiale de référence (4 jours d'apprentissage) ; b : test de mémoire spatiale de référence (MSR) ; C : Contrôle ; Alz : Souris modèle de la maladie d'Alzheimer (administration de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 100 mg/kg associée à du D-Gal à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) provoquée pendant 45 jours, Alz-ED2, Alz-ED1 et Alz-STD : souris modèles de la maladie d'Alzheimer traitées avec une fraction PEAS à 200, 100 mg/kg et Rivastigmine à 1 mg/kg, respectivement pendant 45 jours, suivie d'une Co-administration d' $AlCl_3$ (100 mg/kg par voie orale associée à du D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pendant le reste des 90 jours. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ comparativement aux témoins. # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$, ### $P \leq 0.01$ comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.2. Résultats de l'évaluation de l'activité anti-Alzheimer en parallèle de l'extrait des graines de *passiflora edulis*

II.7.2.1. Les tests neurologiques de comportement

II.7.2.1.1. Activité locomotrice

Les résultats de la moyenne des quatre phases de l'activité locomotrice obtenus après l'administration de chlorure d'aluminium associé au D-galactose suivi par un traitement par l'extrait des graines de *Passiflora edulis* et rivastigmine démontrent une hypoactivité locomotrice chez tous les lots ALZ, Alz-ED2, Alz-ED1 par rapport aux témoins. À l'exception du lot témoin Alz-STD qui présente une hyperactivité. Alors que les souris des groupes Alz-ED2, Alz-ED1 sont moins active en comparaison avec les souris de lot Alzheimer. (Fig. 56)

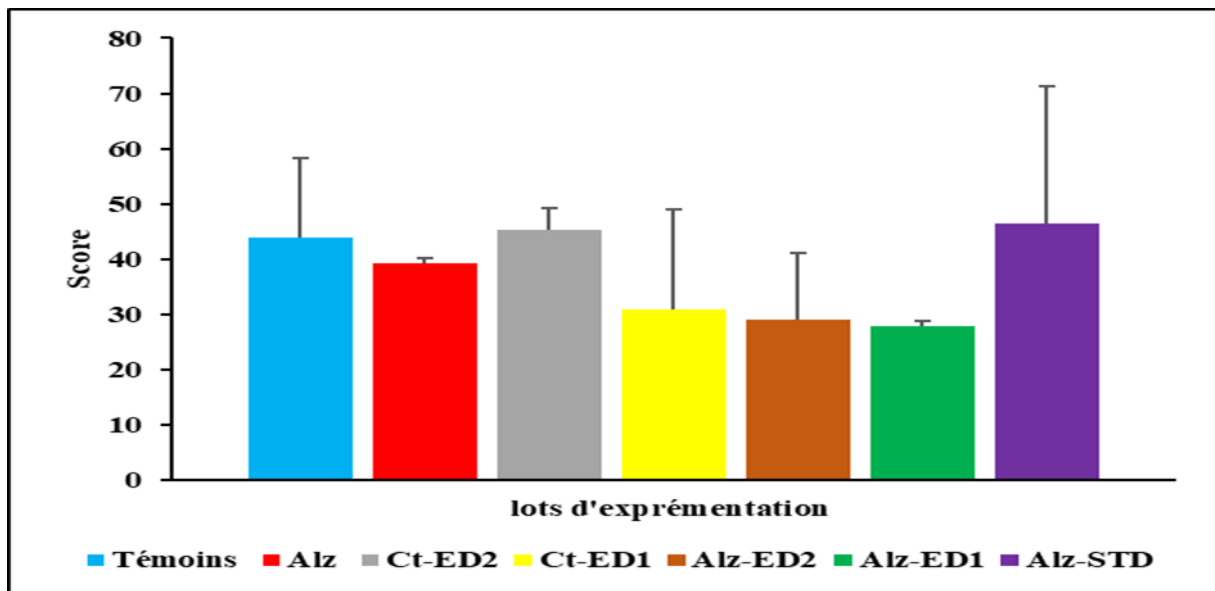


Figure 56: Effet de PES sur l'activité locomotrice chez : souris témoins ; **Alz** : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, **CT-ED1** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 100 mg/kg , **CT-ED2** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 200 mg/kg , **ALZ-ED2** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-ED1** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-STD** : groupe modèle Alzheimer traité avec Donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. *P≤ 0.05, **P≤ 0.01, ***P≤ 0.001 comparativement aux témoins. #P≤ 0.05, ##P≤ 0.01, ###P≤ 0.01 comparativement au groupe aux témoins (ALZ).

II.7.2.1.2. Test de Curiosité (Essai de trous)

Les résultats de test de curiosité indiquent une faible curiosité pour tous les lots par rapport au lot Alzheimer avec une différence significative ($P < 0.050$) pour les lots Alz-ED1 et Alz-ED2, Alors que le groupe Alzheimer présente une forte curiosité cela dit une augmentation significative ($P \leq 0.05$) du nombre d'immersion de la tête dans les trous en comparaison avec lot témoin. (Fig. 57)

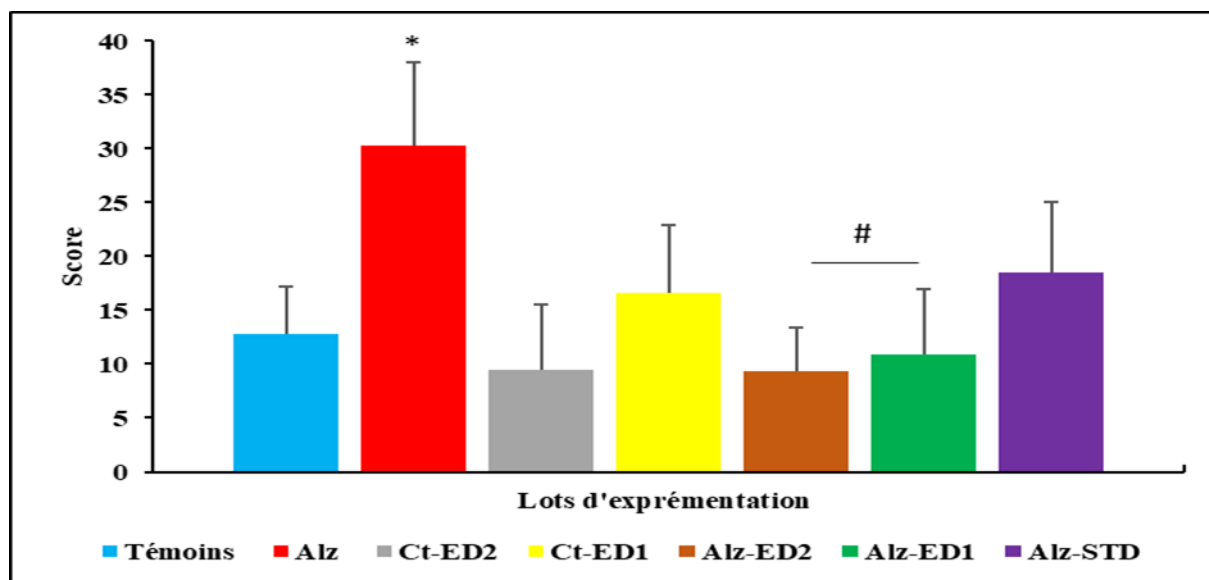


Figure 57 : Effet de PES sur le test de curiosité chez : souris **Témoins** ; **Alz** : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, **CT-ED1** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 100 mg/kg , **CT-ED2** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 200 mg/kg , **ALZ-ED2** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-ED1** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-STD** : groupe modèle Alzheimer traité avec Donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ comparativement aux témoins. # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$, ### $P \leq 0.01$ comparativement au groupe Alzheimer (ALZ).

II.7.2.1.3. Epreuve d'anxiété

II.7.2.1.3.1. Double compartiment Noir/Blanc

Dans ce test qui a été réalisé après 70 jours d'induction de la maladie d'Alzheimer et le traitement avec EPS et le standard donépézile au même temps, montre un temps de séjour élevé dans le compartiment clair chez les souris modèles d'Alzheimer (Alz) par rapport aux souris de tous lots d'expérimentation on constate une différence significative ($P \leq 0.050$) pour lot Alz-STD. (Fig. 58)

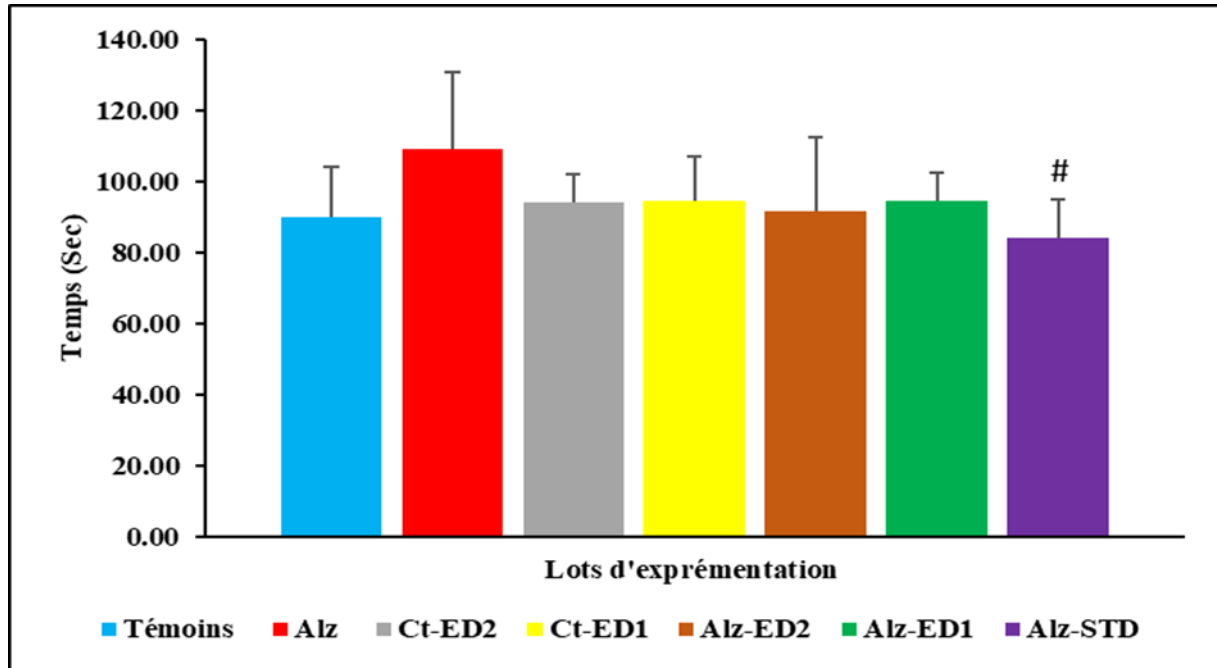


Figure 58 : Effet de PES sur le test double compartiment Noir/Blanc chez : souris témoins ; **Alz** : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, **CT-ED1** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 100 mg/kg, **CT-ED2** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 200 mg/kg, **ALZ-ED2** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-ED1** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-STD** : groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ comparativement aux témoins. # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$, ### $P \leq 0.01$ comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.2.1.3.2. Labyrinthe en croix surélevée

Les résultats de test de labyrinthe en croix surélevé effectué à la fin de 70 jours d'expérimentation la durée de séjour dans le bras ouvert est significativement plus élevés chez les souris modèle Alzheimer par rapport aux souris des tous les lots d'expérimentation avec une différence très significative avec les souris de lot témoins ($P \leq 0.010$). Et les lots traités avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* sont presque similaire par rapport aux témoins qu'ils ont aussi marqué un temps de séjours significativement élevé dans le bras protégés en comparaison avec le lot Alzheimer ($p \leq 0.050$, $p \leq 0.010$). (Fig. 59)

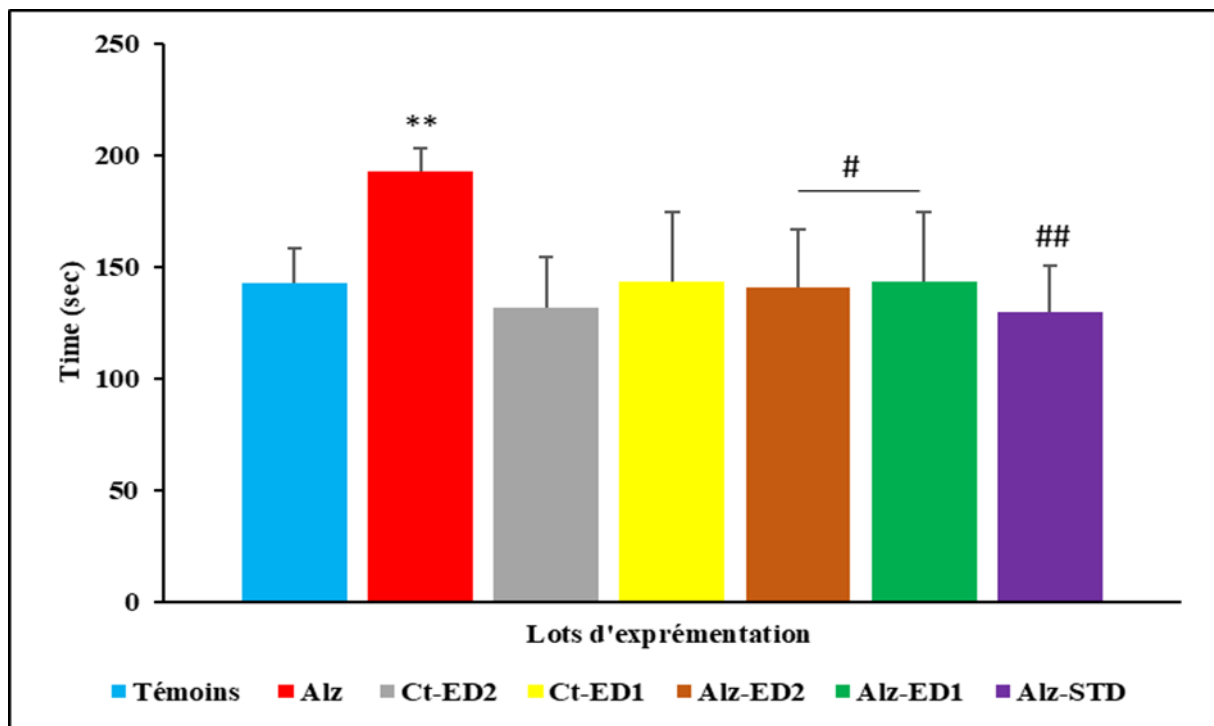


Figure 59 : Effet de PES sur le test Labyrinthe en croix surélevée chez : souris **Témoins** ; **Alz** : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, **CT-ED1** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 100 mg/kg , **CT-ED2** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 200 mg/kg , **ALZ-ED2** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-ED1** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-STD** : groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ comparativement aux témoins. # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$, ### $P \leq 0.01$ comparativement au groupe Alzheimer (ALZ).

II.7.2.1.4. Test de Persolt (la nage forcée)

Les résultats de ce test indiquent un temps d'immobilité significativement très élevés ($P \leq 0.010$) chez les souris traitées avec la dose 200 mg/kg de l'extrait des graines de *passiflora edulis* en comparaison avec les souris Alzheimer. En revanche lot modèle Alzheimer a enregistré un temps d'immobilité moins à celui enregistré par lot témoin avec une différence très significative ($P \leq 0.010$). (Fig. 60)

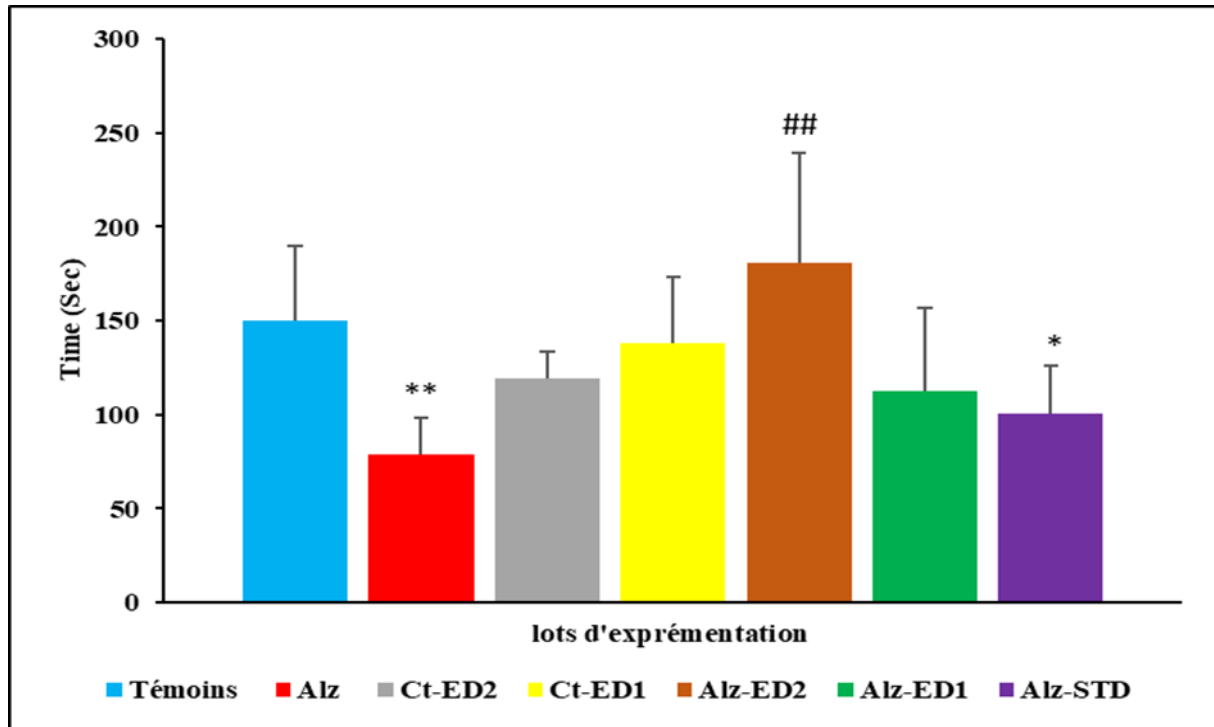


Figure 60 : Effet de PES sur le test de persolt (la nage forcée) chez : souris Témoins ; **Alz** : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, **CT-ED1** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 100 mg/kg, **CT-ED2** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 200 mg/kg, **ALZ-ED2** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, et l' $AlCl_3$ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-ED1** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, et l' $AlCl_3$ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-STD** : groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l' $AlCl_3$ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ comparativement aux témoins. # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$, ### $P \leq 0.01$ comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.2.2. Tests de mémoire

II.7.2.2.1. Le labyrinthe radiaire à huit bras

II.7.2.2.1.1. Mémoire spatiale de travail (MST)

Les résultats du test de mémoire spatial de travail montrent clairement un score d'erreur significativement faible chez les lots traité avec les doses 200 mg/kg (Alz-ED2, $p \leq 0.001$) et 100 mg/kg (ALZ-ED1, $P \leq 0.01$) et lot traité avec le standard donépézile à 1mg/kg (ALZ-STD, $P \leq 0.050$) en comparaison avec lot Alz qui a enregistré un score très élevé de nombre d'erreur de la répétition des bras visités (11 scores) comparativement avec tous les lots d'expérimentation. (Fig. 61)

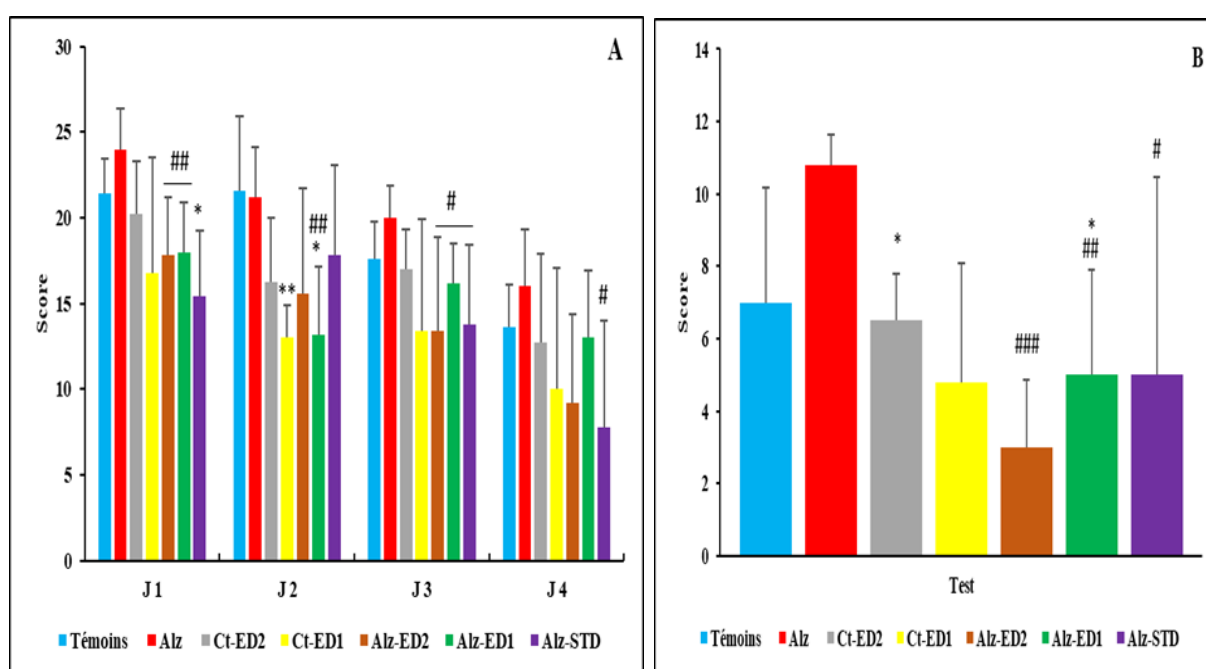


Figure 61 : Effet de PES sur le test de mémoire spatial de travail (MSR) : A : représente les 4 jours d'apprentissage , B : représente le jour de test (5ème jour) ; chez : souris témoins ; **Alz** : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, **CT-ED1** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 100 mg/kg , **CT-ED2** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 200 mg/kg , **ALZ-ED2** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-ED1** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-STD** : groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ comparativement aux témoins. # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$, ### $P \leq 0.01$ comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.2.2.1.2. Mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR)

Le modèle de souris Alzheimer induit par le chlorure d'aluminium et le D-galactose a montré un déclin de leur mémoire de référence spatiale conditionnée évalué par moins de temps passé dans le bras éclairé. Seul le traitement par extrait à cétonique des graines de *Passiflora edulis* augmente le temps passé dans le bras éclairé, en particulier à la dose 200 mg/kg ($p \leq 0,050$) par rapport au lot Alz. (Fig. 62)

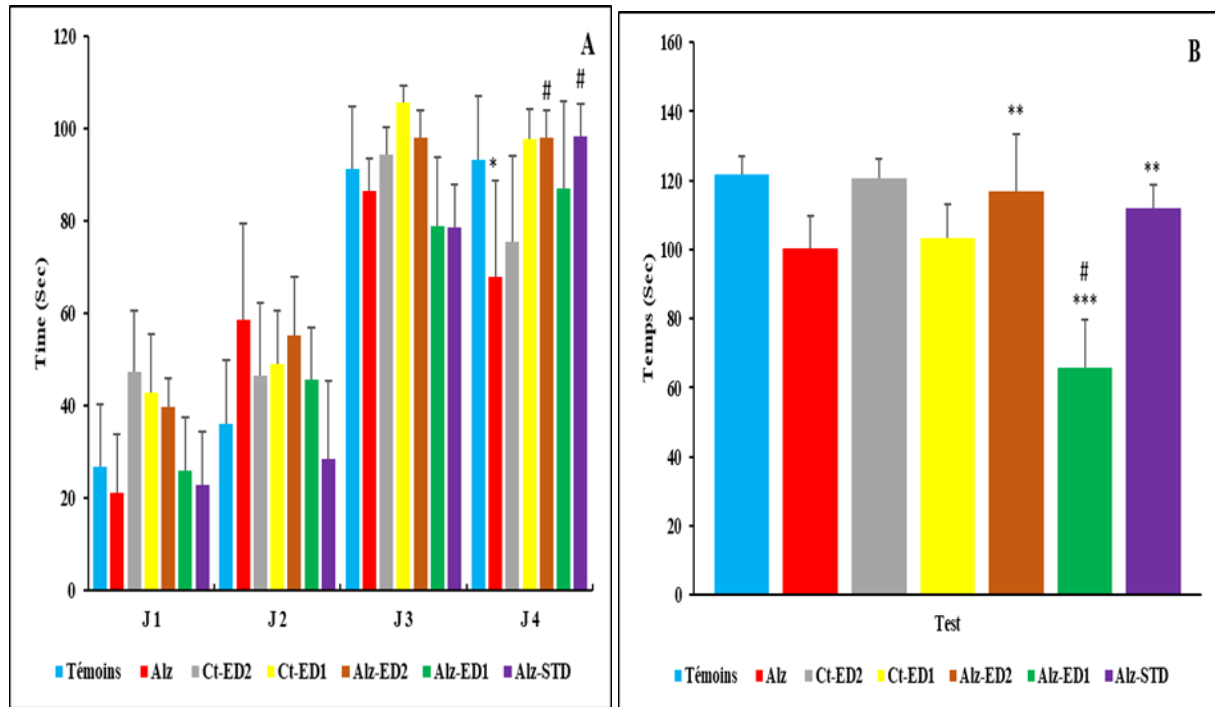


Figure 62 : Effet de PES sur le test de mémoire spatiale de Référence conditionné (MSR) : A : représente les 4 jours d'apprentissage, B : représente le jour de test (5ème jour) ; chez : souris témoins ; **Alz** : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, **CT-ED1** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 100 mg/kg , **CT-ED2** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 200 mg/kg , **ALZ-ED2** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-ED1** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-STD** : groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. *P ≤ 0.05, **P ≤ 0.01, ***P ≤ 0.001 comparativement aux **Témoins**. #P ≤ 0.05, ##P ≤ 0.01, ###P ≤ 0.01 comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.2.2.1.3. Distinction de position :

D'après les résultats, de test de distinction de position le score de visite du bras appâté est élevé pour le groupe ALZ par rapport au tous les lots d'expérimentation, D'autre part, le traitement avec l'extrait de la plante ou une substance standard (donépézile 1 mg/kg) entraîne une diminution du score de visiter les bras appâtés par rapport à l'Alz. Cette diminution est significativement prononcée pour les deux doses d'extrait des graines de *passiflora edulis* 100 et 200 mg/kg ($p \leq 0,01$). (Fig. 63)

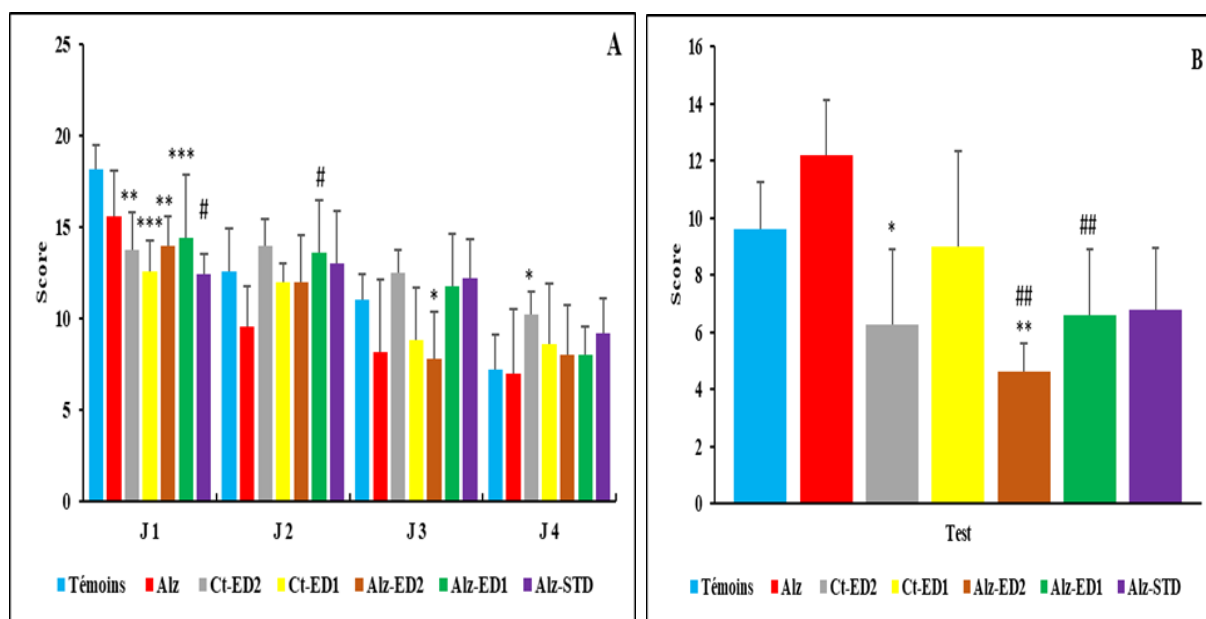


Figure 63: Effet de PES sur le test de distinction de position : A : représente les 4 jours d'apprentissage , B : représente le jour de test (5ème jour) ; chez : souris témoins ; **Alz** : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, **CT-ED1** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 100 mg/kg , **CT-ED2** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 200 mg/kg , **ALZ-ED2** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-ED1** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-STD** : groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. *P≤ 0.05, **P≤ 0.01, ***P≤ 0.001 comparativement aux témoins. #P≤ 0.05, ##P≤ 0.01, ###P≤ 0.01 comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.2.2.2. Piscine de Morris

II.7.2.2.2.1. Mémoire spatiale de travail (MST)

D'après les résultats de la figure, il y a une augmentation du temps qu'il faut aux souris pour trouver la plate-forme, ce qui est hautement significatif ($P < 0.001$) pour lot Alzheimer en comparaison avec lot témoin. D'autre part, le traitement avec PES ou standard raccourcit considérablement le temps de recherche de la plate-forme, de manière significative pour les groupes (Alz-D1) et Alz-D2 ($p \leq 0,01$) et pour Alz-STD ($p \leq 0,05$). Par rapport au lot Alzheimer. (Fig. 64)

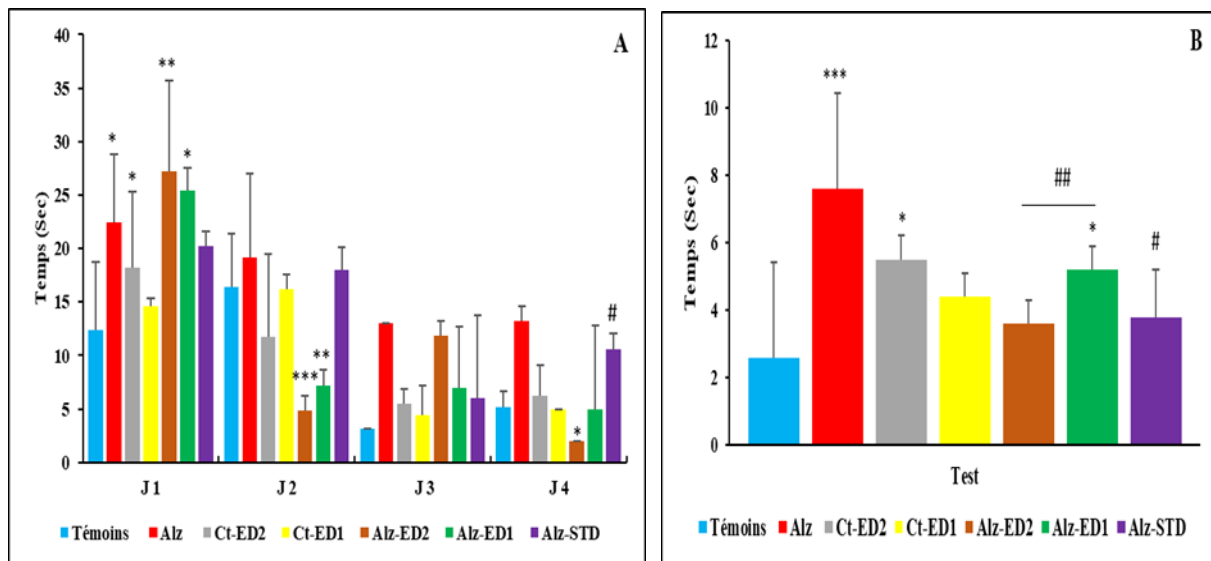


Figure 64: Effet de PES sur le test de Piscine de Morris (MST) : A : représente les 4 jours d'apprentissage, B : représente le jour de test (5ème jour) ; chez : souris témoins ; **Alz** : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, **CT-ED1** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 100 mg/kg, **CT-ED2** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à 200 mg/kg, **ALZ-ED2** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, et l' $AlCl_3$ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-ED1** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, et l' $AlCl_3$ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-STD** : groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l' $AlCl_3$ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ comparativement aux témoins. # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$, ### $P \leq 0.01$ comparativement au groupe Alzheimer (Alz).

II.7.2.2.2.1. Mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR)

Les résultats de test de mémoire spatiale de référence conditionnée indiquent une augmentation hautement significative du temps qu'il faut aux souris modèle Alzheimer pour trouver la plate-forme cachée ($p < 0,001$) en comparaison avec lot témoin. De plus, une amélioration hautement significative de test de mémoire spatiale de référence a été enregistrée pour les lots traités avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 200 mg/kg et 100 mg/kg et aussi pour le groupe traité par le donépézile à 1 mg/kg par rapport au lot modèle Alzheimer ($p \leq 0,001$). (Fig. 65)

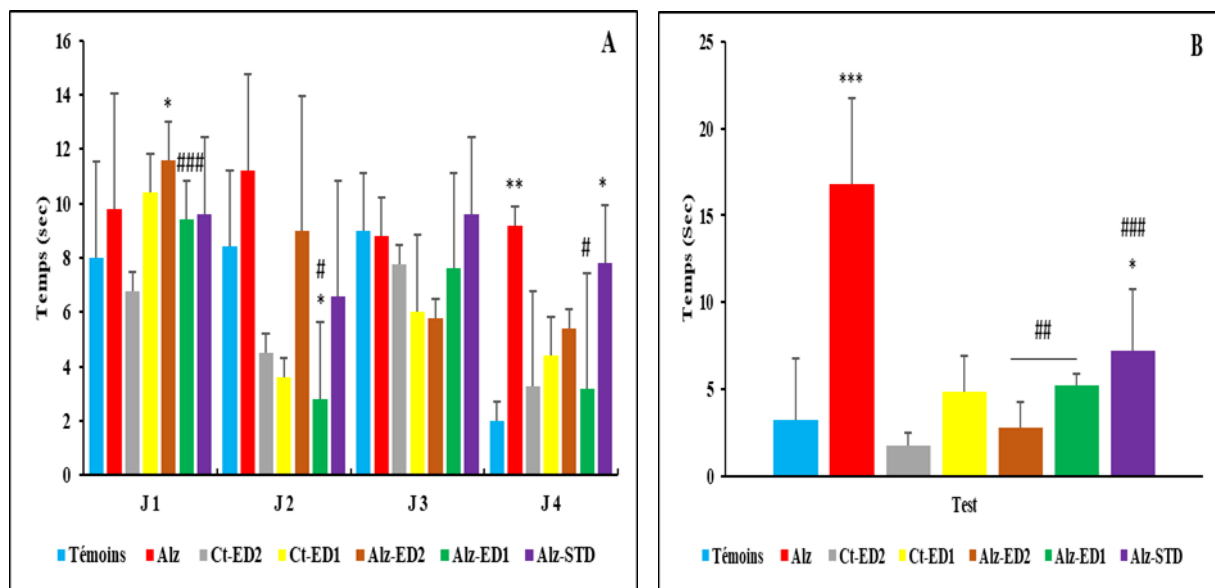


Figure 65 : Effet de PES sur le test de Piscine de Morris (MSR) : A : représente les 4 jours d'apprentissage , B : représente le jour de test (5ème jour) ; chez : souris témoins ; **Alz** : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, **CT-ED1** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 100 mg/kg , **CT-ED2** : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* à 200 mg/kg , **ALZ-ED2** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-ED1** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. **ALZ-STD** : groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. * $P \leq 0,05$, ** $P \leq 0,01$, *** $P \leq 0,001$ comparativement aux témoins. # $P \leq 0,05$, ## $P \leq 0,01$, ### $P \leq 0,01$ comparativement Alzheimer (Alz).

II.7.2. Les résultats de l'étude histologique

L'examen systématique de différentes sections du cerveau des souris a été étudié pour évaluer les effets neuroprotecteurs de la fraction riche en stilbénoides des graines de la passion. Trois zones du cerveau, à savoir le cortex cérébral, l'hippocampe et le cervelet des souris, ont fait l'objet d'une attention particulière.

II.7.2.1. Cortex cérébral

Le cortex cérébral, en particulier un lobe frontal plus grand, est responsable des mouvements et des capacités cognitives supérieures des souris. Le groupe témoin est caractérisé par une architecture histologique normale du cortex cérébral. (**Fig. 66**).

D'autre part, le groupe Alzheimer (ALZ) a montré un large éventail d'altérations histologiques. Les cellules pyramidales du cortex cérébral présentaient une dégénérescence neuronale avec neuronophagie. Des cellules d'apparence anormale avec des processus en forme de flamme et des noyaux et une plaque amyloïde fanés ont été observés. (**Fig. 67**).

Pour les souris traitées avec de la rivastigmine à 1 mg/kg, le cortex cérébral semblait normal avec moins de cellules apoptotiques par rapport au groupe Alzheimer. (**Fig. 68**)

L'administration de PE (ALZ-ED1, ALZ-ED2) a eu un effet amégalisant et protecteur contre la neurotoxicité et la maladie d'Alzheimer puisqu'il a été remarqué que le cortex cérébral semblait normal par rapport aux souris modèles de la maladie d'Alzheimer (**Fig 69, 70**)

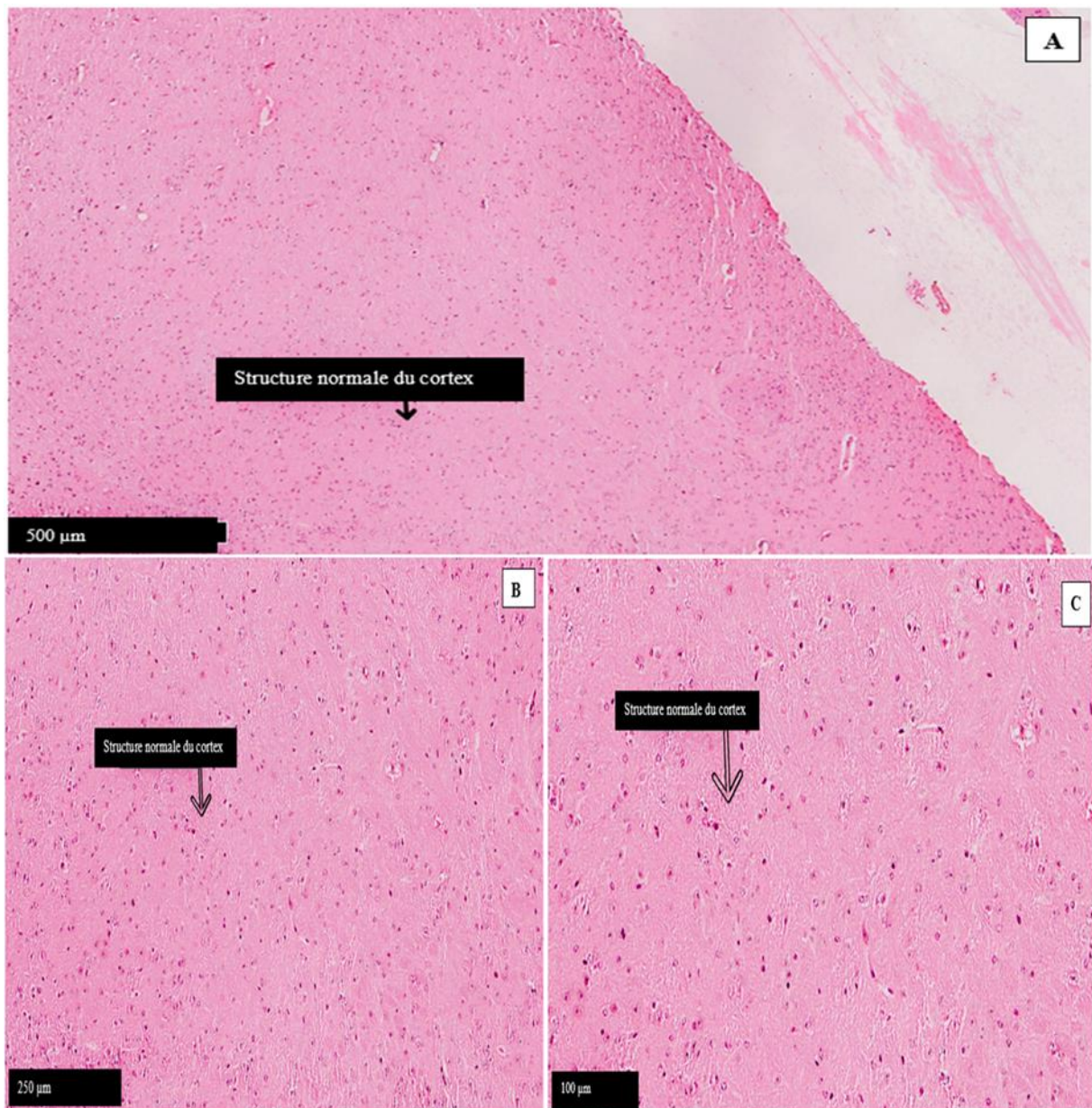


Figure 66 : photomicrographie du cortex cérébral des souris témoins, à la suite de l'expérience, des sections de cerveau de souris, le cortex cérébral, a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500μm, 250 μm, 100 μm (A, B, C) respectivement

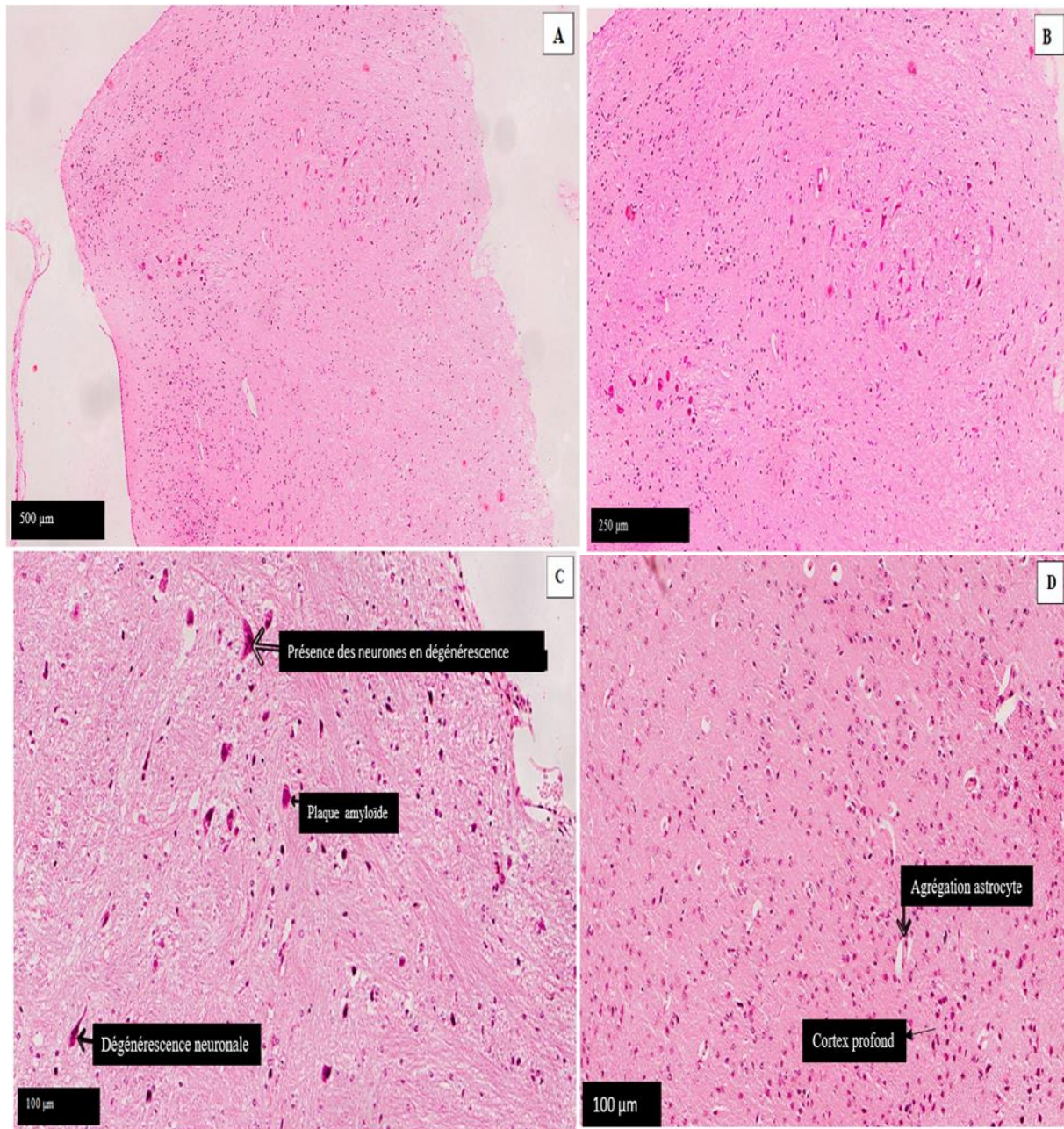


Figure 67 : photomicrographie du cortex cérébral de souris Alzheimer (ALZ) qu'il a reçu chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg, à la suite de l'expérience, des sections de cerveau de souris, le cortex cérébral, a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500μm, 250 μm, 100 μm (A, B, C/D) respectivement.

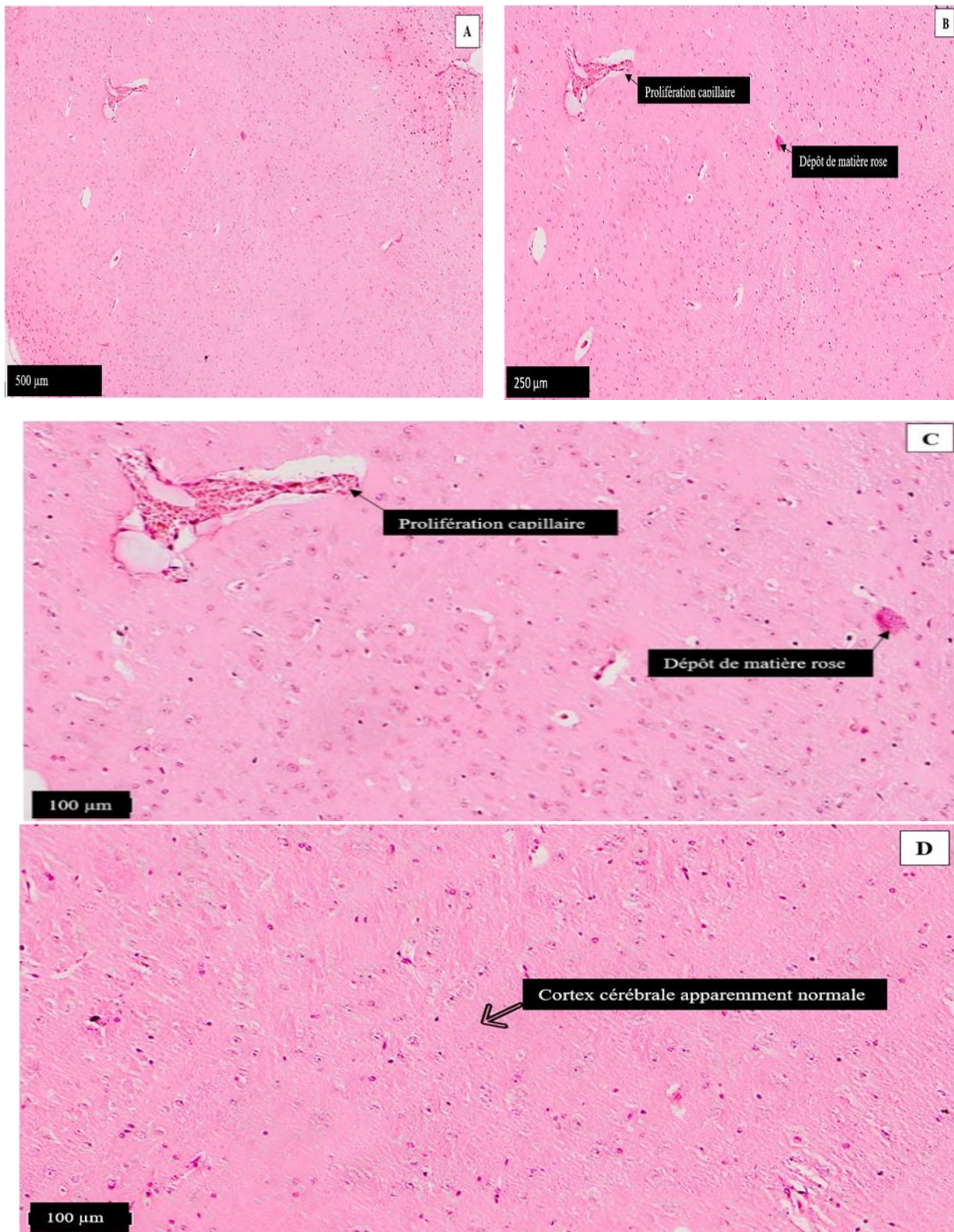


Figure 68 : photomicrographie cortex cérébral de souris modèle Alzheimer Standards (ALZ-STD) qu'il a reçus les rivastigmine/Donépézile à 1mg/kg, à la suite de l'expérience, des sections de cerveau de souris, le cortex cérébral, a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500μm, 250 μm, 100 μm (A, B, C/D) respectivement.

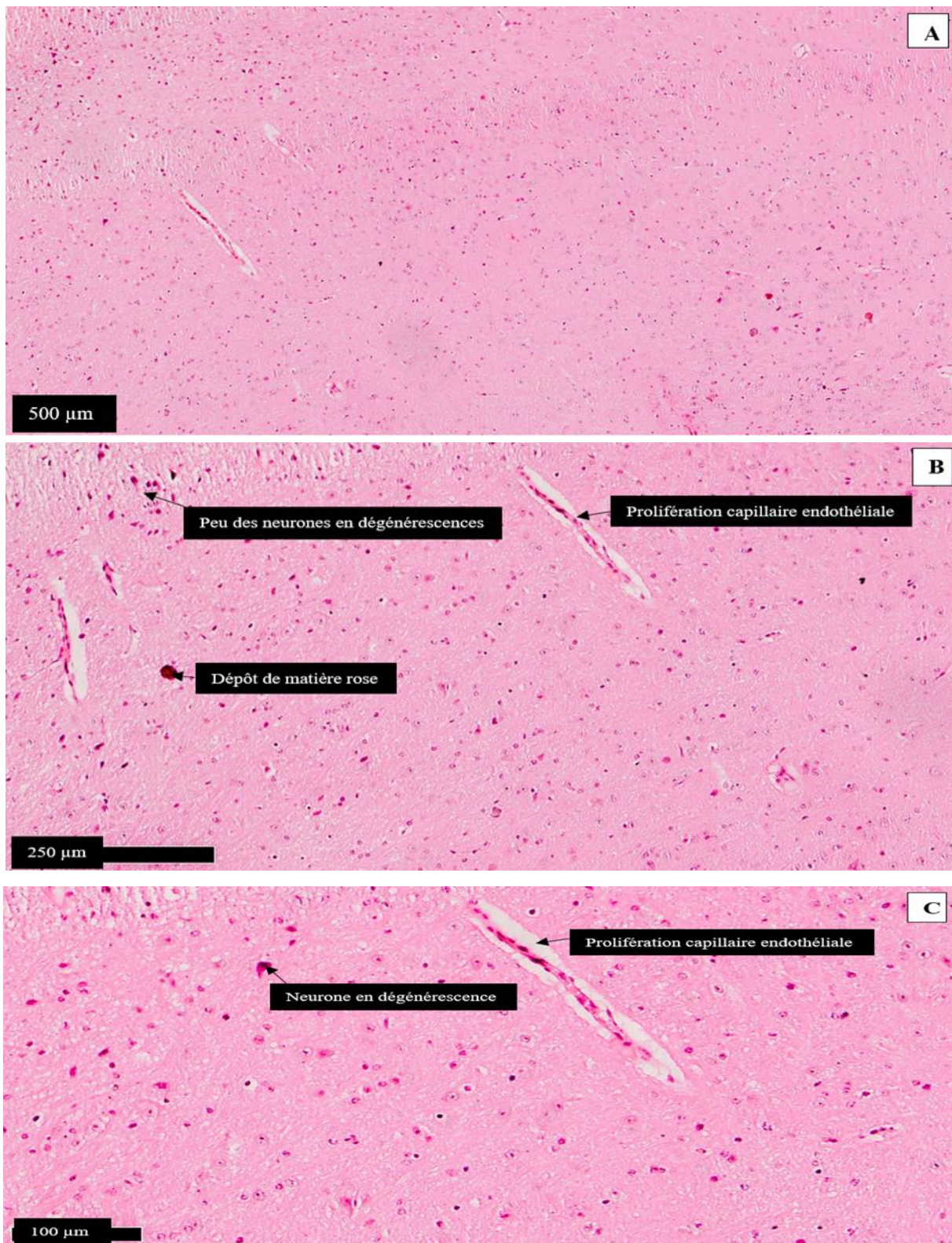


Figure 69 : photomicrographie du cortex cérébral de souris (ALZ-ED1) modèle Alzheimer traité avec extrait de PE à 100 mg/kg, à la suite de l'expérience, des sections de cerveau de souris, le cortex cérébral, a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500 μm , 250 μm , 100 μm (A, B, C/D) respectivement

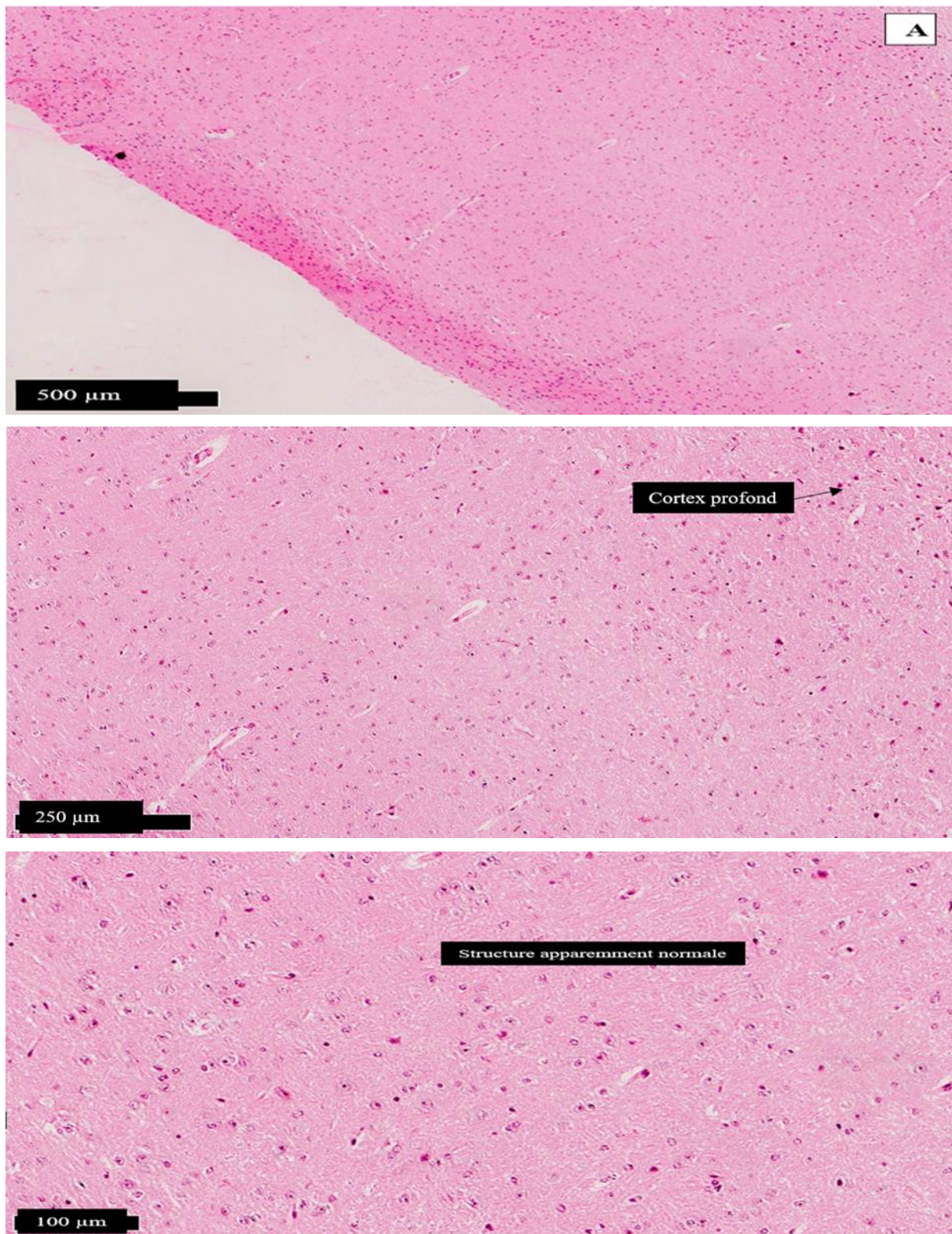


Figure 70 : photomicrographie du cortex cérébral de souris (ALZ-ED2) modèle Alzheimer traité avec extrait de PE à 200 mg/kg, à la suite de l'expérience, des sections de cerveau de souris, le cortex cérébral, a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500μm, 250 μm, 100 μm (A, B, C) respectivement

II.7.2.2. Hippocampe

L'examen microscopique de la région de l'hippocampe a révélé la dégénérescence des neurones pyramidaux, le gonflement des neurones, la vacuolisation et l'apoptose des cellules lors d'une longue exposition à A β 1-42, le groupe Alz présentait de nombreuses cellules dégénérées et une diminution de la densité cellulaire.

Alors qu'il y avait une cytoarchitecture normale des cellules pyramidales matures dans le groupe témoin normal (**Fig .71**).

L'administration concomitante d'A β 1-42/D-gal et d'une fraction riche en stilbénoides a significativement atténué la neurodégénérescence induite par A β 1-42 dans la région de l'hippocampe (**Fig .72**).

L'évaluation histologique a également montré que l'hippocampe de la souris traitée à la rivastigmine semblait normal, la fraction de *Passiflora edulis* exerçait une action neuroprotectrice comme celle de la rivastigmine dans le maintien de l'hippocampe chez les souris atteintes de la maladie d'Alzheimer traitées. (**Fig 73, 74, 75**).

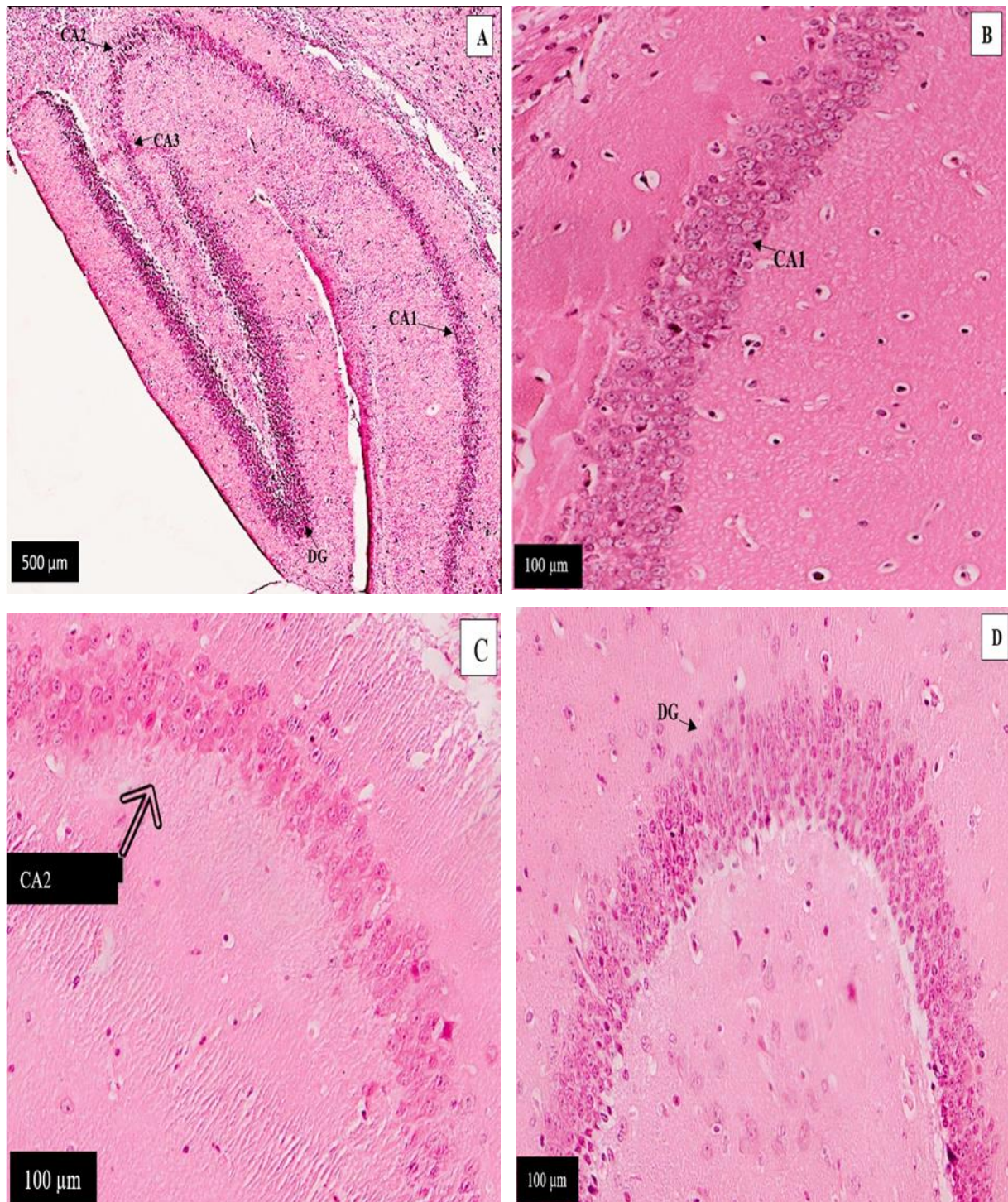


Figure 71 : photomicrographie de l'hippocampe de souris témoin, à la suite de l'expérience, des sections de cerveau de souris, l'hippocampe, a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500μm, 250 μm, 100 μm (A, B, C/D) respectivement.

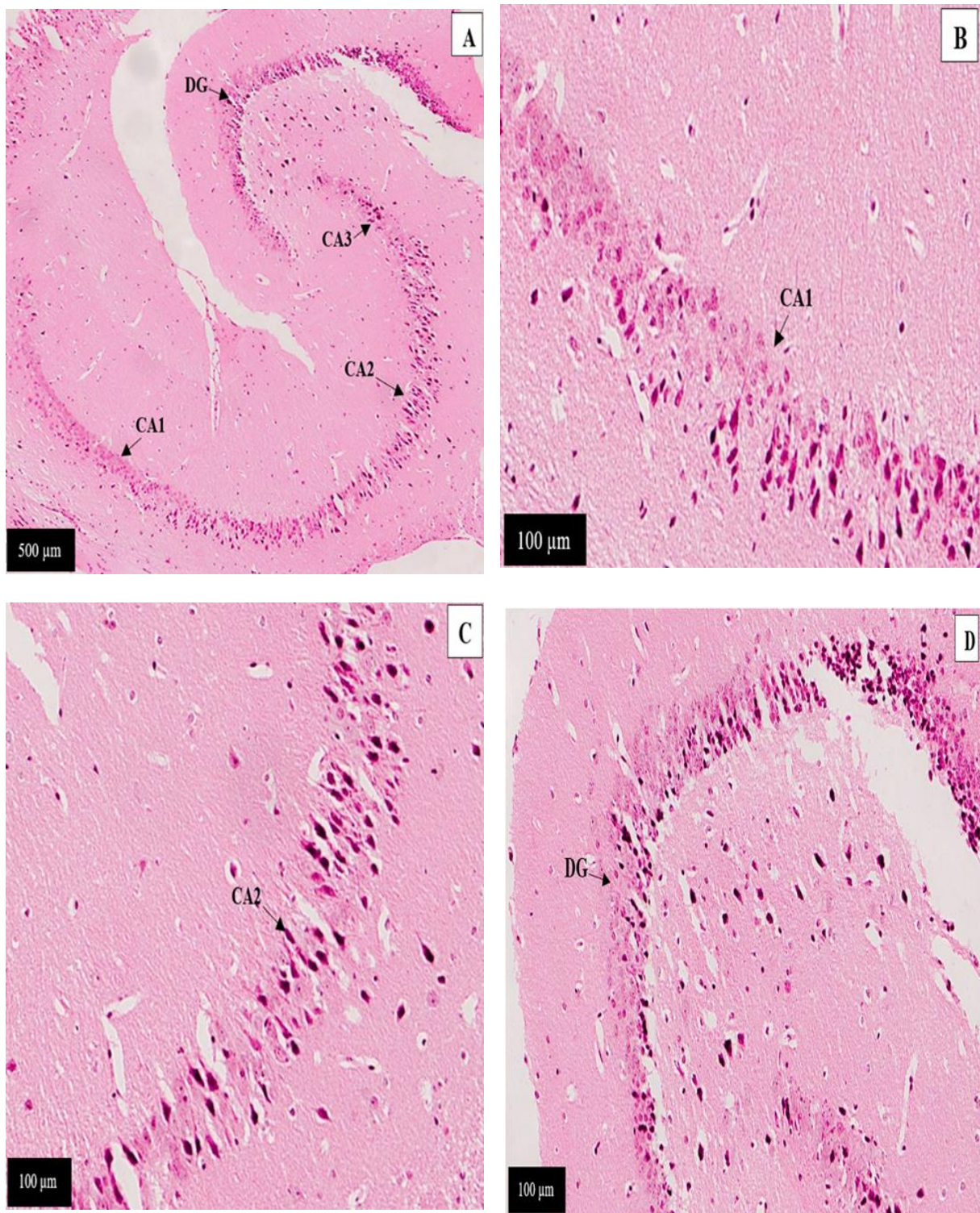


Figure 72 : photomicrographie du hippocampe de souris Alzheimer (ALZ) qu'il a reçus chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg , à la suite de l'expérience , des section de cerveau de souris , l'hippocampe a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500 μ m , 250 μ m , 100 μ m (A , B , C/D) respectivement .

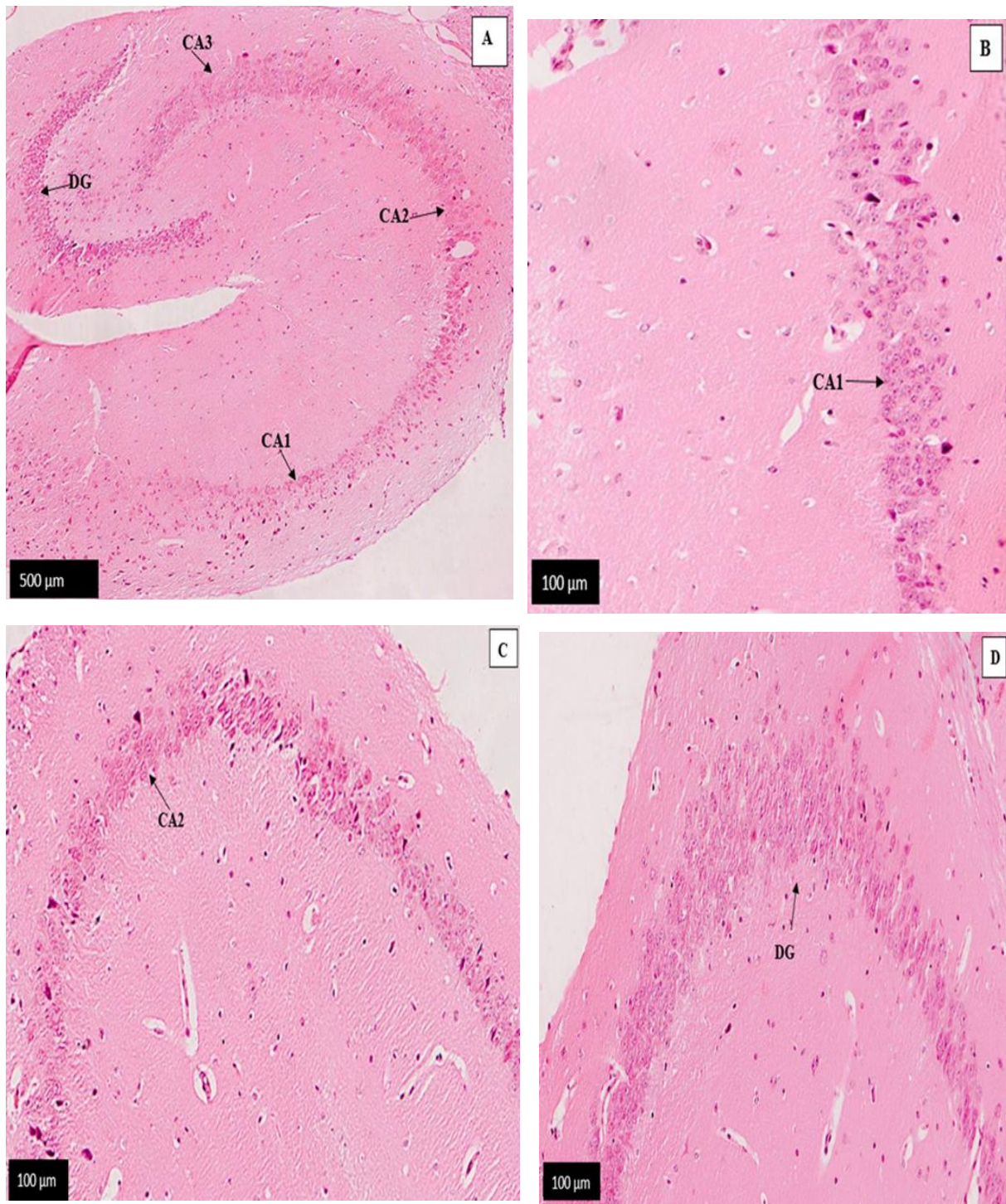


Figure 73 : photomicrographie de l'hippocampe de souris modèle Alzheimer Standards (ALZ-STD) qu'il a reçus les rivastigmine/Donépézile à 1mg/kg, à la suite de l'expérience, des sections de cerveau de souris, l'hippocampe, a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500μm, 250 μm, 100 μm (A, B, C/D) respectivement

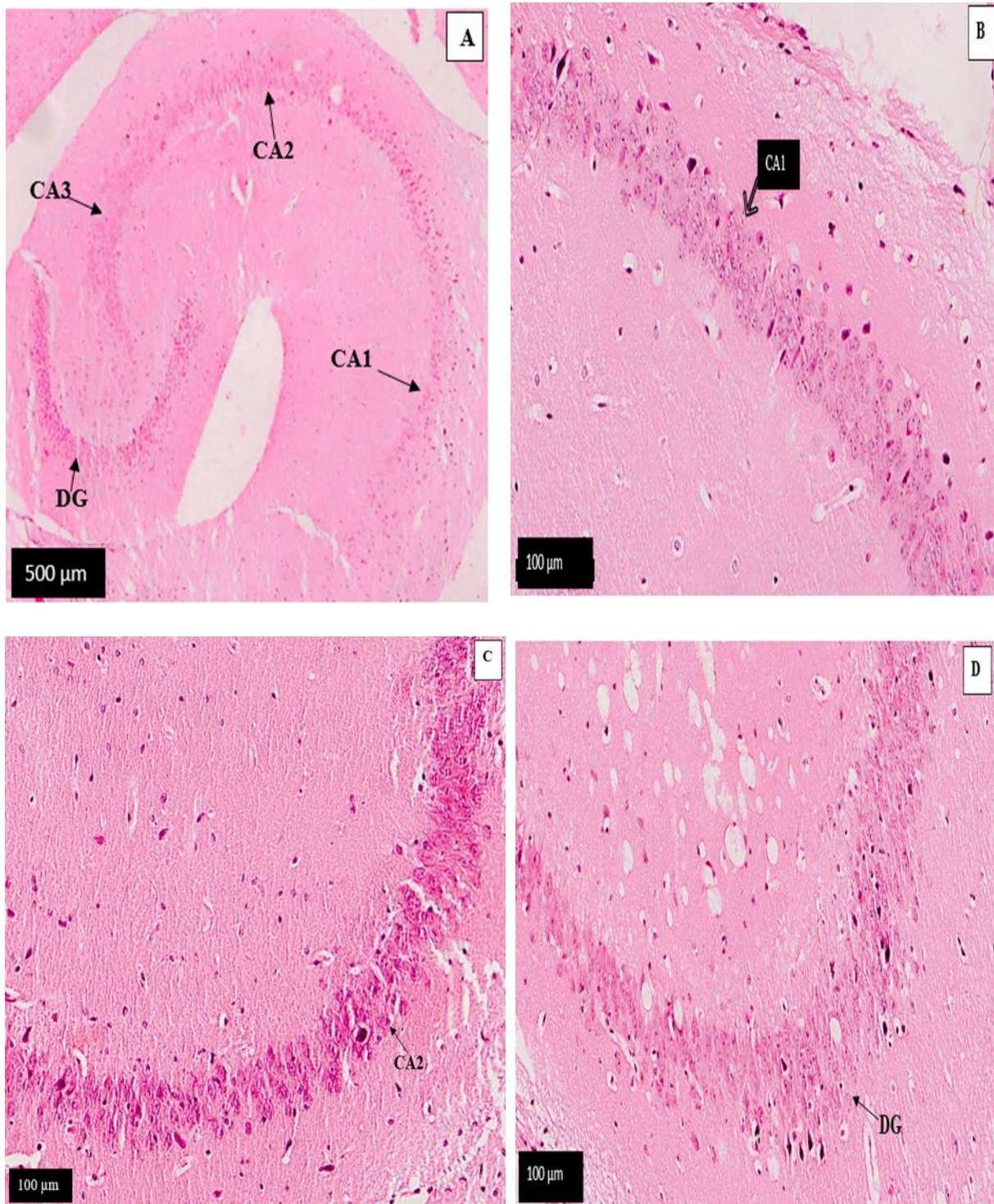


Figure 74 : photomicrographie de l'hippocampe de souris (ALZ-ED1) modèle Alzheimer traité avec extrait de PE à 100 mg/kg, à la suite de l'expérience, des sections de cerveau de souris, l'hippocampe, a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500μm, 250 μm, 100 μm (A, B, C/D) respectivement

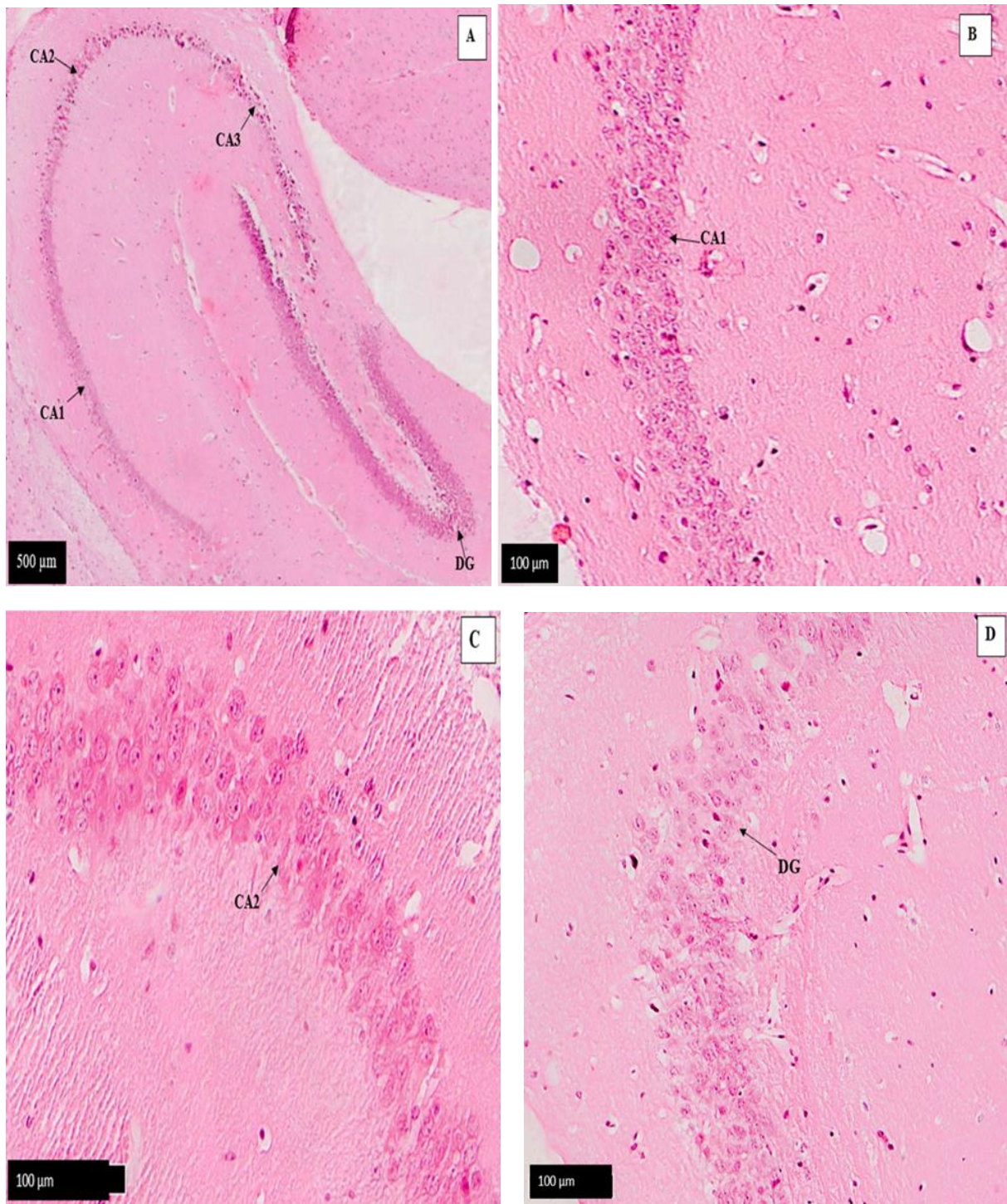


Figure 75 : photomicrographie de l'hippocampe de souris (ALZ-ED2) modèle Alzheimer traité avec extrait de PE à 200 mg/kg, à la suite de l'expérience, des sections de cerveau de souris, l'hippocampe, a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500μm, 250 μm, 100 μm (A, B, C/D) respectivement.

II.7.2.3. Cervelet

Le cervelet des souris du groupe témoin a révélé une couche moléculaire d'apparence normale (**Fig76. A. a**), une nécrose des cellules de Purkinje a été fréquemment détectée dans le cervelet du groupe Alz (**Fig 76.B.b**). Aucune altération histologique n'a été observée dans le cervelet de tous les groupes protecteurs (Alz-ED1, Alz-ED2) (**Fig.77.Bb. Cc**) et chez les souris traitées avec la rivastigmine à 1 mg/kg Alz-STD) (**Fig 77.A.a**).

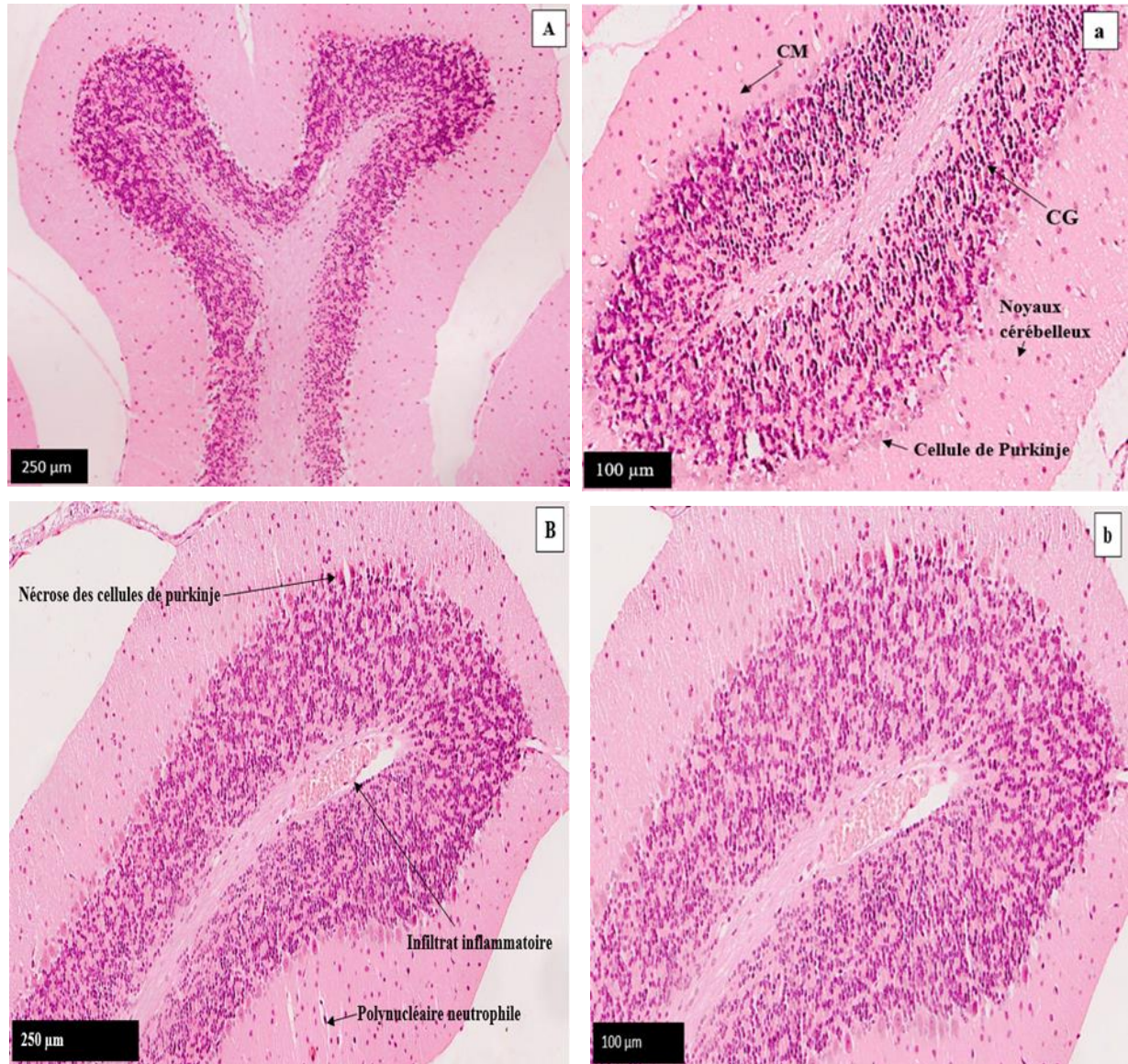


Figure 76 : photomicrographie du cervelet de souris témoin (A, a) ; Alzheimer (ALZ) (B, b) a reçus chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg, à la suite de l'expérience, des sections de cerveau de souris, cervelet, a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 250 μm, 100 μm.

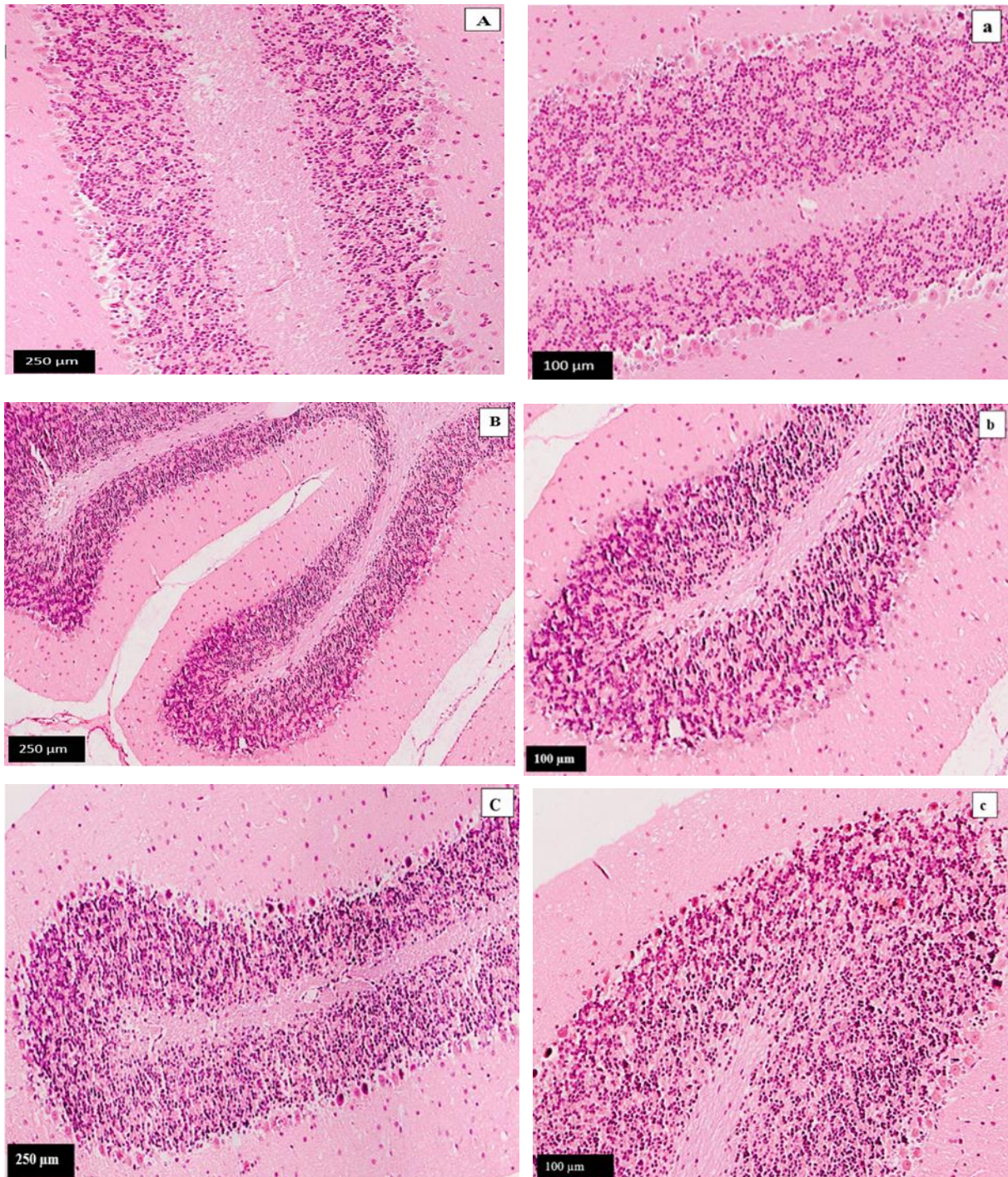


Figure 77 : photomicrographie du cervelet de souris modèle Alzheimer Standards (ALZ-STD) a reçus les rivastigmine/Donépézile à 1mg/kg (A,a) , souris modèle Alzheimer traité avec extrait acétonique des graines de passiflora edulis a 100 et 200 mg/kg (B,b /C,c) Respectivement , à la suite de l'expérience , des section de cerveau de souris , l'hippocampe , a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 250 µm , 100 µm .

II.7.3. Discussion

Dans la présente étude, un modèle de la maladie d'Alzheimer induite par le D-galactose et l'AlCl₃ a été utilisé pour altérer l'apprentissage et la mémoire des souris. Une exposition excessive à AlCl₃ peut induire la surexpression de la protéine précurseur bêta-amyloïde et le dépôt ultérieur de plaque bêta-amyloïde (Ab) dans les cellules cérébrales, entraînant une neurotoxicité grave et des maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer (MA).

Le D-galactose (D-gal) est un sucre réducteur qui peut réagir avec les groupes amines libres dans les peptides et les protéines pour produire des produits finaux de glycation avancée (AGE). L'administration chronique à faible dose de D-gal a induit chez les animaux des changements qui imitent les processus naturels de vieillissement, notamment le stress oxydatif, les troubles cognitifs et les modifications [Doungue, H.T et al., 2018].

De plus, des expériences impliquant l'administration sous-cutanée continue de D-gal à des souris ont entraîné une réduction significative de l'activité de l'acétylcholine (ACh) dans leur cerveau. La combinaison d'AlCl₃ et de D-gal pour simuler des pathologies de type MA et des troubles cognitifs constitue un excellent modèle pour l'examen des thérapies anti-Alzheimer

Chlorure d'aluminium (AlCl₃) contribue à l'étiologie de plusieurs maladies neurodégénératives en affectant plusieurs biomolécules liées à la neurotoxicité [Abbas, F et al., 2022, Mehrbeheshti, N et al., 2022]. L'AlCl₃ est connu pour accélérer le stress oxydatif, la réticulation et le dépôt d'oligomères Aβ, et la formation de plaques amyloïdes dans le cortex cérébral et l'hippocampe. Ainsi, la MA induite par le chlorure d'aluminium (AlCl₃) chez le rat est un bon modèle pour étudier les effets neuroprotecteurs de nombreux composés phytochimiques et chimiques contre la MA [Chen, S. X et al., 2022 ; EL Bini-Dhouib et al., 2021].

La prédominance de l'aluminium dans l'environnement, les activités de la vie normale et l'alimentation le rend presque inévitable pour l'exposition [Mesole, S. B et al., 2020 ; Skalny, A. V et al., 2021]. En utilisant ce modèle, il imite les effets protecteurs et améliorateurs de certains produits chimiques contre la maladie d'Alzheimer chez l'homme. [Hamdan, A. M. E et al., 2022]

L'exposition chronique à l'aluminium est associée à des changements comportementaux et neuropathologies. Parmi eux, les déficits d'apprentissage et les fonctions comportementales sont les plus évidents [**Kumar et Gill, 2009**].

Dans la présente étude, l'administration chronique d'AlCl₃ (100 mg/kg) pour l'induction de troubles cognitifs chez les souris a eu un effet néfaste sur leur comportement, comme l'a montré une étude d'évaluation comportementale, qui comprenait le test locomotrice, Curiosité, labyrinthe en croix surélevée et le test compartiment noir/blanc

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'effet de l'exposition chronique au chlorure d'aluminium sur le comportement, qui a été étudiée par une série de tests chez la souris. Le traitement phytothérapeutique a montré une utilisation intensive dans la lutte contre les troubles neurologiques du comportement.

Plusieurs recherche a été mené pour le test de l'activité locomotrice qui'est utilisé pour mesurer la mémoire de travail à court terme, qui est une mémoire dépendante de l'hippocampe [**Krauter, Guest et Sarnyai, 2019 ; Hullmann et al., 2017**].

Les résultats du test d'activité locomotrice effectué après l'exposition au chlorure d'aluminium ont provoqué une hypoactivité locomotrice chez les souris modèles Alzheimer après par rapport aux souris témoins. Ces résultats concordent avec les travaux de [**Kumar et al., 2009**] ; [**Golube et al., 1998**] ; [**Kumar et al., 2009**] ; mais ne concordent pas avec celles rapportées par [**Amador et al., 2001**] qui ont observé que l'activité locomotrice augmente après l'administration de chlorure d'aluminium.

De plus [**Muzzu, Mitolo, Gava et Schultz, 2018**], ont mentionné également que les rats traités à l'AlCl₃ ont parcouru beaucoup moins de distance que les autres groupes. Il est bien connu que le cervelet est concerné par l'activité locomotrice par conséquent, toute perturbation de la locomotion peut indiquer une atteinte cérébelleuse, ce qui est en accord avec [**Hritcu et al., 2014**].

La consommation quotidienne de l'extrait des graines de *Passiflora edulis* a entraîné un affaiblissement de l'activité locomotrice chez les souris modèles Alzheimer traitées avec les deux doses 100 et 200 mg/k (Alz-D1, Alz-D2) respectivement par rapport aux souris témoins.

Lors du test de curiosité, il a été noté que les souris modèles de la maladie d'Alzheimer sont moins curieuses après l'administration de chlorure d'aluminium pendant 45 jours, ce qui correspond à une manifestation d'anxiété par rapport aux témoins (T). Ces résultats sont

cohérents avec les travaux de [Gadouche et al., 2018] et [Zerrouki et al., 2016] et sont en contradiction avec ce qui a été trouvé lors des travaux de [Djebli et Rebai, 2008]. Ces dernières ont rapporté que les souris modèles de la maladie d'Alzheimer sont plus exploratrices (curieuses et dynamiques) que les souris témoins,

D'autre part, ces mêmes observations se retrouvent également après la période thérapeutique. Les souris modèles de la maladie d'Alzheimer (Alz) et les souris atteintes de la maladie d'Alzheimer traitées avec l'extrait d'Anacyclus pyrèthre à 100 mg/kg (Alz-D1) et 200 mg/kg (Alz-D2) ainsi que le donépézil (Alz-STD) montrent une curiosité moins intense que les souris témoins (T).

En ce qui concerne le test du compartiment noir et blanc, il a été constaté qu'après l'induction de la maladie d'Alzheimer, les souris modèles de la maladie d'Alzheimer passent moins de temps dans le compartiment noir que les témoins (différence significative), ce qui est conforme aux travaux de Djebli et Rebai, (2008). D'autre part, les résultats de Zerrouki et al., (2016) ne sont pas en accord avec les nôtres, puisqu'ils ont constaté que les souris modèles de la maladie d'Alzheimer passent plus de temps dans le compartiment noir.

Après la période thérapeutique, les résultats révèlent une préférence très significative ($P < 0,001$) pour le compartiment sombre chez les souris Alzheimer traitées avec l'extrait des graines de *P. edulis* (Alz-ED1, Alz-ED2) par rapport aux souris modèles Alzheimer (Alz). Ces résultats s'expliquent par la peur des souris modèles de la maladie d'Alzheimer et leur séjour dans la chambre blanche serait dû au stress oxydatif dans les deux régions du cortex cérébral. Alors que le traitement avec l'extrait entraîne une action antioxydante, ce qui rend les souris atteintes de la maladie d'Alzheimer traitées (Alz-D1, Alz-ED2) calmes et préfèrent le compartiment sombre.

L'évaluation comportementale comprenait également le test modifié de labyrinthe en croix surélevé. Il s'agit d'un test simple et rapide lié à la mémoire à long terme qui permet de détecter la capacité des rats à consolider l'information sur une longue période. [Khalil et al., 2020].

Les résultats obtenus à partir du test du labyrinthe croisé surélevé montrent un temps de séjour plus court dans le bras protégé chez les souris modèles de la maladie d'Alzheimer après 45 jours d'exposition au chlorure d'aluminium par rapport aux témoins (T).

Plusieurs travaux ont été fait pour ce tests, les résultats de [**Chiroma et al., 2019**] et [**Ahmad Rather et al., 2019**] indiquent que Les rats traités avec AlCl₃ ont montré une latence de transfert réduite (pour localiser le bras fermé) dans la session de rétention. D'autre part, les rats traités avec le médicament classique rivastigmine-AlCl₃, ont été capables d'inverser les déficits. Ce résultat est cohérent avec un résultat précédent qui montrait une réduction de la latence de transfert (pour localiser le bras fermé) dans la session de rétention de rats recevant AlCl₃.

La durée de séjour dans le bras protégé chez les souris modèle Alzheimer traitées avec l'extrait acétonique des graines de *Passiflora edulis* (Alz-D1, Alz-D2) est presque similaire à celle des témoins (T) qu'ils ont passé plus de temps des bras protégés et significativement élevée par rapport aux souris modèles de la maladie d'Alzheimer (Alz). Par contre les résultats de [**Ayres, A. S et al., 2015**] ont trouvé que l'extrait aqueux des fruits de *Passiflora edulis* a suscité une augmentation significative du pourcentage d'entrées dans les bras ouverts et Aucun effet significatif sur le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts et la fréquence des entrées dans les bras fermés n'a été observé chez les souris traitées avec l'extrait des fruits de *Passiflora edulis*.

D'après [**Khalifa, et al., 2020 ; Ogunlade et al., 2020**] Les rats traités à l'AlCl₃ ont montré une réduction du nombre d'entrées dans le bras, un pourcentage d'alternance spontanée, bien que ni l'un ni l'autre n'ait été significatif. Ceci est cohérent avec une découverte antérieure qui a montré une réduction du pourcentage d'alternance dynamique chez les rats ayant reçu AlCl₃.

Plusieurs études ont été examiné les effets de *P. edulis* sur l'anxiété. Cependant, les résultats expérimentaux ont suscité une certaine controverse. [**Petry et al., 2001**] ont montré que *P. edulis* Sims réduisait l'anxiété chez les souris, ainsi que [**Coleta et al., 2006**] et [**Barbosa et al., 2008**]. Cependant, [**Dhawan et al., 2001**] ont indiqué que *P. edulis* Sims était dépourvu d'activité anxiolytique. [**Li et al., 2011**] a observé que les deux variétés de *P. edulis* réduisent les comportements d'anxiété.

Dans le but d'étudier la mémoire des souris, les tests de Morris et de labyrinthe radical à 8 bras ont été établis. Au cours de ces tests, la capacité des souris à quitter la piscine, à retourner dans leur cage ou à trouver de la nourriture dépend de leur attention, de leur apprentissage, de leur mémoire et de leur vision [**Doungue, H.T et al.,2018**].

La différence dans leurs performances a été utilisée pour évaluer les effets neurothérapeutiques des fractions d'acétone riches en stilbène des graines de *P. edulis* sur les fonctions cognitives.

Dans notre étude sur la mémoire, les souris traitées avec $AlCl_3$ et D-galactose présentaient une diminution significative de la mémoire et de la capacité d'apprentissage ($P < 0,01$), ce qui était associé à la présence de neurones dégénérés dans le cortex cérébral, l'hippocampe et le cervelet, ainsi qu'à des anomalies histomorphologiques. Ces résultats et constatations sont conformes à ceux rapportés par Chiroma et al. [Chiroma, S. M et al., 2018, Chiroma, S. M et al., 2019], Zerrouki et al. [Zerrouki, Kh et al., 2016], et [Gadouche, L et al., 2018] et [Yang, W. N et al., 2013].

La fraction acétone des graines de *P. edulis* (PEAS) entraîne une réduction très significative du nombre de bras répétés chez les souris traitées avec Alz-ED1 et Alz-ED2 ainsi que chez les souris traitées avec la rivastigmine à 1 mg/kg par rapport aux souris modèles de la maladie d'Alzheimer (Alz) sur divers tests de mémoire, y compris la mémoire de travail spatiale et le labyrinthe aquatique de Morris.

Dans le test de mémoire de travail spatiale, le nombre d'entrées répétées dans le bras des souris traitées avec Alz-ED1 et Alz-ED2 (scores de 11 et 9, respectivement) a fait significativement moins d'erreurs que celles des souris traitées avec la maladie d'Alzheimer (score de 15) ($P \leq 0,010$). De même, dans le test de mémoire spatiale de référence, les souris atteintes de la maladie d'Alzheimer traitées (Alz-ED2, Alz-ED1) (85 secondes et 70 secondes, respectivement) sont restées plus longtemps dans le bras éclairé que celles des souris atteintes de la maladie d'Alzheimer (Alz) (65 secondes). ($P \leq 0,001$)

Le score de visite dans le bras appâté lors de l'expérience de distinction de position par des souris du modèle Alzheimer traitées avec une fraction PEAS à 200 mg/kg et 100 mg/kg (Alz-ED2 et Alz-ED1) (scores de 8 et 8,5, respectivement) était inférieur à celui des souris témoins (score de 9,5) mais significativement supérieur à celui des souris Alz-STD (score de 7,0) et des souris modèles de la maladie d'Alzheimer (score de 6) ($P \leq 0,001$)

Les souris modèles de la maladie d'Alzheimer ont mis beaucoup plus de temps à localiser la plate-forme dans les deux tests du labyrinthe aquatique de Morris (mémoire de travail spatiale (SWM) et mémoire de référence spatiale conditionnée (SRM)) que les souris témoins et les souris traitées (Alz-ED2, Alz-STD). Au cours de la journée du test de mémoire spatiale de travail, les souris atteintes de la maladie d'Alzheimer traitées (AlzED1, Alz-ED2 et Alz-STD) ont eu besoin d'environ 3,5, 2,5 et 1,5 seconde, respectivement, pour localiser la plate-forme visible (pool de Morris). Les souris modèles de la maladie d'Alzheimer ont mis 7,5 secondes ($P \leq 0,001$) de plus pour localiser la plate-forme visible dans la même situation. Les souris

modèles de la maladie d'Alzheimer (Alz) ont terminé le test de mémoire de référence spatiale conditionnée par le labyrinthe d'eau de Morris en 10 secondes de plus que tous les autres groupes de souris, y compris les souris témoins (3,2 secondes), les souris Alz-STD (3,0 secondes), les souris Alz-ED2 (4,0 secondes) et surtout les souris Alz-ED1 (2,5 secondes). ($P \leq 0,001$).

Cela signifie que les souris traitées avec du PEAS (100 mg/kg et 200 mg/kg) ont passé moins de 47 % et 66 % du temps, respectivement, que les souris modèles d'Alzheimer (Alz). Il a déjà été démontré que ces souris pathologiques présentant des déficits cognitifs passent plus de temps à chercher la plate-forme ou dans le bras sombre [Ito, H. T et al., 2013] que les souris témoins [Mahdi, O et al., 2021 ; Chiroma, S. M et al., 2019]. En général, l'administration du PEAS a entraîné une diminution significative du temps et du nombre d'erreurs nécessaires pour trouver de la nourriture ou un moyen de sortir du labyrinthe par rapport aux souris modèles de la maladie d'Alzheimer (Alz). Ces résultats ont indiqué que l'apprentissage et la mémoire s'étaient considérablement améliorés et restaurés.

L'administration d'ions aluminium a altéré non seulement la mémoire spatiale, mais aussi la mémoire à long terme (mémoire de référence). L'échec cognitif chez les souris AlCl₃/D-Gal induites par la maladie d'Alzheimer était supposé être la conséquence d'une neurodégénérescence et d'une modification des parties du cerveau (cortex cérébral, cervelet et hippocampe) dues à un niveau élevé de stress oxydatif [Ito, H. T et al., 2013]. La perturbation des fonctions de l'hippocampe a affecté la mémoire à court terme, ce qui s'exprime par un déficit dans le processus d'apprentissage et d'acquisition. Ces changements sont également le résultat de la dégénérescence neuronale et de la mémoire à long terme dans le modèle de la maladie d'Alzheimer [Thangarajan, S et al., 2014].

AlCl₃ a provoqué un déclin de l'apprentissage spatial et de la mémoire, ainsi que des changements histopathologiques dans le cerveau des rats ou des souris. Les composés phytochimiques ont restauré les activités antioxydantes, bloqué l'activation de l'inflammasome, l'apoptose, l'expression de TLR4, la génération d'amyloïde- β et l'hyperphosphorylation de la protéine tau [Hamdan, A. M. E et al., 2022].

Une cytoarchitecture anormale a été remarquée chez les souris traités avec le chlorure d'aluminium combiné au D-galactose, avec l'apparition des neurones en dégénérescence et des dépôts des plaques amyloïdes.

Nos résultats sont soutenus avec les travaux de [Yi, S *et al.*, 2021 ; Saba, K *et al.*, 2017] qu'ils sont conclus qu'il existe une forte corrélation entre l'AlCl₃ et le développement de la MA. l'AlCl₃ peut traverser la barrière hémato-encéphalique et se déposer dans diverses régions des tissus cérébraux, ce qui favorise le dépôt d'A β , l'agrégation de tau hyperphosphorylé, la peroxydation lipidique et l'altération de l'apprentissage et de la mémoire.

[Doungue *et al.*, 2018] a étudié également les changements histologiques et comportementaux causés par l'exposition d'AlCl₃ et l'effet possible du traitement par EP. Ils ont constaté que l'exposition chronique au chlorure d'aluminium provoquait des changements morphologiques significatifs dans la région CA1 de l'hippocampe, tels qu'une altération de la disposition pyramidale de l'arès cellulaire.

Cependant, dans notre présente étude, il a été démontré que l'administration de PE (Alz-ED1, Alz-ED2) avait un effet m'égalisant et protecteur contre la neurotoxicité et la maladie d'Alzheimer par rapport au groupe Alzheimer

Ces résultats ont indiqué que la fraction acétone riche en stilbène des graines extraites de *P. edulis* par l'huile était capable d'améliorer la mémoire et d'inverser les troubles cognitifs, ce qui suggère son rôle potentiel en tant qu'agent neuroprotecteur contre la neurotoxicité induite par le D-gal et l'AlCl₃. La fraction de *P. edulis* peut améliorer la fonction cognitive de deux manières différentes : en réduisant le stress oxydatif et en arrêtant l'activité du cholinestérase.

D'après nos résultats en conclure que l'administration concomitante de PE et d'AlCl₃ pourrait atténuer les changements dégénératifs induits par l'aluminium

Nos résultats sont confirmé par les résultats de [Doungue *et al.*, 2018] qu'ils ont mentionnée que Le traitement des rats atteints de MA avec PE a amélioré les changements neurocomportementaux, comme en témoigne l'amélioration de la fonction cérébrale, ainsi que la modulation de l'AChE, et confirmé par les changements histologiques et le test du labyrinthe de Morris , ainsi que les flavonoïdes représentent la majeure partie de l'activité antioxydante et de l'effet neuroprotecteur de *Passiflora edulis* .

Les composés phytochimiques sont des thérapies prometteuses pour le traitement de la maladie d'Alzheimer en raison de leurs fonctions d'inhibition du stress oxydatif, de la neuroinflammation et du dysfonctionnement mitochondrial [Vaiserman *et al.*, 2020]

L'étude de [Doungue *et al.*, 2018] a été clairement montré que l'extrait aqueux des fruits de *Passiflora edulis* possède des propriété anticholinergiques, anti-neuro-inflammatoires, anti-

amyloïdiques et antioxydantes et pourrait donc inverser le dysfonctionnement cognitif induit par l'aluminium, La fonction cognitive a été restaurée lors d'un traitement par EP. Par contre à ce que n'a trouvé ses résultats a montré que l'effet global plus important de l'extrait aqueux par rapport à la fraction.

Les résultats de [Cao, S. Q et al.,2022]. Ont montrés que le péricarpe de *P. edulis* protège contre les déficits de mémoire et la perte neuronale, et favorise la longévité dans le modèle A β de la maladie d'Alzheimer via la stimulation de la mitophagie. Ses résultats indiquent une PPE protégée contre les déficiences de mémoire et une durée de vie prolongée, en particulier le modèle hA β 1-42 de la maladie d'Alzheimer

Le péricarpe de *P. edulis* restaure également la mémoire et augmente la résilience neuronale de la maladie d'Alzheimer. De plus des études épidémiologiques indiquent que la maladie d'Alzheimer altère non seulement la mémoire, mais raccourcit également la durée de vie [Ping Y et al., 2015 ; Alzheimer's Association. 2016].

II.4. Dosage de l'acétylcholinestérase in vivo

II.4.1. Préparation de l'homogénat :

Après le dernière jour des tests neurologique et afin de déterminer l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase et le dosage des protéines, les souris de chaque groupes ont été sacrifiés et le cerveau a été rapidement incisés et lavé dans une solution saline froide et maintenus sur la glace dans un réfrigérateur de -86°C. Ensuite 20 mg de chaque cerveau a été broyé à l'aide d'un homogénéisateur dans un volume de 1600 µl de tampon de lyse (RIPA Lysis Buffer 10x) , l'homogénat a été centrifugés à 2500 tr/min pendant 15 min , le surnageant (SN) a été récupéré et utilisée pour les essais suivants :

II.4.2. Le dosage de l'acétylcholinestérase :

L'activité de l'AchE a été évalué dans un mélange réactionnel contenant 250 µl de l'Acétylthiocoline, 250 µl de DTNB (acide 5-mercapto-2-nitrobenzoïque) et 4.5 ml du tampon d'Assay Buffer) pour avoir un volume de 5ml de mélange réactionnel, dans une microplaquette de 96 puits, un volume de 50µl de l'homogénat est mélangé avec 50µl de mélange réactionnel Puis le mélange est incubé pendant 20min à température ambiante à d'abri de la lumière. La microplaquette a été placée dans un spectrophotomètre réglé à longueur d'onde 410nm.

La même méthode a été effectuée en remplaçant l'homogénat par l'acétylcholinestérase standard 50 u/ml (dilué dans 100 µl de ddH₂O avec 0.1% BSA) avec différente concentration

Les essais ont été effectués en triplicata, les courbes d'étalonnage ont été construites pour obtenir le pourcentage d'inhibition de l'AchE, qui a été calculé selon l'équation :

$$I (\%) = (Ac - Ae)/Ac \times 100$$

I% : Le pourcentage d'inhibition

Ac : absorbance de la solution enzymatique en absence de l'extrait.

Ae : absorbance de la solution enzymatique en présence de l'extrait.

Les résultats ont été exprimés en CI₅₀ (%) (Concentration d'extrait requise pour inhiber l'activité de l'AChE dans 50 %).

II.4.3. Les Résultats

Dans la présente étude des souris souche NMRI femelle ont été tester l'effet de l'extrait des graines de *passiflora edulis* sur l'action inhibitrice de l'acétylcholinestérase. D'après les résultats de la **figure.78** on observe un bon effet inhibiteur de l'AChE dans le groupe traité avec l'extrait de PE avec la dose 200 mg/kg , ainsi que le groupe traité avec le standard rivastigmine/donépézile comparativement avec le groupe modèle Alzheimer ($P \leq 0.001$) .

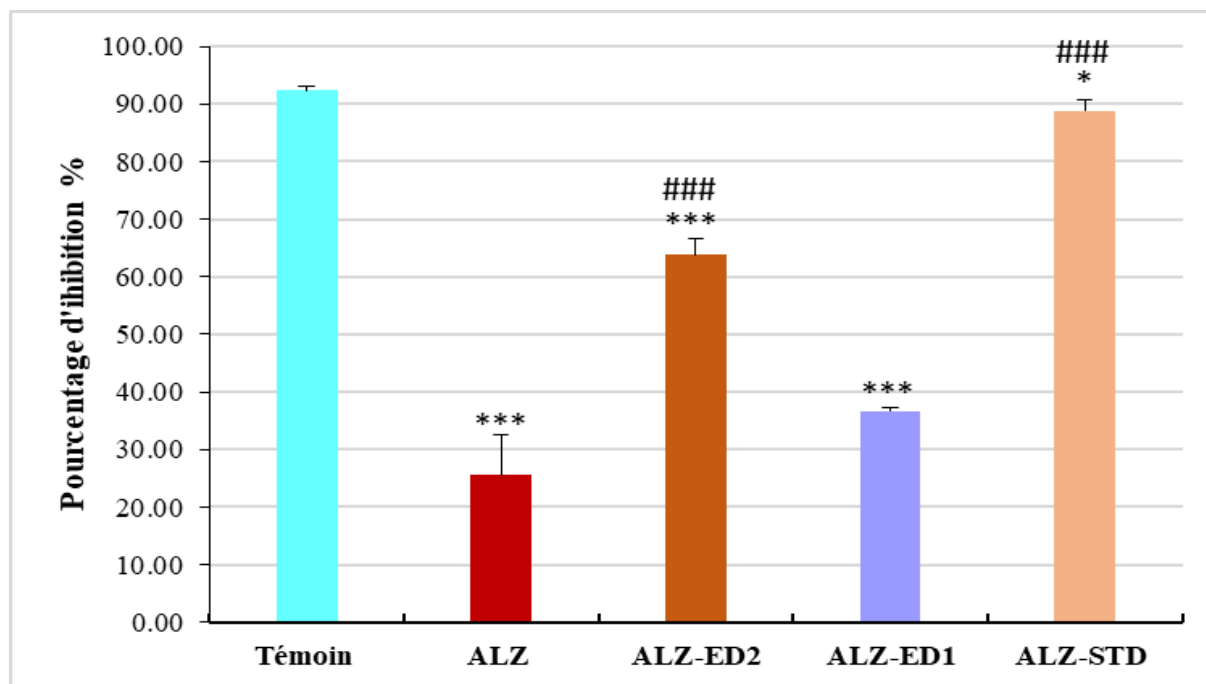


Figure 78 : Activité inhibitrice de l'AChE (%) chez les souris chez : souris témoins ; **Alz** : souris modèle Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg), **ALZ-ED2** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale). **ALZ-ED1** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale). **ALZ-STD** : groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale). * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ comparativement aux témoins. # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$, ### $P \leq 0.01$ comparativement Alzheimer (Alz).

Plusieurs études antérieures sur les traitements Anti-Alzheimer qui mesuraient le niveau d'AChE dans le cerveau utilisaient des rats wistar albinos mâles [Zhang, Y et al.,2016 ; Hasanein, P., & Mahtaj, A. K. 2015 ; Mathiyazahan, D. B et al., 2015]. Nos résultats ont été confirmé par [Smilin Bell et al., 2020].

Ces résultats sont peut-être associés aux composés ayant la teneur en phénols totaux élevée ainsi que la concentration en piceatannol, cette remarque est validée par les résultats de [Rege, S. D et al., 2014], qui ont observé que le resvératrol est largement étudié dans le traitement contre la maladie d'Alzheimer

Le travail de [Dos Santos, L. C et al., 2021] a testé l'étalon de piceatannol à une gamme de concentration 1.67 à 16.67 µg /ml pour l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase, ce qui a indiqué une valeur de IC50 $10,892 \pm 1,753$ µg de piceatannol/ml. Ces résultats confirmant que le piceatannol est un inhibiteur potentiel de l'AChE, selon aussi les résultats énoncés par [Santos et al., 2018], contre la galantamine (contrôle positif) IC50 = $0,89 \pm 0,06$ µg de galantamine/ml.

Des plusieurs résultats renforcent l'importance de développer des procédés de purification dans les composés bioactifs. Un travail récent de [Dumont, U et al.,2020] visait à étudier comment une consommation modérée d'alcool (0,5 g/kg/jour) associée à l'administration de deux stilbènes (resvératrol et piceatannol) pendant la grossesse et l'allaitement pouvait affecter le cerveau du fœtus de rat. Les auteurs ont conclu qu'une consommation moyenne de 0.15mg/kg /jour de piceatannol était bénéfique capable de protégé le cerveau contre certain type de lésion cérébrale, la consommation de piceatannol a conduit à une récupération de leurs fonctions cognitives après de telles lésions.

L'étude structurale moléculaire joue un rôle important dans les mécanismes associés aux maladies, puisqu'elle peut révéler comment les interactions moléculaires améliorent le traitement.

Dans notre travail on conclure que l'enrichissement d'un stilbène (piceatannol) dans l'extrait des graines de *Passiflora edulis* a conduit à une diminution de l'activité de l'AChE, ce qui est peut-être lié à la capacité de leur structure moléculaire à entrer en compétition avec le substrat (acétylcholine) dans les sites anioniques et anioniques périphériques [Santos, T. C. D et al., 2018].

[**Melo Filho, A. A et al 2018**] ont rapporté une inhibition de 96,46 % de l'AChE lors de l'application de l'extrait d'hexane de *P. foetida* à 10 mg/ml dans un solvant de diméthylsulfoxyde (DMSO). D'autre part [**Smilin Bell Aseervatham, G et al., 2020**] ont déclaré que l'extrait aqueux de pulpe et de graines de *Passiflora caerulea* a un bon effet inhibiteur de l'AChE dans le groupe traité avec l'extrait de la plante à une concentration de 100 mg/kg.

L'acétylcholinestérase est le marqueur enzymatique des neurones cholinergiques qu'est responsable de la dégradation de l'acétylcholine, un neurotransmetteur lié à la mémoire à court terme. Nos résultats montrent que le traitement à l'aluminium augmenté l'activité de l'AChE dans le cerveau avec une activité très faible de l'inhibition de l'AChE, des résultats qui sont cohérent avec les résultats de [**Hussien, H. M et al., 2018 ; Yuliani, S et al., 2019., Doungue, H. T et al., 2018**].

II.5. Immunohistochimie fluorescente par l'anticorps « anti-beta amyloïdes »

II.5.1. Préparation des lames en silane

Les lames sont déposées dans l'eau chaude avec d'un produit de vaisselle durant une nuit. Le lendemain les lames sont rincés à font à l'eau de ville chaude pendant 2 heures, et puis les lames sont rincées 4 à 5 fois à l'eau distillée, et les laisser à sécher tout une nuit dans l'étuve à température de 42°C, le jour après les lames pour sont laissées à refroidissent jusqu'à température ambiante.

Après ça les lames sont déposées dans 4 bacs, le premier contient la solution du silane 5% et le 2/3/4ème de l'eau distillée.

Une fois que les portoirs passent du bac de la solution (10secondes) aux bacs de solution distillée, il faut changer l'eau distillée du 1^{er} bac et le remplir d'eau distillée propre. et les lames sont passées à la deuxième cuve à la place de la première, la troisième cuve à la place de la deuxième, et la troisième correspond à la cuve propre ou l'eau a été changé.

Une fois fini, tapoter sur du papier pour sécher, et mettre à l'étuve à 42°C pendant une nuit.

II.5.2. Protocole

Des immunohistochimies ont été réalisées sur des coupes paraffinées afin de mettre en évidence les plaques amyloïdes grâce aux anticorps anti-beta amyloïdes et anti-IgG , l'immunohistochimie se déroule selon plusieurs étapes :

II.5.2.1. Déparaffinage et réhydratation

Les lames sont prolongées dans 2 bains de toluène 5 min pour chacun (2 x 5 minutes) puis 3 bains d'alcool 95 % afin d'éliminer la paraffine des tissus. La réhydratation est faite en immergeant les lames dans un bain d'eau courant pendant 10 minutes après on les rinçant avec l'eau distillée.

II.5.2.2. Démasquages des sites antigéniques

Le démasquage permet d'exposer les épitopes des sites antigéniques partiellement dénaturés lors de fixation ou de l'enrobage pour rendre accessibles aux anticorps. Pour cela, les lames sont immergées dans un bain du tampon de citrate de sodium-triton X-100 0.5 % (0.01M, pH 6.2) et chauffées au micro-onde à 900 W jusqu'à l'apparition des premières bulles mais sans attendre l'ébullition (3 min 30 sec) , après la puissance est réduite à 300 W pendant 10 minutes

les lames reposent ensuite dans un bain de tampon à température ambiante pendant 20 minutes avant les rincer avec l'eau distillée .

II.5.2.3. Perméabilisation et blocage

Appelée aussi saturation des sites aspécifique, dans cette expérimentation y a certains éléments tissulaires qui peuvent présenter une affinité non spécifique pour les anticorps utilisé, pour cela il est important de saturer les sites de fixation aspécifiques des immunoglobulines, et donc les lames sont premièrement prolongées dans deux bains de PBS-triton x-100 0.5% (2 x 5 minutes).

Le polythène glycol mono [4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl) phényl] éther) (triton x-100) est utilisé en biologie cellulaire et moléculaire pour perméabiliser les membranes cytoplasmiques, nucléaires, etc. pour le but de faciliter l'accès des anticorps sur leurs sites antigéniques , après un volume de 50µl de solution de blackage composée de BSA 1% diluée dans PBS et le triton x-100 0.3% , a été déposés sur chaque tranche , les lames sont incubés pendant 1 heure dans une chambre humide à température ambiante , et par la suit elles sont rincés dans 2 bains de PBS-triton X-100 0.5 % (2 x 5 minutes) .

II.5.2.4. Incubation avec anticorps primaire :

50µl de l'anticorps primaire dilué dans la solution de blocage à une dilution 1 :100 (v : v) été déposé sur chaque tranche et puis incubé dans une chambre humide à 4°C toute la nuit

II.5.2.5. Incubation avec l'anticorps secondaire :

Un jour après, les lames sont rincées dans 2 bains successifs de PBS-triton X-100 0.5 % (2 x 5 minutes), pour détecter les plaques amyloïdes, l'anticorps polyclonal (chèvre) anti-IgG de souris Alexa-Fluor 488 (Thermo Scientific, Cat #A11001, RRID : AB_2534069) a été utilisé comme anticorps secondaire à une dilution 1 :100 dans la solution de blocage. Celui-ci marquera les plaques amyloïdes par sa fluorescence verte. Pour cela 50µl de l'anticorps primaire est déposé sur chaque tranche. Puis les lames reposent pendant une heure en chambre humide à température ambiante et dans le noir. Il est très important de travailler à l'abri de la lumière à partir de cette étape pour le but de préserver la fluorescence des anticorps, ainsi les bains de rinçage suivant enveloppés dans l'aluminium ou couvert par une boîte noire, ainsi que la chambre humide.

II.5.2.6. Montage des lames

Les lames premièrement sont rincée dans 2 bains successifs de PBS (2 x 5 minutes) et puis suivis de 2 bains de l'eau distillée 5 minutes pour chacun. Finalement les lames sont montées à l'aide d'un milieu de montage aqueux spécifique pour la fluorescence. 10µl de ces milieux sont déposé sur chaque tranche qui sont ensuite recouvert par une lamelle couvre-objet. Du vernis à ongle transparent est utilisé pour sceller les lames, ensuite les lames sont conservées dans une boîte à l'abri de la lumière. Par ailleurs également des coupes négatives ont été effectuées lors de chaque immunohistochimie afin de s'assurer de la spécificité du marquage fluorescent obtenus.

II.6. Immunohistochimie des plaques amyloïdes par la Thio flavine (ThS) :**II.6.1. Principe :**

La Thio flavine S (ThS) est un fluorophore. Classiquement utilisé pour mettre en évidence les plaques β -amyloïdes et les dégénérescences dans la maladie d'Alzheimer. En présence d'agrégats protéiques (peptides A β et tau, la fluorescence de la ThS augmente et les agrégats apparaissent colorés en vert au microscope à fluorescence.

II.6.2. Protocol :

Les coupes histologiques sont déparaffinées par deux bains de toluène [5 min /bain]. Les coupes déparaffinées sont prolongées dans une solution de Thioflavine S (T1892, Sigma). Diluée à 0.0125 % (m/v) dans l'eau distillée pendant 8 min. Les coupes sont ensuite passées dans l'éthanol 80 % pendant une minute (1min) et rincé à l'eau distillée. Les coupes sont ensuite montées.

II.6.3. Le montage des coupes avec DAPI :

Le DAPI (4',6-diamidino-2-phénylindole) est un fluorophore qui se lie aux bases adénine et thymine de l'ADN, donnant une coloration bleue aux noyaux, visible au microscope à fluorescence.

Le DAPI a été utilisé pour le montage des lames de la Thio flavine S, le DAPI (32670 Sigma) dilué 10 000x dans du TBS est laissé pendant 15 minutes sur les coupes.

II.7. Résultats

L'observation par microscopie optique à fluorescence de sections de cerveaux pour évaluer l'effet de la fraction des graines de passiflora edulis sur la formation et la propagation des plaques amyloïdes a été fait par l'utilisation de l'anticorps anti-beta amyloïdes et par la Thio flavine ThS.

II.7.1. Immunohistochimie fluorescente par l'anticorps « anti-beta amyloïdes »

II.7.2. Immunohistochimie des plaques amyloïdes par la Thio flavine (ThS) :

Chez les souris atteintes de la maladie d'Alzheimer ALZ, beta-amyloïdes et la Thio flavine-S fluorescence étaient principalement localisées dans le cortex cérébral. (**Fig. 79. 80. b**)

Chez les souris modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis, ces plaques apparaissaient comme discrètes, ponctuées et de faible signal (**Fig.79.80 c, d, e**). Presque aucun signe de fluorescence A β ou thioflavine-S n'a été détecté chez les souris Témoins (**Fig 79. 80. a**).

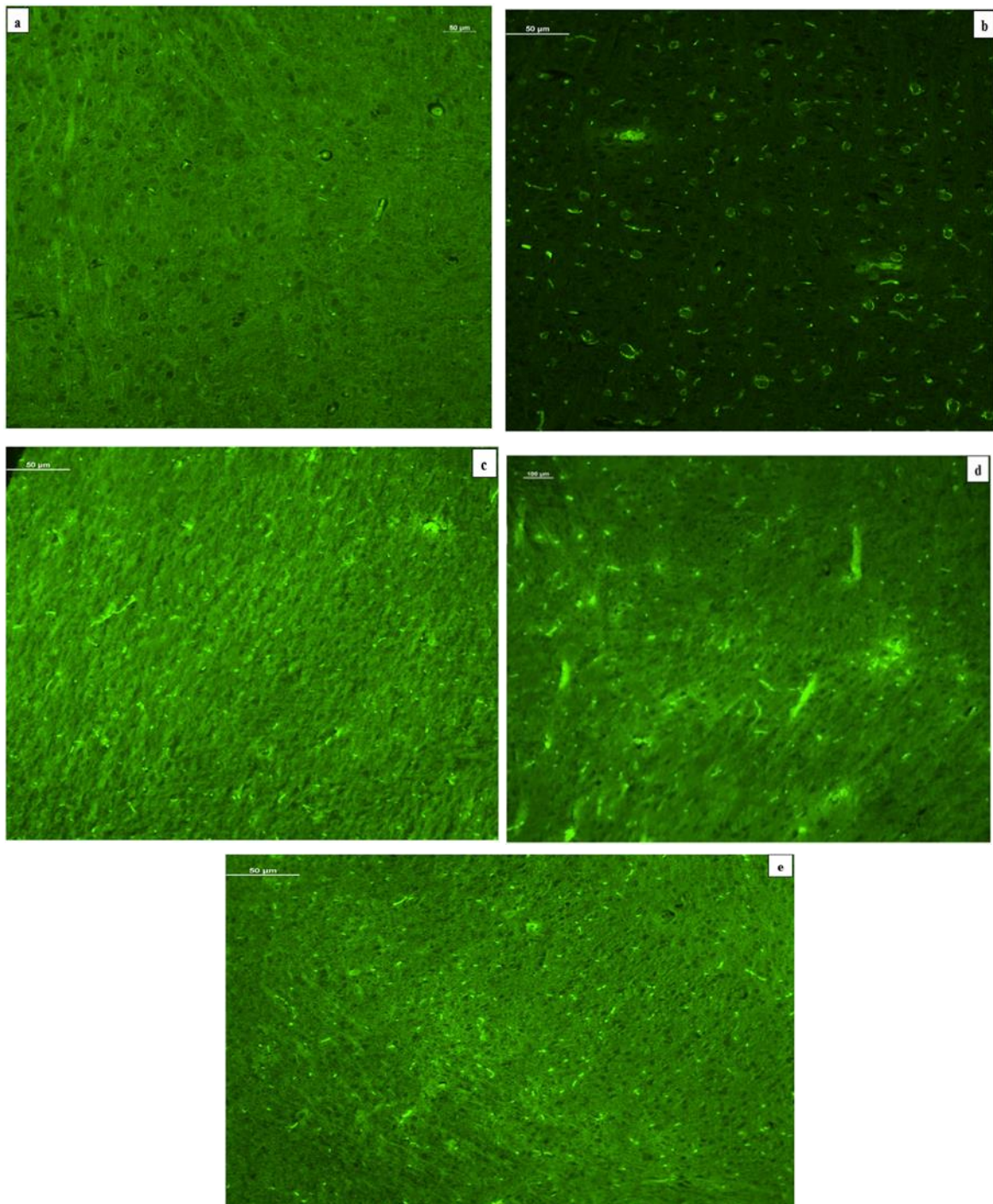


Figure 79 : Marquage immunohistochimique du cerveau par anticorps anti-beta amyloïdes chez des souris témoins ; **Alz** : souris modèle Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg), **ALZ-ED2** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, et l' $AlCl_3$ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale). **ALZ-ED1** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, et l' $AlCl_3$ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale). **ALZ-STD** :groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l' $AlCl_3$ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale). Grossissement X10. Barres d'échelle : 50 μ m

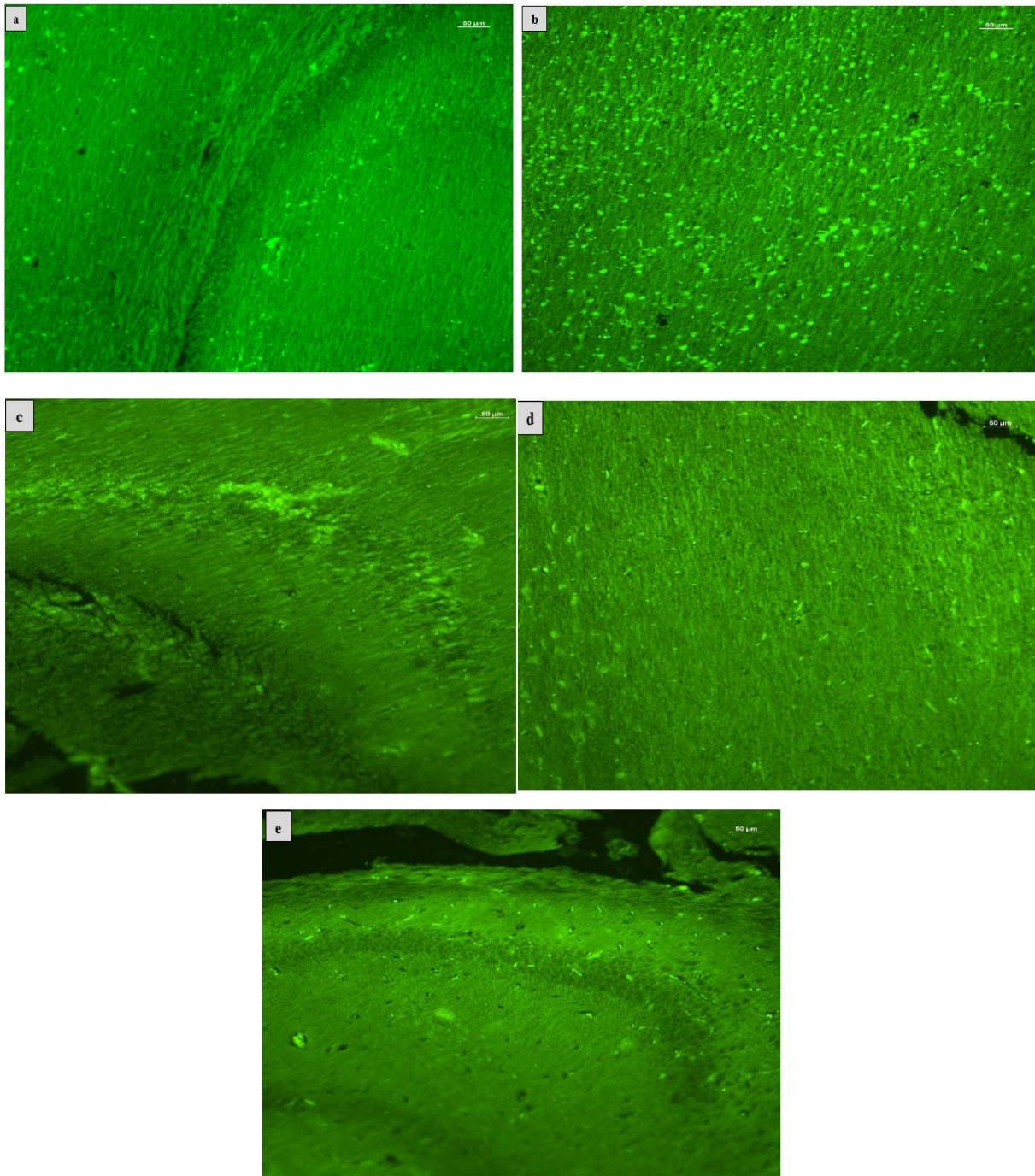


Figure 80 : Marquage immunohistochimique du cerveau par Tio flavine TSh chez des souris témoins ; **Alz** : souris modèle Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg), **ALZ-ED2** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale). **ALZ-ED1** : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 100 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale). **ALZ-STD** : groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale). Grossissement X10. Barres d'échelle : 50 µm.

II.8. Discussion

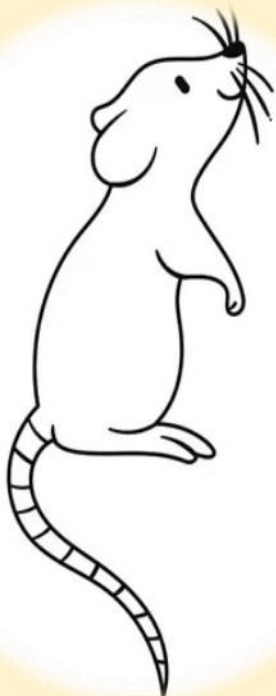
L'agrégation et l'accumulation de peptides amyloïdes- β ($A\beta$) sous forme de plaques $A\beta$ dans le cerveau est une caractéristique pathologique de la maladie d'Alzheimer (MA), à la fois de la forme la plus courante et la plus complexe de la maladie d'Alzheimer ainsi que de la maladie d'Alzheimer familiale rare (FAD) [Karran, E., & De Strooper, B. 2022].

Les peptides $A\beta$ sont générés par protéolyse séquentielle de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) par les enzymes β -sécrétase et γ -sécrétase [Dickson, D. W. 1997 ; Zheng, H., & Koo, E. H. 2011].

Plus récemment, plusieurs filières thérapeutiques anti- $A\beta$ ont été étendues aux stades précliniques de la maladie d'Alzheimer, où le taux de réussite attendu des composés ayant des effets biologiques présumés est plus élevé [Aisen, P. S et al., 2013].

Les chercheurs et les médecins ont soulevé des questions théoriques et conceptuelles sur l'attrait scientifique du développement de thérapies ciblant les plaques amyloïdes en raison des échecs des essais cliniques des médicaments contre la maladie d'Alzheimer, les composés anti- $A\beta$ sont continuellement étudiés avec des progrès prometteurs de plusieurs agents de développement à un stade avancé vers les étapes d'approbation réglementaire. [Hampel, H et al., 2021].

Conclusion et perspectives



Les produits naturels tiennent une place majeure dans la médecine en répondant aux différents besoins sanitaires. En effet, La communauté scientifique oriente ses travaux de recherche vers une valorisation adéquate des ressources naturelles, avec la caractérisation de leurs effets pharmacologiques. Parallèlement, des variétés des maladies humaines lourdes s'installent graduellement dans les années récentes, notamment après l'apparition de l'intervention de la maladie d'Alzheimer.

Dans cette étude, nous avons démontré la production d'une fraction poly phénolique riche en stilbènes à partir de graines de *P. edulis* et son potentiel neuroprotecteur contre la maladie d'Alzheimer *in silico* et dans un modèle causé par $AlCl_3/D$ -gal.

D'après les analyses phytochimique qualitative (HPTLC) et quantitative (le dosage des métabolites secondaire) la fraction acétone à 70 % des graines de *P. edulis* (PEAS) avait un TCP, flavonoïdes et des tanin élevé, ainsi que les résultats de HPTLC montre la présence des terpenoïdes avec des bandes colorées, tandis que les bandes des alcaloïdes était presque invisible.

Les analyse HPLC-HR-ESI-MS montre que la fraction était riche en stilbènes poly phénoliques, y compris le trans-piceatannol, le trans-resvératrol, les scirpusines A à B et le cassigarol E comme des constituant majeur.

Les analyses *in silico* ont montré que les deux stilbènes simples, le trans-piceatannol et le trans-resvératrol, inhibaient sélectivement l'AChE. Il a notamment souligné que deux dimères de stilbène, le cassigarol E et la scirpusine A, inhibaient potentiellement à la fois l'AChE et le BChE à des niveaux nanomolaires, encore plus faibles que ceux des témoins positifs (donépézil et tacrine). Selon les résultats susmentionnés, la fraction dérivée des graines de *P. edulis* et leurs stilbènes pourraient tous s'avérer des candidats prometteurs pour le développement de nouveaux médicaments de traitement de l'AChE et du BChE.

Concernant l'activité antioxydante, les résultats ont montré que l'extrait des graines de *passiflora edulis* était capable de piéger les radicaux libres pour le DPPH et ABTS ainsi que la réduction du fer pour la méthode FRAP.

Sur la base des résultats des tests neurologiques établis dans notre expérience, nous constatons une amélioration remarquable de comportement, apprentissage et une réelle restauration de la mémoire chez les souris Alzheimer traitées avec PEAS à 100 (Alz-D1) et 200mg/kg et (Alz-

D2) par rapport aux souris modèles Alzheimer, au niveau histologique la fraction PEAS était capable de restaurer l'architecture du cerveau.

L'activité inhibitrice de l'enzyme acétylcholinestérase a montré que l'extrait étudié a inhibé d'une manière efficace l'enzyme comparativement au standard étudié (galantamine). Alors que cette activité était hautement significative chez les souris traitées avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* 100 et 200 mg/kg, et les souris traitées avec le donépézil et rivastigmine comparativement aux souris Alzheimer.

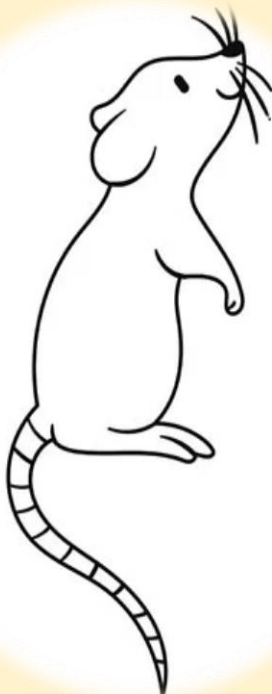
Pour l'études immunohistochimie fluoresce par l'anticorps bêta-amyloïdes et la Thio flavine S a révélé que la fraction PEAS a un effet faible à modérer d'empêcher l'agrégation ou la formation des plaques sénile.

Selon les résultats susmentionnés, la fraction dérivée des graines de *P. edulis* et leurs stilbènes pourraient tous s'avérer être des candidats prometteurs pour le développement de nouveaux médicaments de traitement de l'AChE et du BChE.

Il sera important de développer des technologies de transformation permettant d'extraire plus efficacement les composants fonctionnels des graines de *P. edulis* et avec des rendements plus élevés. Ainsi, une étude plus approfondie des fonctions physiologiques et des mécanismes des composants des graines de *P. edulis*. On s'attend à ce que la mise au point de méthodes de transformation des semences de *P. edulis* élargisse les applications industrielles des semences de *P. edulis*.

En raison du rôle clé de l'anti-acétylcholinestérase et de l'antioxydant dans le traitement de la maladie d'Alzheimer ; L'extrait des graines de *Passiflora edulis* et ses composés phénoliques pourraient être un bon choix pour développer un complément alimentaire pour le traitement de la maladie d'Alzheimer ou la protection des tissus cérébraux sur la base des résultats de l'étude actuelle qui assure les activités anti-acétylcholinestérase et antioxydantes de l'extrait de *Passiflora edulis*.

Références
Bibliographique



Abu-Ouf, N. M., & Jan, M. M. (2015). The impact of maternal iron deficiency and iron deficiency anemia on child's health. *Saudi medical journal*, 36(2), 146.

Aguillón-Osma, J., Luzardo-Ocampo, I., Cuellar-Nuñez, M. L., Maldonado-Celis, M. E., Loango-Chamorro, N., & Campos-Vega, R. (2019). Impact of in vitro gastrointestinal digestion on the bioaccessibility and antioxidant capacity of bioactive compounds from Passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves and juice extracts. *Journal of food biochemistry*, 43(7), e12879.

Alzforum. AADvac1. [En ligne] <https://www.alzforum.org/therapeutics/aadvac1> Consulté le 22 janvier 2021.

Alzforum. ACI-35. [En ligne] <https://www.alzforum.org/therapeutics/aci-35> Consulté

Alzheimer Association. (2016). 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's &*

Alzheimer's Association et al. "2017 Alzheimer's disease facts and figures". In: *Alzheimer's & Dementia* 13.4 (2017), pp. 325–373.

Alzheimer's Association et al. "2018 Alzheimer's disease facts and figures". In: *Alzheimer's & Dementia* 14.3 (2018), pp. 367–429.

Alzheimer's Association. (2022). Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 18(4), 700–789.

Alzheimer's Disease International (AZ) World Alzheimer Report 2016, London UK : Alzheimer's Disease International. <https://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport2016.pdf/>. [Accessed December 12, 2017]. 2016 .

Andrews, S. J., Fulton-Howard, B., O'Reilly, P., Marcora, E., Goate, A. M., & collaborators of the Alzheimer's Disease Genetics Consortium. (2021). Causal associations between modifiable risk factors and the Alzheimer's phenome. *Annals of Neurology*, 89(1), 54-65 .

Ankri J. La maladie d'Alzheimer. Paris. Hermann. 2000. 124p

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Liste

Arbonnier, M. (Eds.), 2000. [Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest]. Paris: Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le développement/ Muséum national d'histoire naturelle/Union mondiale pour la nature

As Association. (2019). Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*, 15(3), 321-387.

Asghar, A., Yousuf, M., Fareed, G., Nazir, R., Hassan, A., Maalik, A., ... & Rasheed, L. (2020). Synthesis, acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BuChE) activities, and molecular docking studies of a novel compound based on combination of flurbiprofen and isoniazide. *RSC advances*, 10(33), 19346-19352.

Ashton, N. J., Hye, A., Rajkumar, A. P., Leuzy, A., Snowden, S., Suárez-Calvet, M., et al. (2020). An update on blood-based biomarkers for non-Alzheimer neurodegenerative disorders. *Nat. Rev. Neurol.* 16, 265–284. doi:10.1038/s41582-020-0348-0.

A Moure, JM Cruz, D Franco, JM Domínguez, J Sineiro, H Domínguez, MaJ Núñez, JC Parajó (2001) Food Chem.72: 145 .

A, M. P., A, W., & M, G. (2015). World Alzheimer report 2015 the global impact of dementia an analysis of prevalence, incidence, cost and trends.

Abbas, F., Eladl, M. A., El-Sherbiny, M., Abozied, N., Nabil, A., Mahmoud, S. M., ... & Ibrahim, D. (2022). Celastrol and thymoquinone alleviate aluminum chloride-induced neurotoxicity: Behavioral psychomotor performance, neurotransmitter level, oxidative-inflammatory markers, and BDNF expression in rat brain. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 151, 113072.

Ahmad Rather, M., Justin-Thenmozhi, A., Manivasagam, T., Saravanababu, C., Guillemin, G. J., & Essa, M. M. (2019). Asiatic acid attenuated aluminum chloride-induced tau pathology, oxidative stress and apoptosis via AKT/GSK-3 β signaling pathway in wistar rats. *Neurotoxicity research*, 35, 955-968.

Ainamo, J., & Bay, I. (1975). Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International dental journal*, 25(4), 229-235.

Aisen, P. S., Vellas, B., & Hampel, H. (2013). Moving towards early clinical trials for amyloid-targeted therapy in Alzheimer's disease. *Nature reviews Drug discovery*, 12(4), 324-324.

Alves, J. S. F., Silva, A. M. D. S., da Silva, R. M., Tiago, P. R. F., de Carvalho, T. G., de Araújo Júnior, R. F., ... & Zucolotto, S. M. (2020). In Vivo antidepressant effect of Passiflora

edulis f. flavicarpa into cationic nanoparticles: Improving bioactivity and safety. *Pharmaceutics*, 12(4), 383.

Alves, J. S. F., Silva, A. M. D. S., da Silva, R. M., Tiago, P. R. F., de Carvalho, T. G., de Araújo Júnior, R. F., ... & Zucolotto, S. M. (2020). In Vivo antidepressant effect of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* into cationic nanoparticles: Improving bioactivity and safety. *Pharmaceutics*, 12(4), 383.

Alzheimer Association. (2017). 2017 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's &*

Alzheimer Association. (2019). 2019 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's &*

Alzheimer, A., et al., 1995. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde". *Clin Anat.* 8, 429-31.

Alzheimer's Disease International. (2017). Dementia statistics | Alzheimer's Disease

Alzheimer's association , (2022) . Alzheimer's disease facts and figures Alzheimer's , dementia . the journal of the alzheimer's Association 18(4) , 700-789

Alzheimer's Association. (2016). 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*, 12(4), 459-509.

Alzheimer's Association. Les 7 stades de la maladie d'Alzheimer. [En ligne] <https://www.alz.org/fr/stades-de-la-maladie-d-alzheimer.asp> Consulté le 12 mai 2023 .

Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement.* 2020 Mar 10. doi: 10.1002/alz.12068. Epub ahead of print. PMID: 32157811.

André, C., Rehel, S., Kuhn, E., Landeau, B., Moulinet, I., Touron, E., ... & Medit-Ageing Research Group. (2020). Association of sleep-disordered breathing with Alzheimer disease biomarkers in community-dwelling older adults: a secondary analysis of a randomized clinical trial. *JAMA neurology*, 77(6), 716-724.

Ayres, A. S., de Araújo, L. L., Soares, T. C., Costa, G. M., Reginatto, F. H., Ramos, F. A., ... & Gavioli, E. C. (2015). Comparative central effects of the aqueous leaf extract of two populations of *Passiflora edulis*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25, 499-505.

Barbosa, P.R., Valvassori, S.S., Bordignon, Jr., C.L., Kappel, V.D., Martins, M.R., Gavioli, E.C., Reginatto, F.H., 2008. The aqueous extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora*

edulis reduce anxiety-related behaviors without affecting memory process in rats. *J. Med. Food* 11 (2), 282–288.

Barbosa, P. R., Valvassori, S. S., Bordignon Jr, C. L., Kappel, V. D., Martins, M. R., Gavioli, E. C., ... & Reginatto, F. H. (2008). The aqueous extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* reduce anxiety-related behaviors without affecting memory process in rats. *Journal of medicinal food*, 11(2), 282-288.

Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. (2017) . Herbal medicines. Third Edition. Pharmaceutical Press. 710p

Barthélemy, N. R., Li, Y., Joseph-Mathurin, N., Gordon, B. A., Hassenstab, J., Benzinger, T. L., ... & McDade, E. (2020). A soluble phosphorylated tau signature links tau, amyloid and the evolution of stages of dominantly inherited Alzheimer’s disease. *Nature medicine*, 26(3), 398-407.

Benincá, J.P., Montanher, A.B., Zucolotto, S.M., Schenkel, E.P., Fröde, T.S., 2007. Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of *Passiflora edulis*. *Food Chem.* 104 (3),

Bisbe, M., López, E., Moreno, M., Naya, M., de Benetti, C., Milà, R., ... & Alegret, M. (2020). Comparative cognitive effects of choreographed exercise and multimodal physical therapy in older adults with amnesic mild cognitive impairment: randomized clinical trial. *Journal of Alzheimer's Disease*, 73(2), 769-783.

Bour, H., & Dérot, M. (1974). Guide pratique de diététique. (No Title).

Broadhouse, K. M., Singh, M. F., Suo, C., Gates, N., Wen, W., Brodaty, H., ... & Valenzuela, M. J. (2020). Hippocampal plasticity underpins long-term cognitive gains from resistance exercise in MCI. *NeuroImage: Clinical*, 25, 102182.

Barker, R. A., Cicchetti, F., & Robinson, E. S. (2019). Neuroanatomie et neurosciences. De Boeck Supérieur.

Benek, O., Hroch, L., Aitken, L., Gunn-Moore, F., Vinklarova, L., Kuca, K., ... & Musilek, K. (2018). 1-(Benzo [d] thiazol-2-yl)-3-phenylureas as dual inhibitors of casein kinase 1 and ABAD enzymes for treatment of neurodegenerative disorders. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 33(1), 665-670.

- Bennett, D. A., Arnold, S. E., Valenzuela, M. J., Brayne, C., & Schneider, J. A. (2014).** Cognitive and social lifestyle: links with neuropathology and cognition in late life. *Acta neuropathologica*, 127(1), 137-150.
- Bhardwaj, D., Mitra, C., Narasimhulu, C. A., Riad, A., Doomra, M., & Parthasarathy, S. (2017).** Alzheimer's Disease-Current Status and Future Directions. *Journal of Medicinal Food*. <https://doi.org/10.1089/jmf.2017.0093>
- Bjornevik, K., Cortese, M., Healy, B. C., Kuhle, J., Mina, M. J., Leng, Y., ... & Ascherio, A. (2022).** Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis. *Science*, 375(6578), 296-301.
- Bruneton J. (2016)** Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. 5ème édition. Lavoisier. Paris. 1487p.
- De Faveri, R., Broering, M. F., Bousfield, I. T., Goss, M. J., Muller, S. P., ... & Santin, J. R. (2020).** Effects of passion fruit peel flour (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* O. Deg.) in cafeteria diet-induced metabolic disorders. *Journal of ethnopharmacology*, 250, 112482.
- Cabral, B., Gonçalves, T. A. F., Abreu, L. S., Andrade, A. W. L., de Castro, F. D., Tavares, J. F., ... & Zucolotto, S. M. (2022).** Cardiovascular effects induced by fruit peels from *Passiflora edulis* in hypertensive rats and fingerprint analysis by HPLC-ESI-MSⁿ spectrometry. *Planta Medica*, 88(05), 356-366.
- Cao, Y., Herrero-Nogareda, L., & Cedergreen, N. (2020).** A comparative study of acetylcholinesterase and general-esterase activity assays using different substrates, in vitro and in vivo exposures and model organisms. *Ecotoxicology and environmental safety*, 189, 109954.
- Capasso, A., Sorrentino, L., (2005).** Pharmacological studies on the sedative and hypnotic effect of Kava kava and *Passiflora* extract combination. *Phytomedicine* 12 (1), 39–45.
- Carpéné, C., Pejenaute, H., Moral, R. D., Boulet, N., Hijona, E., Andrade, F., ... & Arbones-Mainar, J. M. (2018).** The dietary antioxidant piceatannol inhibits adipogenesis of human adipose mesenchymal stem cells and limits glucose transport and lipogenic activities in adipocytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 2081.
- Chan, K. L., Choo, C. Y., Abdullah, N. R., & Ismail, Z. (2004).** Antiplasmodial studies of *Eurycoma longifolia* Jack using the lactate dehydrogenase assay of *Plasmodium falciparum*. *Journal of ethnopharmacology*, 92(2-3), 223-227.

- Chan, K. Y., Wang, W., Wu, J. J., Liu, L., Theodoratou, E., Car, J., ... & Rudan, I. (2013).** Epidemiology of Alzheimer's disease and other forms of dementia in China, 1990–2010: a systematic review and analysis. *The Lancet*, 381(9882), 2016-2023.
- Chang, C. W., Shao, E., & Mucke, L. (2021).** Tau: Enabler of diverse brain disorders and target of rapidly evolving therapeutic strategies. *Science*, 371(6532), eabb8255.
- Chau, C. F., & Huang, Y. L. (2004).** Characterization of passion fruit seed fibres—a potential fibre source. *Food Chemistry*, 85(2), 189-194.
- Costa, J. L., Jesus, O. N. D., Oliveira, G. A. F., & Oliveira, E. J. D. (2012).** Effect of selection on genetic variability in yellow passion fruit. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 12, 253-260.
- Crehan, H., Liu, B., Kleinschmidt, M., Rahfeld, J. U., Le, K. X., Caldarone, B. J., ... & Lemere, C. A. (2020).** Effector function of anti-pyroglutamate-3 A β antibodies affects cognitive benefit, glial activation and amyloid clearance in Alzheimer's-like mice. *Alzheimer's research & therapy*, 12(1), 1-19.
- Cummings, J. L., & Back, C. (1998).** The cholinergic hypothesis of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 6(2), S64-S78.
- Coleta, M., Batista, M. T., Campos, M. G., Carvalho, R., Cotrim, M. D., Lima, T. C. M. D., & Cunha, A. P. D. (2006).** Neuropharmacological evaluation of the putative anxiolytic effects of *Passiflora edulis* Sims, its sub-fractions and flavonoid constituents. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(12), 1067-1073.
- Cook, N. C., & Samman, S. (1996).** Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *The Journal of nutritional biochemistry*, 7(2), 66-76.
- Craft, B. D., Kerrihard, A. L., Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2012).** Phenol-based antioxidants and the in vitro methods used for their assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(2), 148-173.
- Cui, Q., Li, X., & Zhu, H. (2016).** Curcumin ameliorates dopaminergic neuronal oxidative damage via activation of the Akt/Nrf2 pathway. *Molecular medicine reports*, 13(2), 1381-1388.

Cuong, T. D. Anh, H. T. N. , T. T. Huong Khanh, P. N. Thi, Ha, Vu Hung, T. M. Kim Y. H. and Cuong, N. M. (2019) Nat. Prod. Sci. (The Korean Society of Pharmacognosy (KAMJE)), 25, 348 .

Cuong, T. D., Anh, H. T. N., Huong, T. T., Khanh, P. N., Ha, V. T., Hung, T. M., ... & Cuong, N. M. (2019). Identification of soluble epoxide hydrolase inhibitors from the seeds of *Passiflora edulis* cultivated in Vietnam. *Natural Product Sciences*, 25(4), 348-353.

Cai, Y. J., Wei, Q. Y., Fang, J. G., Yang, L., Liu, Z. L., Wyche, J. H., & Han, Z. (2004). The 3, 4-dihydroxyl groups are important for trans-resveratrol analogs to exhibit enhanced antioxidant and apoptotic activities. *Anticancer research*, 24(2B), 999-1002.

Cao, S. Q., Aman, Y., Fang, E. F., & Tencomnao, T. (2022). P. Edulis Extract Protects Against Amyloid- β Toxicity in Alzheimer's Disease Models Through Maintenance of Mitochondrial Homeostasis via the FOXO3/DAF-16 Pathway. *Molecular Neurobiology*, 59(9), 5612-5629.

Cao, S. Q., Aman, Y., Fang, E. F., & Tencomnao, T. (2022). P. Edulis Extract Protects Against Amyloid- β Toxicity in Alzheimer's Disease Models Through Maintenance of Mitochondrial Homeostasis via the FOXO3/DAF-16 Pathway. *Molecular Neurobiology*, 59(9), 5612-5629.

Chan, A. W., Tetzlaff, J. M., Gøtzsche, P. C., Altman, D. G., Mann, H., Berlin, J. A., ... & Moher, D. (2013). SPIRIT 2013 explanation and elaboration: guidance for protocols of clinical trials. *Bmj*, 346.

Chen, S. X., Xiang, J. Y., Han, J. X., Li, H. Z., Chen, H., & Xu, M. (2022). Essential oils from spices inhibit cholinesterase activity and improve behavioral disorder in A β 1-42 induced dementia. *Chemistry & Biodiversity*, 19(1), e202100443.

Chiroma, S. M., Baharuldin, M. T. H., Mat Taib, C. N., Amom, Z., Jagadeesan, S., Ilham Adenan, M., ... & Moklas, M. A. M. (2019). Protective effects of centella asiatica on cognitive deficits induced by D-gal/A β 1-42 via inhibition of oxidative stress and attenuation of acetylcholinesterase level. *Toxics*, 7(2), 19.

Chiroma, S. M., Baharuldin, M. T. H., Mat Taib, C. N., Amom, Z., Jagadeesan, S., Ilham Adenan, M., ... & Moklas, M. A. M. (2019). Protective effects of centella asiatica on cognitive deficits induced by D-gal/A β 1-42 via inhibition of oxidative stress and attenuation of acetylcholinesterase level. *Toxics*, 7(2), 19.

- Chiroma, S. M., Baharuldin, M. T. H., Taib, C. N. M., Amom, Z., Jagadeesan, S., Adenan, M. I., & Moklas, M. A. M. (2019).** Protective effect of *Centella asiatica* against D-galactose and aluminium chloride induced rats: Behavioral and ultrastructural approaches. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 853-864.
- Chiroma, S. M., Moklas, M. A. M., Taib, C. N. M., Baharuldin, M. T. H., & Amon, Z. (2018).** D-galactose and aluminium chloride induced rat model with cognitive impairments. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 103, 1602-1608.
- Dai, H., Sinclair, D. A., Ellis, J. L., & Steegborn, C. (2018).** Sirtuin activators and inhibitors: Promises, achievements, and challenges. *Pharmacology & therapeutics*, 188, 140-154.
- Darreh-Shori, T., & Jelic, V. (2010).** Safety and tolerability of transdermal and oral rivastigmine in Alzheimer's disease and Parkinson's disease dementia. *Expert Opinion on Drug Safety*, 9(1), 167-176.
- De Albuquerque, M. A. C., Levit, R., Beres, C., Bedani, R., de LeBlanc, A. D. M., Saad, S. M. I., & LeBlanc, J. G. (2019).** Tropical fruit by-products water extracts as sources of soluble fibres and phenolic compounds with potential antioxidant, anti-inflammatory, and functional properties. *Journal of functional foods*, 52, 724-733.
- De Paula-Silva, F. W. G., Wu, M. K., Leonardo, M. R., da Silva, L. A. B., & Wesselink, P. R. (2009).** Accuracy of periapical radiography and cone-beam computed tomography scans in diagnosing apical periodontitis using histopathological findings as a gold standard. *Journal of endodontics*, 35(7), 1009-1012.
- De Santana, F. C., de Oliveira Torres, L. R., Shinagawa, F. B., de Oliveira e Silva, A. M., Yoshime, L. T., de Melo, I. L. P., ... & Mancini-Filho, J. (2017).** Optimization of the antioxidant polyphenolic compounds extraction of yellow passion fruit seeds (*Passiflora edulis* Sims) by response surface methodology. *Journal of food science and technology*, 54, 3552-3561.
- De Wit, J., & Ghosh, A. (2016).** Spécification de la connectivité synaptique par les interactions de surface cellulaire. *Nature Reviews Neuroscience*, 17 (1), 4-4.
- Devaki, K., Beulah, U., Akila, G., & Gopalakrishnan, V. K. (2012).** Effect of aqueous extract of *Passiflora edulis* on biochemical and hematological parameters of Wistar albino rats. *Toxicology international*, 19(1), 63.

- Djuricic, I., & Calder, P. C. (2021).** Beneficial outcomes of omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on human health: An update for 2021. *Nutrients* 2021, 13, 2421.
- Do Carmo, M. C. L., Martins, I. M., Magalhães, A. E. R., Júnior, M. R. M., & Macedo, J. A. (2020).** Passion fruit (*Passiflora edulis*) leaf aqueous extract ameliorates intestinal epithelial barrier dysfunction and reverts inflammatory parameters in Caco-2 cells monolayer. *Food research international*, 133, 109162.
- Dong, K. K., Damaghi, N., Picart, S. D., Markova, N. G., Obayashi, K., Okano, Y., ... & Yarosh, D. B. (2008).** UV-induced DNA damage initiates release of MMP-1 in human skin. *Experimental dermatology*, 17(12), 1037-1044.
- Dos Reis, L. C. R., Facco, E. M. P., Salvador, M., Flôres, S. H., & de Oliveira Rios, A. (2018).** Antioxidant potential and physicochemical characterization of yellow, purple and orange passion fruit. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 2679-2691.
- Dos Santos, K. C., Borges, T. V., Olescowicz, G., Ludka, F. K., Santos, C. A. D. M., & Molz, S. (2016).** *Passiflora actinia* hydroalcoholic extract and its major constituent, isovitexin, are neuroprotective against glutamate-induced cell damage in mice hippocampal slices. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 68(2), 282-291.
- Dai, W. (2021).** Longitudinal effects of meditation on brain resting-state functional connectivity. *Scientific Reports*, 11(1), 11361 (CIRAD/MNHN/ UICN) .[En ligne] https://www.legifrance.gouv.fr/download/pdf?id=fDRpvtpwihUH7BPicRaA3xlp85wq1NC_3g_JDOLXQ= Consulté le 30 juin 2023 . A des plantes médicinales utilisées traditionnellement. Janvier 2021.
- Da Silva Francischini, D., Lopes, A. P., Segatto, M. L., Stahl, A. M., & Zuin, V. G. (2020).** Development and application of green and sustainable analytical methods for flavonoid extraction from *Passiflora* waste. *BMC chemistry*, 14(1), 1-11.
- da Silva, F. D. A., Nogara, P. A., Ochoa-Rodriguez, E., Nuñez-Figueroa, Y., Wong-Guerra, M., Rosemberg, D. B., & da Rocha, J. B. T. (2020).** Molecular docking and in vitro evaluation of a new hybrid molecule (JM-20) on cholinesterase activity from different sources. *Biochimie*, 168, 297-306.
- Da Silva, L. M. R., De Figueiredo, E. A. T., Ricardo, N. M. P. S., Vieira, I. G. P., De Figueiredo, R. W., Brasil, I. M., & Gomes, C. L. (2014).** Quantification of bioactive

compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. *Food chemistry*, 143, 398-404. *Dementia*, 12(4), 459-509. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.03.001>

Dai, H., Sinclair, D. A., Ellis, J. L., & Steegborn, C. (2018). Sirtuin activators and inhibitors: Promises, achievements, and challenges. *Pharmacology & therapeutics*, 188, 140-154.

de Oliveira, A. C., Valentim, I. B., Silva, C. A., Bechara, E. J. H., de Barros, M. P., Mano, C. M., & Goulart, M. O. F. (2009). Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. *Food Chemistry*, 115(2), 469-475.

De Santana, F. C., de Oliveira Torres, L. R., Shinagawa, F. B., de Oliveira e Silva, A. M., Yoshime, L. T., de Melo, I. L. P., ... & Mancini-Filho, J. (2017). Optimization of the antioxidant polyphenolic compounds extraction of yellow passion fruit seeds (*Passiflora edulis* Sims) by response surface methodology. *Journal of food science and technology*, 54, 3552-3561.

Dementia, 15(3), 321-387. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2019.01.010>

Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association, 13(4), 325-373. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2019.01.010>

Dhawan, K., Kumar, S., & Sharma, A. (2001). Comparative biological activity study on *Passiflora incarnata* and *P. edulis*. *Fitoterapia*, 72(6), 698-702.

Dickson, D. W. (1997). The pathogenesis of senile plaques. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 56(4), 321-339.

doi.org/10.1016/j.jalz.2017.02.001

Dominguez-Rodriguez, G., García, M. C., Plaza, M., & Marina, M. L. (2019). Revalorization of *Passiflora* species peels as a sustainable source of antioxidant phenolic compounds. *Science of the Total Environment*, 696, 134030.

Dorababu, A. (2022). Pharmacological report of recently designed multifunctional coumarin and coumarin–heterocycle derivatives. *Archiv der Pharmazie*, 355(2), 2100345.

Dos Reis, L. C. R., Facco, E. M. P., Salvador, M., Flôres, S. H., & de Oliveira Rios, A. (2018). Antioxidant potential and physicochemical characterization of yellow, purple and orange passion fruit. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 2679-2691.

Dos Santos, L. C., Mendiola, J. A., Sanchez-Camargo, A. D. P., Álvarez-Rivera, G., Viganó, J., Cifuentes, A., ... & Martínez, J. (2021). Selective extraction of piceatannol from passiflora edulis by-products: Application of hsps strategy and inhibition of neurodegenerative enzymes. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6248.

Dos Santos, L. C., Mendiola, J. A., Sanchez-Camargo, A. D. P., Álvarez-Rivera, G., Viganó, J., Cifuentes, A., ... & Martínez, J. (2021). Selective extraction of piceatannol from passiflora edulis by-products: Application of hsps strategy and inhibition of neurodegenerative enzymes. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6248.

Dos Santos, L. C., Mendiola, J. A., Sanchez-Camargo, A. D. P., Álvarez-Rivera, G., Viganó, J., Cifuentes, A., ... & Martínez, J. (2021). Selective extraction of piceatannol from passiflora edulis by-products: Application of hsps strategy and inhibition of neurodegenerative enzymes. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6248.

Dos Santos, L. C., Mendiola, J. A., Sanchez-Camargo, A. D. P., Álvarez-Rivera, G., Viganó, J., Cifuentes, A., ... & Martínez, J. (2021). Selective extraction of piceatannol from passiflora edulis by-products: Application of hsps strategy and inhibition of neurodegenerative enzymes. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6248.

Doungue, H. T., Kengne, A. P. N., & Kuate, D. (2018). Neuroprotective effect and antioxidant activity of Passiflora edulis fruit flavonoid fraction, aqueous extract, and juice in aluminum chloride-induced Alzheimer's disease rats. *Nutrire*, 43, 1-12.

Doungue, H. T., Kengne, A. P. N., & Kuate, D. (2018). Neuroprotective effect and antioxidant activity of Passiflora edulis fruit flavonoid fraction, aqueous extract, and juice in aluminum chloride-induced Alzheimer's disease rats. *Nutrire*, 43, 1-12.

Doungue, H. T., Kengne, A. P. N., & Kuate, D. (2018). Neuroprotective effect and antioxidant activity of Passiflora edulis fruit flavonoid fraction, aqueous extract, and juice in aluminum chloride-induced Alzheimer's disease rats. *Nutrire*, 43, 1-12.

Doungue, H.T., , K. A.P.N. and K. D., *Nutrire* 2018, 43.

Dugger BN, Dickson DW. Pathology of Neurodegenerative Diseases. Cold Spring Harb Perspect Biol. juill (2017);9(7):a028035.

Dumont, U., Sanchez, S., Olivier, B., Chateil, J. F., Deffieux, D., Quideau, S., ... & Roumes, H. (2020). Maternal alcoholism and neonatal hypoxia-ischemia: Neuroprotection by stilbenoid polyphenols. *Brain research*, 1738, 146798.

Elideo sillaro . 2016 . 8 aliments qui soignent , les organes auxquels ils ressemblent . [en ligne] , <https://www.bioalaune.com/fr/actualite-bio/34677/8-aliments-qui-soignent-organes-auxquels-ils-ressemblent> Consulté le 18 mars 2021 .

EL Bini-Dhouib, I., Doghri, R., Ellefi, A., Degrach, I., Srairi-Abid, N., & Gati, A. (2021). Curcumin attenuated neurotoxicity in sporadic animal model of Alzheimer’s disease. *Molecules*, 26(10), 3011.

El-Missiry, M. A., & El Gindy, A. M. (2000). Amelioration of alloxan induced diabetes mellitus and oxidative stress in rats by oil of *Eruca sativa* seeds. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 44(3), 97-100.

Ferwerda, G., Meyer-Wentrup, F., Kullberg, B.-J., Netea, M. G. and Adema, G. J. (2008), ‘Dectin1 synergizes with TLR2 and TLR4 for cytokine production in human primary monocytes and macrophages’, *Cellular Microbiology* 10(10), 2058–2066. doi : 10.1111/j.1462-5822.2008.01188.x.

Fonseca, A. M., Geraldi, M. V., Junior, M. R. M., Silvestre, A. J., & Rocha, S. M. (2022). Purple passion fruit (*Passiflora edulis* f. *edulis*): A comprehensive review on the nutritional value, phytochemical profile and associated health effects. *Food Research International*, 111665.

Fulda, S. (2010). Resveratrol and derivatives for the prevention and treatment of cancer. *Drug discovery today*, 15(17-18), 757-765.

Faivre, E., Coelho, J. E., Zornbach, K., Malik, E., Baqi, Y., Schneider, M., ... & Blum, D. (2018). Beneficial effect of a selective adenosine A2A receptor antagonist in the APP^{swe}/PS1^{dE9} mouse model of Alzheimer’s disease. *Frontiers in molecular neuroscience*, 11, 235.

Fancourt, D., Steptoe, A., & Cadar, D. (2020). Community engagement and dementia risk: time-to-event analyses from a national cohort study. *J Epidemiol Community Health*, 74(1), 71-77.

- **FAO, F. (2018).** Food Outlook: biannual report on global food markets. FAO Rome.

Ferreira, B. S., De Almeida, C. G., Faza, L. P., De Almeida, A., Diniz, C. G., da Silva, V. L., ... & Le Hyaric, M. (2011). Comparative properties of amazonian oils obtained by different extraction methods. *Molecules*, 16(7), 5875-5885.

Folch, J., Ettcheto, M., Petrov, D., Abad, S., Pedrós, I., Marin, M., ... & Camins, A. (2018). Review of the advances in treatment for Alzheimer disease: strategies for combating β -amyloid protein. *Neurología (English Edition)*, 33(1), 47-58.

Fonseca, L. R. D., Rodrigues, R. D. A., Ramos, A. D. S., da Cruz, J. D., Ferreira, J. L. P., Silva, J. R. D. A., & Amaral, A. C. F. (2020). Herbal medicinal products from *Passiflora* for anxiety: An unexploited potential. *The Scientific World Journal*, 2020.

Garcia-Ruiz A, Girones-Vilaplana A, Leon P, Moreno D A, Stinco C M, Melendez-Martinez A J, Ruales J. 2017. Banana passion fruit (*Passiflora mollissima* (Kunth) L.H. Bailey): Microencapsulation, phytochemical composition and antioxidant capacity. *Molecules*, 22, 85.µ

Geromichalos, G. D., Lamari, F. N., Papandreou, M. A., Trafalis, D. T., Margaritis, M., Papageorgiou, A., & Sinakos, Z. (2012). Saffron as a source of novel acetylcholinesterase inhibitors: molecular docking and in vitro enzymatic studies. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(24), 6131-6138.

Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R. (2012). Ginkgo biloba (Ginkgoaceae): ginkgo. *Phytothérapie*, 10, 194-201.

Gilman, S., Koller, M., Black, R. S., Jenkins, L., Griffith, S. G., Fox, N. C., ... & Orgogozo, J. M. (2005). Clinical effects of A β immunization (AN1792) in patients with AD in an interrupted trial. *Neurology*, 64(9), 1553-1562.

Goedert, M., and Spillantini, M. G. (2019). Ordered Assembly of Tau Protein and Neurodegeneration. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1184, 3–21. doi:10.1007/978-981-32-9358-8_1

Goss, M. J., Nunes, M. L. O., Machado, I. D., Merlin, L., Macedo, N. B., Silva, A. M. O., ... & Santin, J. R. (2018). Peel flour of *Passiflora edulis* Var. *Flavicarpa* supplementation prevents the insulin resistance and hepatic steatosis induced by low-fructose-diet in young rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 102, 848-854.

Grady, C. L., Luk, G., Craik, F. I., & Bialystok, E. (2015). Brain network activity in monolingual and bilingual older adults. *Neuropsychologia*, 66, 170-181.

- Guadagni, V., Drogos, L. L., Tyndall, A. V., Davenport, M. H., Anderson, T. J., Eskes, G. A., ... & Poulin, M. J. (2020).** Aerobic exercise improves cognition and cerebrovascular regulation in older adults. *Neurology*, *94*(21), e2245-e2257.
- Guan, Y., Sun, H., Chen, H., Li, P., Shan, Y., & Li, X. (2021).** Physicochemical characterization and the hypoglycemia effects of polysaccharide isolated from *Passiflora edulis* Sims peel. *Food & Function*, *12*(9), 4221-4230.
- Gaugler, J., Bryan James, T. J., Reimer, J., & Weuve, J. (2021).** Alzheimer's Association. 2021 Alzheimer's Disease Facts and Figures. *Alzheimer's Dementia: Chicago, IL, USA*, *17*.
- Gauthier, S., Webster, C., Servaes, S., Morais, J. A., & Rosa-Neto, P. (2022).** Life After Diagnosis: Navigating Treatment, Care and Support. *World Alzheimer Rep*, 2022.
- Geromichalos, G. D., Lamari, F. N., Papandreou, M. A., Trafalis, D. T., Margarity, M., Papageorgiou, A., & Sinakos, Z. (2012).** Saffron as a source of novel acetylcholinesterase inhibitors: molecular docking and in vitro enzymatic studies. *Journal of agricultural and food chemistry*, *60*(24), 6131-6138.
- Giacobini, E. (2000).** Cholinesterase inhibitors stabilize Alzheimer's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *920*(1), 321-327.
- Gilman, S., Koller, M., Black, R. S., Jenkins, L., Griffith, S. G., Fox, N. C., ... & Orgogozo, J. M. (2005).** Clinical effects of A β immunization (AN1792) in patients with AD in an interrupted trial. *Neurology*, *64*(9), 1553-1562.
- Graff-Radford, J., Yong, K. X., Apostolova, L. G., Bouwman, F. H., Carrillo, M., Dickerson, B. C., ... & Murray, M. E. (2021).** New insights into atypical Alzheimer's disease in the era of biomarkers. *The Lancet Neurology*, *20*(3), 222-234.
- Grasset, L., Brayne, C., Joly, P., Jacqmin-Gadda, H., Peres, K., Foubert-Samier, A., ... Helmer, C. (2016).** Trends in dementia incidence: Evolution over a 10-year period in France. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, *12*(3), 272-280.
- Guerreiro, R.J., Gustafson, D.R., Hardy, J., 2012.** The genetic architecture of Alzheimer's disease: beyond APP, PSENs and APOE. *Neurobiol Aging*. *33*, 437-56.
- **H Ferreira-Vieira, T., M Guimaraes, I., R Silva, F., & M Ribeiro, F. (2016).** Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system. *Current neuropharmacology*, *14*(1), 101-115.

- **Hartanto, S., Lister, I. N. E., & Fachrial, E. (2019).** A comparative study of peel and seed extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) as anti-collagenase. *Am. Sci. Res. J. Eng. Technol. Sci*, 54, 42-48.
- **Hasan, S., Dwivedi, V., Misra, M., Singh, P. K., Hashmi, F., & Ahmed, T. (2012).** Anti-epileptic activity of some medicinal plants. *Int J Med Arom Plants*, 2(2), 354-60.
- **Haute Autorité de Santé. Commission de la Transparence : Rapport d'évaluation des médicaments indiqués dans le traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer. 129 2016.** [En ligne] https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/201610/annexe__rapport_devaluation_des_medicaments.pdf Consulté le 13 janvier 2021.
- **Haute Autorité de Santé. Synthèse d'avis de la Commission de Transparence. Aricept, Exelon, Ebixa, Reminyl. 2017.** [En ligne] https://www.hassante.fr/upload/docs/application/pdf/2017-01/dir1/aricept_exelon_reminyl_ebixa_synthese_2017-01-25_11-36-40_933.pdf Consulté le 08 mars 2020.
- **He, X., Luan, F., Yang, Y., Wang, Z., Zhao, Z., Fang, J., ... & Li, Y. (2020).** *Passiflora edulis*: An insight into current researches on phytochemistry and pharmacology. *Frontiers in pharmacology*, 11, 617.
- **He, X., Luan, F., Yang, Y., Wang, Z., Zhao, Z., Fang, J., ... & Li, Y. (2020).** *Passiflora edulis*: An insight into current researches on phytochemistry and pharmacology. *Frontiers in pharmacology*, 11, 617.
- **Hersi, M., Irvine, B., Gupta, P., Gomes, J., Birkett, N., & Krewski, D. (2017).** Risk factors associated with the onset and progression of Alzheimer's disease: A systematic review of the evidence. *Neurotoxicology*, 61, 143-187.
- **Hoover, B. R., Reed, M. N., Su, J., Penrod, R. D., Kotilinek, L. A., Grant, M. K., Pitstick, R., Carlson, G. A., Lanier, L. M., Yuan, L. L., Ashe, K. H. and Liao, D. [2010], 'Tau Mislocalization to Dendritic Spines Mediates Synaptic Dysfunction Independently of Neurodegeneration', *Neuron* 68(6), 1067–1081. doi : 10.1016/j.neuron.2010.11.030.**
- **Howitz, K. T., Bitterman, K. J., Cohen, H. Y., Lamming, D. W., Lavu, S., Wood, J. G., ... & Sinclair, D. A. (2003).** Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*, 425(6954), 191-196.

- **Husna Ibrahim, N., Yahaya, M. F., Mohamed, W., Teoh, S. L., Hui, C. K. and Kumar, J. (2020)**, 'Pharmacotherapy of Alzheimer's Disease : Seeking Clarity in a Time of Uncertainty', *Frontiers in Pharmacology* 11. doi : 10.3389/fphar.2020.00261 .

Hamaguchi, T., Ono, K., Murase, A., & Yamada, M. (2009). Phenolic compounds prevent Alzheimer's pathology through different effects on the amyloid- β aggregation pathway. *The American journal of pathology*, 175(6), 2557-2565.

Hamdan, A. M. E., Alharthi, F. H. J., Alanazi, A. H., El-Emam, S. Z., Zaghlool, S. S., Metwally, K., ... & Abu-Elfotuh, K. (2022). Neuroprotective effects of phytochemicals against aluminum chloride-induced Alzheimer's disease through ApoE4/LRP1, wnt3/ β -catenin/gsk3 β , and TLR4/NLRP3 pathways with physical and mental activities in a rat model. *Pharmaceuticals*, 15(8), 1008.

Hampel, H., Hardy, J., Blennow, K., Chen, C., Perry, G., Kim, S. H., ... & Vergallo, A. (2021). The amyloid- β pathway in Alzheimer's disease. *Molecular psychiatry*, 26(10), 5481-5503.

Hasanein, P., & Mahtaj, A. K. (2015). Ameliorative effect of rosmarinic acid on scopolamine-induced memory impairment in rats. *Neuroscience Letters*, 585, 23-27.

Herrera-Ramirez, J., Meneses-Marentes, N., & Tarazona Díaz, M. P. (2020). Optimizing the extraction of anthocyanins from purple passion fruit peel using response surface methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(1), 185–193.

Hlišák, Z., & Krejčí, I. (2000). Oxiracetam prevents the MK-801 induced amnesia for the elevated plus-maze in mice. *Behavioural brain research*, 117(1-2), 147-151.

Howitz, K. T., Bitterman, K. J., Cohen, H. Y., Lamming, D. W., Lavu, S., Wood, J. G., ... & Sinclair, D. A. (2003). Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*, 425(6954), 191-196.

<https://www.prescrire.org/Fr/202/1841/PositionsList.aspx> Consulté le 30 juin 2023

Hullmann, M., Albrecht, C., van Berlo, D., Gerlofs-Nijland, M. E., Wahle, T., Boots, A. W., ... & Schins, R. P. (2017). Diesel engine exhaust accelerates plaque formation in a mouse model of Alzheimer's disease. *Particle and fibre toxicology*, 14(1), 1-14.

Hussien, H. M., Abd-Elmegied, A., Ghareeb, D. A., Hafez, H. S., Ahmed, H. E., & Abd El-moneam, N. (2018). Neuroprotective effect of berberine against environmental heavy metals-

induced neurotoxicity and Alzheimer's-like disease in rats. *Food and chemical toxicology*, 111, 432-444.

Imran, M., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Aslam Gondal, T., Saeed, F., Imran, A., ... & Estevinho, L. M. (2019). Kaempferol: A key emphasis to its anticancer potential. *Molecules*, 24(12), 2277.

Iqbal, D., Rizvi, S. M. D., Rehman, M. T., Khan, M. S., Bin Dukhyil, A., AlAjmi, M. F., ... & Alturaiki, W. (2022). Soyasapogenol-B as a Potential Multitarget Therapeutic Agent for Neurodegenerative Disorders: Molecular Docking and Dynamics Study. *Entropy*, 24(5), 593.

Ito, H. T., Zhang, S. J., Witter, M. P., Moser, E. I., & Moser, M. B. (2013). Trajectory-dependent firing in hippocampal place cells reflects nucleus reuniens-mediated input from the medial prefrontal cortex. In *Soc Neurosci Abstr* (Vol. 39, No. 769.11).

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia E Estatística. Available online: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457> (accessed on 15 December 2021)

Imran, M., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Aslam Gondal, T., Saeed, F., Imran, A., ... & Estevinho, L. M. (2019). Kaempferol: A key emphasis to its anticancer potential. *Molecules*, 24(12), 2277.

- INSERM. (2014). Alzheimer (maladie d'). Inserm. <https://www.inserm.fr/information-ensante/dossiers-information/alzheimer-maladi> .

Jadhav, S., Avila, J., Schöll, M., Kovacs, G. G., Kövari, E., Skrabana, R., ... & Zilka, N. (2019). A walk through tau therapeutic strategies. *Acta neuropathologica communications*, 7(1), 1-31.

Jardiland. Arbre aux quarante écus. [En ligne] <https://www.jardiland.com/arbre-aux-quarante-ecus-9002070.html> -Consulté le 03 juillet 2023 .

Jia, L., Quan, M., Fu, Y., Zhao, T., Li, Y., Wei, C., ... Group for the Project of Dementia Situation in China. (2020). Dementia in China: epidemiology, clinical management, and research advances. *Lancet Neurology*, 19(1), 81–92.

Jouanne , M., Rault, S., & Voisin-Chiret, A. S. (2017). Tau protein aggregation in Alzheimer's disease: an attractive target for the development of novel therapeutic agents. *European journal of medicinal chemistry*, 139, 153-167.

- Ju, Y., & Tam, K. Y. (2022).** Pathological mechanisms and therapeutic strategies for Alzheimer's disease. *Neural Regeneration Research*, 17(3), 543.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (1999).** Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(10), 3954-3962.
- Kandandapani, S., Balaraman, A. K., & Ahamed, H. N. (2015).** Extracts of passion fruit peel and seed of *Passiflora edulis* (Passifloraceae) attenuate oxidative stress in diabetic rats. *Chinese journal of natural medicines*, 13(9), 680-686.
- Kang, J., Lemaire, H. G., Unterbeck, A., Salbaum, J. M., Masters, C. L., Grzeschik, K. H., ... Müller-Hill, B. (1987).** The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein
- Kanlayavattanakul, M., & Lourith, N. (2011).** Sapodilla seed coat as a multifunctional ingredient for cosmetic applications. *Process Biochemistry*, 46(11), 2215-2218.
- Karran, E., & De Strooper, B. (2022).** The amyloid hypothesis in Alzheimer disease: new insights from new therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*, 21(4), 306-318.
- Karthika, K., & Paulsamy, S. (2015).** TLC and HPTLC fingerprints of various secondary metabolites in the stem of the traditional medicinal climber, *Solena amplexicaulis*. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 77(1), 111.
- Kaur, C., & Kapoor, H. C. (2002).** Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science & Technology*, 37(2), 153-161.
- Kawakami, S., Morinaga, M., Tsukamoto-Sen, S., Mori, S., Matsui, Y., & Kawama, T. (2021).** Constituent characteristics and functional properties of passion fruit seed extract. *Life*, 12(1), 38.
- Kawakami, S., Morinaga, M., Tsukamoto-Sen, S., Mori, S., Matsui, Y., & Kawama, T. (2021).** Constituent characteristics and functional properties of passion fruit seed extract. *Life*, 12(1), 38.
- Khalifa, M., Safar, M. M., Abdelsalam, R. M., & Zaki, H. F. (2020).** Telmisartan protects against aluminum-induced Alzheimer-like pathological changes in rats. *Neurotoxicity research*, 37, 275-285.

Khalil, H. M., Salama, H. H., Al-Mokaddem, A. K., Aljuaydi, S. H., & Edris, A. E. (2020). Edible dairy formula fortified with coconut oil for neuroprotection against aluminium chloride-induced Alzheimer's disease in rats. *Journal of Functional Foods*, 75, 104296.

Krauter, A. K., Guest, P. C., & Sarnyai, Z. (2019). The Y-maze for assessment of spatial working and reference memory in mice. *Pre-clinical models: Techniques and protocols*, 105-111.

Krambeck, K., Oliveira, A., Santos, D., Pintado, M. M., Baptista Silva, J., Sousa Lobo, J. M., & Amaral, M. H. (2020). Identification and quantification of stilbenes (Piceatannol and resveratrol) in passiflora edulis by-products. *Pharmaceuticals*, 13(4), 73.

Krambeck, K., Oliveira, A., Santos, D., Pintado, M. M., Baptista Silva, J., Sousa Lobo, J. M., & Amaral, M. H. (2020). Identification and quantification of stilbenes (Piceatannol and resveratrol) in passiflora edulis by-products. *Pharmaceuticals*, 13(4), 73.

Krambeck, K., Silva, V., Silva, R., Fernandes, C., Cagide, F., Borges, F., ... & Amaral, M. H. (2021). Design and characterization of Nanostructured lipid carriers (NLC) and Nanostructured lipid carrier-based hydrogels containing Passiflora edulis seeds oil. *International journal of pharmaceutics*, 600, 120444.

la liste des spécialités remboursables. Journal officiel. JORF n° 0124 du 01/06/2018.

- **Kandapani, S., Balaraman, A. K., & Ahamed, H. N. (2015).** Extracts of passion fruit peel and seed of Passiflora edulis (Passifloraceae) attenuate oxidative stress in diabetic rats. *Chinese journal of natural medicines*, 13(9), 680-686.

- **Kandapani, S., Balaraman, A. K., & Ahamed, H. N. (2015).** Extracts of passion fruit peel and seed of Passiflora edulis (Passifloraceae) attenuate oxidative stress in diabetic rats. *Chinese journal of natural medicines*, 13(9), 680-686.

- **Kandapani, S., Balaraman, A. K., & Ahamed, H. N. (2015).** Extracts of passion fruit peel and seed of Passiflora edulis (Passifloraceae) attenuate oxidative stress in diabetic rats. *Chinese journal of natural medicines*, 13(9), 680-686.

- **Kang, S., Chung, J. H., Lee, J. H., Fisher, G. J., Wan, Y. S., Duell, E. A., & Voorhees, J. J. (2003).** Topical N-acetyl cysteine and genistein prevent ultraviolet-light-induced signaling that leads to photoaging in human skin in vivo. *Journal of Investigative Dermatology*, 120(5), 835-841.

- **Kang, S., Fisher, G. J., & Voorhees, J. J. (1997).** Photoaging and topical tretinoin: therapy, pathogenesis, and prevention. *Archives of dermatology*, 133(10), 1280-1284.
- **Karande, S., & Kulkarni, V. (2023).** Automated Prognosis of Alzheimer's Disease using Machine Learning Classifiers on Spontaneous Speech features. *International Journal of Intelligent Systems and Applications in Engineering*, 11(2), 245-251.
- **Kawakami, S., Kinoshita, Y., Maruki-Uchida, H., Yanae, K., Sai, M., & Ito, T. (2014).** Piceatannol and its metabolite, isorhapontigenin, induce SIRT1 expression in THP-1 human monocytic cell line. *Nutrients*, 6(11), 4794-4804.
- **Kawakami, S., Kinoshita, Y., Maruki-Uchida, H., Yanae, K., Sai, M., & Ito, T. (2014).** Piceatannol and its metabolite, isorhapontigenin, induce SIRT1 expression in THP-1 human monocytic cell line. *Nutrients*, 6(11), 4794-4804.
- **Kishimoto, H., Ohara, T., Hata, J., Ninomiya, T., Yoshida, D., Mukai, N., ... & Kiyohara, Y. (2016).** The long-term association between physical activity and risk of dementia in the community: the Hisayama Study. *European journal of epidemiology*, 31(3), 267-274.
- **Kitada, M., Ogura, Y., Maruki-Uchida, H., Sai, M., Suzuki, T., Kanasaki, K., ... & Koya, D. (2017).** The effect of piceatannol from passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds on metabolic health in humans. *Nutrients*, 9(10), 1142.
- **Knopman, D. S., Amieva, H., Petersen, R. C., Chételat, G., Holtzman, D. M., Hyman, B. T., ... & Jones, D. T. (2021).** Alzheimer disease. *Nature reviews Disease primers*, 7(1), 33.
- **Krambeck, K., Oliveira, A., Santos, D., Pintado, M. M., Baptista Silva, J., Sousa Lobo, J. M., & Amaral, M. H. (2020).** Identification and quantification of stilbenes (Piceatannol and resveratrol) in *passiflora edulis* by-products. *Pharmaceuticals*, 13(4), 73.
- **Krambeck, K., Oliveira, A., Santos, D., Pintado, M. M., Baptista Silva, J., Sousa Lobo, J. M., & Amaral, M. H. (2020).** Identification and quantification of stilbenes (Piceatannol and resveratrol) in *passiflora edulis* by-products. *Pharmaceuticals*, 13(4), 73.
- **Krambeck, K., Santos, D., Otero-Espinar, F., Lobo, J. S., & Amaral, M. H. (2020).** Lipid nanocarriers containing *Passiflora edulis* seeds oil intended for skin application. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 193, 111057.
- **Krieps M. (2009) .**Le thé : origine, actualités et potentialités. Thèse de Pharmacie. Université . Henri Poincaré Nancy 1. 215p .

- **La Joie, R., Visani, A. V., Baker, S. L., Brown, J. A., Bourakova, V., Cha, J., ... & Rabinovici, G. D. (2020).** Prospective longitudinal atrophy in Alzheimer's disease correlates with the intensity and topography of baseline tau-PET. *Science translational medicine*, 12(524), eaau5732.
- **Lachno, D. R., Evert, B. A., Maloney, K., Willis, B. A., Talbot, J. A., Vandijck, M., & Dean, R. A. (2015).** Validation and clinical utility of ELISA methods for quantification of amyloid- β peptides in cerebrospinal fluid specimens from Alzheimer's disease studies. *Journal of Alzheimer's Disease*, 45(2), 527-542.
- **Lam, S. K., & Ng, T. B. (2009).** Passiflin, a novel dimeric antifungal protein from seeds of the passion fruit. *Phytomedicine*, 16(2-3), 172-180.
- **Larik, F. A., Saeed, A., Faisal, M., Hamdani, S., Jabeen, F., Channar, P. A., ... & Seo, S. Y. (2020).** Synthesis, inhibition studies against AChE and BChE, drug-like profiling, kinetic analysis and molecular docking studies of N-(4-phenyl-3-aryoyl-2 (3H)-ylidene) substituted acetamides. *Journal of Molecular Structure*, 1203, 127459.
- **Leão, K. M., Sampaio, K. L., Pagani, A. A., & Da Silva, M. A. A. (2014).** Odor potency, aroma profile and volatiles composition of cold pressed oil from industrial passion fruit residues. *Industrial Crops and Products*, 58, 280-286.
- **Lee, H. J., Kang, M. G., Cha, H. Y., Kim, Y. M., Lim, Y., & Yang, S. J. (2019).** Effects of piceatannol and resveratrol on sirtuins and hepatic inflammation in high-fat diet-fed mice. *Journal of medicinal food*, 22(8), 833-840.
- **Légifrance. Arrêté du 29 mai 2018** portant radiation de spécialités pharmaceutiques de
- **Leuzy, A., Smith, R., Ossenkoppele, R., Santillo, A., Borroni, E., Klein, G., ... & Hansson, O. (2020).** Diagnostic performance of RO948 F 18 tau positron emission tomography in the differentiation of Alzheimer disease from other neurodegenerative disorders. *JAMA neurology*, 77(8), 955-965.
- **Li, C., Xin, M., Li, L., He, X., Yi, P., Tang, Y., ... & Li, Z. (2021).** Characterization of the aromatic profile of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) during ripening by HS-SPME-GC/MS and RNA sequencing. *Food chemistry*, 355, 129685.
- **Li, G., et al., 2011.** Temporal relationship between depression and dementia: findings from a large community-based 15-year follow-up study. *Arch Gen Psychiatry*. 68, 970-7.

- **Loizzo, M. R., Lucci, P., Núñez, O., Tundis, R., Balzano, M., Frega, N. G., ... & Pacetti, D. (2019).** Native colombian fruits and their by-products: Phenolic profile, antioxidant activity and hypoglycaemic potential. *Foods*, 8(3), 89.
- **Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M. (2013).** Antioxidant activities and phenolics of *Passiflora edulis* seed recovered from juice production residue. *Journal of oleo science*, 62(4), 235-240.
- **Malacrida, C. R., & Jorge, N. (2012).** Yellow passion fruit seed oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): physical and chemical characteristics. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55, 127-134.
- **Malacrida, C. R., & Jorge, N. (2012).** Yellow passion fruit seed oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): physical and chemical characteristics. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55, 127-134.
- **Martin, F. W., & Nakasone, H. Y. (1970).** The edible species of *Passiflora*. *Economic Botany*, 24(3), 333-343.
- **Matsui, Y., Sugiyama, K., Kamei, M., Takahashi, T., Suzuki, T., Katagata, Y., & Ito, T. (2010).** Extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) seed containing high amounts of piceatannol inhibits melanogenesis and promotes collagen synthesis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(20), 11112-11118.
- **Morris, M. C. (2003).** evans da, bienias JI, tangney CC, bennett da, Wilson Rs, et al. Consumption of fish and n-3 fatty acids and risk of incident alzheimer disease. *arch neurol*, 60(7), 940.
- **Morris, M. C., Tangney, C. C., Wang, Y., Sacks, F. M., Bennett, D. A., & Aggarwal, N. T. (2015).** MIND diet associated with reduced incidence of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 11(9), 1007– 1014.
- **Mota, N. S., Kwiecinski, M. R., Zeferino, R. C., de Oliveira, D. A., Bretanha, L. C., Ferreira, S. R., ... & Ourique, F. (2018).** In vivo antitumor activity of by-products of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. Rich in medium and long chain fatty acids evaluated through oxidative stress markers, cell cycle arrest and apoptosis induction. *Food and Chemical Toxicology*, 118, 557-565.

- **Naseri, N. N., Wang, H., Guo, J., Sharma, M. and Luo, W. [2019]**, ‘The complexity of tau in Alzheimer’s disease’. doi : 10.1016/j.neulet.2019.04.022.
- **Ngakou Takam, P., Tonfack Djikeng, F., Kuate, D., Nouemsi Kengne, A. P., Doungué Tsafack, H., Makamwé, I., & Oben, J. E. (2019)**. Passiflora edulis seed oil from west Cameroon: Chemical characterization and assessment of its hypolipidemic effect in high-fat diet–induced rats. *Food Science & Nutrition*, 7(11), 3751-3758.
- **Norton, S., Matthews, F. E., Barnes, D. E., Yaffe, K., & Brayne, C. (2014)**. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. *The Lancet Neurology*, 13(8), 788-794.
- **Nurk, E., Drevon, C. A., Refsum, H., Solvoll, K., Vollset, S. E., Nygård, O., ... & Smith, A. D. (2007)**. Cognitive performance among the elderly and dietary fish intake: the Hordaland Health Study. *The American journal of clinical nutrition*, 86(5), 1470-1478.
- **Okamura, N., Funaki, Y., Tashiro, M., Kato, M., Ishikawa, Y., Maruyama, M., ... & Yanai, K. (2008)**. In vivo visualization of donepezil binding in the brain of patients with Alzheimer's disease. *British journal of clinical pharmacology*, 65(4), 472-479.
- **Oliveira, D. A., Angonese, M., Gomes, C., & Ferreira, S. R. (2016)**. Valorization of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) by-products: Sustainable recovery and biological activities. *The Journal of Supercritical Fluids*, 111, 55-62.
- **Oliver, J. M., Burg, D. L., Wilson, B. S., McLaughlin, J. L., & Geahlen, R. L. (1994)**. Inhibition of mast cell Fc epsilon R1-mediated signaling and effector function by the Syk-selective inhibitor, piceatannol. *Journal of Biological Chemistry*, 269(47), 29697-29703.
- **Oluoch, P., Nyaboga, E. N., & Bargul, J. L. (2018)**. Analysis of genetic diversity of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) genotypes grown in Kenya by sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers. *Annals of Agrarian Science*, 16(4), 367-375.
- **Ortiz D C, Bohórquez A, Duque M C, Tohme J, Cuéllar D, Mosquera Vásquez T. 2011**. Evaluating purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *edulis*) genetic variability in individuals from commercial plantations in Colombia. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59, 1089-1099 .

- **Palmqvist, S., Janelidze, S., Quiroz, Y. T., Zetterberg, H., Lopera, F., Stomrud, E., et al. (2020).** Discriminative Accuracy of Plasma Phospho-tau217 for Alzheimer Disease vs Other Neurodegenerative Disorders. *JAMA* 324, 772–781. doi:10.1001/jama.2020.12134.
- **Pan, Z. H., Ning, D. S., Fu, Y. X., Li, D. P., Zou, Z. Q., Xie, Y. C., ... & Li, L. C. (2020).** Preparative isolation of piceatannol derivatives from passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds by high-speed countercurrent chromatography combined with high-performance liquid chromatography and screening for α -glucosidase inhibitory activities. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(6), 1555-1562.
- **Panelli, M. F., Pierine, D. T., De Souza, S. L. B., Ferron, A. J. T., Garcia, J. L., Santos, K. C. D., ... & Corrêa, C. R. (2018).** Bark of *Passiflora edulis* treatment stimulates antioxidant capacity, and reduces dyslipidemia and body fat in db/db mice. *Antioxidants*, 7(9), 120.
- **Panza, F., Lozupone, M., Logroscino, G., & Imbimbo, B. P. (2019).** A critical appraisal of amyloid- β -targeting therapies for Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*, 15(2), 73-88.
- **Paquet, C. (2020).** Diagnostic précoce et biomarqueurs biologiques de la maladie d'Alzheimer. *NPG Neurologie-Psychiatrie-Gériatrie*, 20(120), 120S7-120S10.
- **Parsons, C. G., Danysz, W., Dekundy, A., & Pulte, I. (2013).** Memantine and cholinesterase inhibitors: complementary mechanisms in the treatment of Alzheimer's disease. *Neurotoxicity research*, 24, 358-369.
- **Pérès, K., Brayne, C., Matharan, F., Grasset, L., Helmer, C., Letenneur, L., ... Dartigues, J.-F. (2017).** Trends in prevalence of dementia in french farmers from two epidemiological cohorts. *Journal of the American Geriatrics Society*, 65(2), 415–420.
- Peytavin J-L. Alzheimer et démences séniles : mieux vivre avec un malade. Issy-les Moulinaux. Éditions Prat. 2003. 179p
- **Puricelli, L., Dell'Aica, I., Sartor, L., Garbisa, S., Caniato, R., 2003.** Preliminary evaluation of inhibition .
- **Raina, P., Santaguida, P., Ismaila, A., Patterson, C., Cowan, D., Levine, M., ... & Oremus, M. (2008).** Effectiveness of cholinesterase inhibitors and memantine for treating dementia: evidence review for a clinical practice guideline. *Annals of internal medicine*, 148(5), 379-397.

- **Ramaiya, S. D., Bujang, J. S., & Zakaria, M. H. (2018).** Nutritive values of passion fruit (*Passiflora* species) seeds and its role in human health. *Journal of Agriculture Food and Development*, 4(1), 23-30.
- **Ramaiya, S. D., Bujang, J. S., & Zakaria, M. H. (2018).** Nutritive values of passion fruit (*Passiflora* species) seeds and its role in human health. *Journal of Agriculture Food and Development*, 4(1), 23-30.
- **Reis, C. C., Mamede, A. M. G. N., Soares, A., & Freitas, S. P. (2020).** Production of lipids and natural antioxidants from passion fruit seeds. *Grasas Y Aceites*, 71(4), e385-e385.
- **Reitz, C., Mayeux, R., 2014.** Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem Pharmacol.* 88, 640-51.
- Revue Prescrire. Médicaments à écarter 2021. [En ligne]
- **Ritchie, C. W., Bush, A. I., Mackinnon, A., Macfarlane, S., Mastwyk, M., MacGregor, L., ... & Masters, C. L. (2003).** Metal-protein attenuation with iodochlorhydroxyquin (clioquinol) targeting A β amyloid deposition and toxicity in Alzheimer disease: a pilot phase 2 clinical trial. *Archives of neurology*, 60(12), 1685-1691.
- **Rotta, E. M., Giroux, H. J., Lamothe, S., Bélanger, D., Sabik, H., Visentainer, J. V., & Britten, M. (2020).** Use of passion fruit seed extract (*Passiflora edulis* Sims) to prevent lipid oxidation in dairy beverages during storage and simulated digestion. *Lwt*, 123, 109088.
- **Saito, T., Murata, C., Saito, M., Takeda, T., & Kondo, K. (2018).** Influence of social relationship domains and their combinations on incident dementia: a prospective cohort study. *J Epidemiol Community Health*, 72(1), 7-12.
- **Salles, B. C. C., da Silva, M. A., Taniguthi, L., Ferreira, J. N., da Rocha, C. Q., Vilegas, W., ... & de Araújo Paula, F. B. (2020).** *Passiflora edulis* leaf extract: evidence of antidiabetic and antiplatelet effects in rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 43(1), 169-174.
- **Sarris, J. (2018).** Herbal medicines in the treatment of psychiatric disorders: 10-year updated review. *Phytotherapy Research*, 32(7), 1147-1162.
- **Satizabal, C. L., Beiser, A. S., Chouraki, V., Chêne, G., Dufouil, C., & Seshadri, S. (2016).** Incidence of dementia over three decades in the Framingham Heart Study. *New England Journal of Medicine*, 374(6), 523-532.

- Selkoe, D.J., Hardy, J., 2016. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol. Med.* 8, 595–608. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606210> .
- Serra, J. L., da Cruz Rodrigues, A. M., de Freitas, R. A., de Almeida Meirelles, A. J., Darnet, S. H., & da Silva, L. H. M. (2019). Alternative sources of oils and fats from Amazonian plants: Fatty acids, methyl tocopherols, total carotenoids and chemical composition. *Food research international*, 116, 12-19.
- Seubert, P., Vigo-Pelfrey, C., Esch, F., Lee, M., Dovey, H., Davis, D., ... & Schenk, D. (1992). Isolation and quantification of soluble Alzheimer's β -peptide from biological fluids. *Nature*, 359(6393), 325-327.
- Sharp, E.S., Gatz, M., 2011. Relationship between education and dementia: an updated systematic review. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 25, 289-304.
- Silva, J. L., Silva, W. F., Lopes, L. E. M., Silva, M. J. S., Silva-Cabral, J. R. A., Costa, J. F. O., ... & Assuncao, I. P. (2021). First report of *Colletotrichum tropicale* causing anthracnose on *Passiflora edulis* in Brazil. *Plant Disease*, 105(11), 3761.
- Soares, R. D., Campos, M. G., Ribeiro, G. P., Salles, B. C., Cardoso, N. S., Ribeiro, J. R., ... & Paula, F. B. (2020). Development of a chitosan hydrogel containing flavonoids extracted from *Passiflora edulis* leaves and the evaluation of its antioxidant and wound healing properties for the treatment of skin lesions in diabetic mice. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 108(3), 654-662.
- Solfrizzi, V., et al., 2011. Metabolic syndrome, mild cognitive impairment, and progression to dementia. *The Italian Longitudinal Study on Aging. Neurobiol Aging.* 32, 1932-41.
- Sommerlad, A., Sabia, S., Singh-Manoux, A., Lewis, G., & Livingston, G. (2019). Association of social contact with dementia and cognition: 28-year follow-up of the Whitehall II cohort study. *PLoS medicine*, 16(8), e1002862.
- Song, C., Shi, J., Zhang, P., Zhang, Y., Xu, J., Zhao, L., ... & Chen, H. (2022). Immunotherapy for Alzheimer's disease: Targeting β -amyloid and beyond. *Translational Neurodegeneration*, 11(1), 18 .
- Song, S., Zhang, D., Ma, F., Xing, W., Huang, D., Wu, B., ... & Xu, Y. (2022). Genome-wide identification and expression analyses of the aquaporin gene family in passion fruit

(*Passiflora edulis*), revealing PeTIP3-2 to be involved in drought stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(10), 5720.

- **Stern, Y. (2006)**. Cognitive reserve and Alzheimer disease. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 20, S69-S74.

- **Taborda, J. A. V., Arango, W. M., Arteaga, J. J. M., & Almonacid, C. M. G. (2021)**. Encapsulation of bioactive compounds from byproducts of two species of passionflowers: evaluation of the physicochemical properties and controlled release in a gastrointestinal model. *Heliyon*, 7(7).

- **Tal, Y., Anavi, S., Reisman, M., Samach, A., Tirosh, O., & Troen, A. M. (2016)**. The neuroprotective properties of a novel variety of passion fruit. *Journal of Functional Foods*, 23, 359-369.

- **Teng, H., He, Z., Li, X., Shen, W., Wang, J., Zhao, D., ... & Zha, X. (2022)**. Chemical structure, antioxidant and anti-inflammatory activities of two novel pectin polysaccharides from purple passion fruit (*Passiflora edulia* Sims) peel. *Journal of Molecular Structure*, 1264, 133309.

- **Thokchom, R., & Mandal, G. (2017)**. Production preference and importance of passion fruit (*Passiflora edulis*): A review. *Journal of Agricultural Engineering and Food Technology*, 4(1), 27-30.

- **Ulmer, T., & MacDougal, J. M. (2004)**. *Passiflora: passionflowers of the world*. Timber Press (OR).

- **Urrego, N., Sepúlveda, P., Aragón, M., Ramos, F. A., Costa, G. M., Ospina, L. F., & Castellanos, L. (2021)**. Flavonoids and saponins from *Passiflora edulis* f. *edulis* leaves (purple passion fruit) and its potential anti-inflammatory activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 73(11), 1530-1538.

- **Van Horssen, J., Wesseling, P., Van Den Heuvel, L. P., De Waal, R. M., & Verbeek, M. M. (2003)**. Heparan sulphate proteoglycans in Alzheimer's disease and amyloid-related disorders. *The Lancet Neurology*, 2(8), 482-492.

- **Vaz, M., & Silvestre, S. (2020)**. Alzheimer's disease: Recent treatment strategies. *European Journal of Pharmacology*, 887, 173554.

- **Vera, K., Raif, A., & Ikhtiari, R. (2019)**. Antioxidant and Anti-elastase Activity of Seed and Peel Extract of *P. edulis*. *Am. Sci. Res. J. Eng. Technol. Sci*, 53, 43-48.

- **Vuolo, M. M., Lima, G. C., Batista, Â. G., Carazin, C. B. B., Cintra, D. E., Prado, M. A., & Júnior, M. R. M. (2020).** Passion fruit peel intake decreases inflammatory response and reverts lipid peroxidation and adiposity in diet-induced obese rats. *Nutrition research*, 76, 106-117.
- **Wang, R., & Reddy, P. H. (2017).** Role of glutamate and NMDA receptors in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 57(4), 1041-1048.
- **Wilson, R. S., Boyle, P. A., Yu, L., Barnes, L. L., Schneider, J. A., & Bennett, D. A. (2013).** Life-span cognitive activity, neuropathologic burden, and cognitive aging. *Neurology*, 81(4), 314-321.
- **Wohlmuth, H., Penman, K.G., Pearson, T., Lehmann, R.P., (2010).** Pharmacognosy and chemotypes of passionflower (*Passiflora incarnata* L.). *Biol. Pharm. Bull.* 33 (6), 1015–1018 .
- **World Health Organization, (2021).** Global status report on the public health response to dementia. Geneva.
- **World Health Organization, (2021).** Global status report on the public health response to dementia. Geneva.
- **World Health Organization. (2001).** Biomarkers in Risk Assessment: Validity and Vlidation-Environmental Health Criteria 222.
- **Xu, H., Yang, R., Qi, X., Dintica, C., Song, R., Bennett, D. A., & Xu, W. (2019).** Association of lifespan cognitive reserve indicator with dementia risk in the presence of brain pathologies. *Jama Neurology*, 76(10), 1184-1191.
- **Yamamoto, T., Sato, A., Takai, Y., Yoshimori, A., Umehara, M., Ogino, Y., ... & Tanuma, S. I. (2019).** Effect of piceatannol-rich passion fruit seed extract on human glyoxalase I-mediated cancer cell growth. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 20, 100684.
- **Yamamoto, T., Sato, A., Takai, Y., Yoshimori, A., Umehara, M., Ogino, Y., ... & Tanuma, S. I. (2019).** Effect of piceatannol-rich passion fruit seed extract on human glyoxalase I-mediated cancer cell growth. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 20, 100684.
- **Yepes, A., Ochoa-Bautista, D., Murillo-Arango, W., Quintero-Saumeth, J., Bravo, K., & Osorio, E. (2021).** Purple passion fruit seeds (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims) as a promising source of skin anti-aging agents: Enzymatic, antioxidant and multi-level computational studies. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(1), 102905.

- **Zhang, X. X., Tian, Y., Wang, Z. T., Ma, Y. H., Tan, L., & Yu, J. T. (2021).** The epidemiology of Alzheimer's disease modifiable risk factors and prevention. *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, 8(3), 313-321.

- **Zhang, Z., Luh, W.-M., Duan, W., Zhou, G. D., Weinschenk, G., Anderson, A. K., & Gadouche, L., Djebli, N., & Zerrouki, K. (2018).** Pomegranate juice attenuates neurotoxicity and histopathological changes of the nervous system induced by aluminum in mice. *Phytothérapie*, 16(3), 133-141.

Laurent, C., Eddarkaoui, S., Derisbourg, M., Leboucher, A., Demeyer, D., Carrier, S., ... & Blum, D. (2014). Beneficial effects of caffeine in a transgenic model of Alzheimer's disease-like tau pathology. *Neurobiology of aging*, 35(9), 2079-2090.

le 22 janvier 2021

Leclerc, F. (2022). *La recherche sur la maladie d'Alzheimer, des raisons d'espérer...* (Doctoral dissertation, Fondation Vaincre Alzheimer).

Lee, D. S., Ko, W., Song, B. K., Son, I., Kim, D. W., Kang, D. G., ... & Kim, S. (2016). The herbal extract KCHO-1 exerts a neuroprotective effect by ameliorating oxidative stress via heme oxygenase-1 upregulation. *Molecular Medicine Reports*, 13(6), 4911-4919.

Li, H., Zhou, P., Yang, Q., Shen, Y., Deng, J., Li, L., & Zhao, D. (2011). Comparative studies on anxiolytic activities and flavonoid compositions of *Passiflora edulis* 'edulis' and *Passiflora edulis* 'flavicarpa'. *Journal of ethnopharmacology*, 133(3), 1085-1090.

Liu, S., Shang, R., Shi, L., Wan, D. C. C., & Lin, H. (2014). Synthesis and biological evaluation of 7H-thiazolo [3, 2-b]-1, 2, 4-triazin-7-one derivatives as dual binding site acetylcholinesterase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 81, 237-244.

Livingston, G., Huntley, J., Sommerlad, A., Ames, D., Ballard, C., Banerjee, S., ... Mukadam, N. (2020). Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. *The Lancet*, 396(10248), 413–446. doi:10.1016/S0140- 6736(20)30367-6

Loizzo, M. R., Lucci, P., Núñez, O., Tundis, R., Balzano, M., Frega, N. G., ... & Pacetti, D. (2019). Native colombian fruits and their by-products: Phenolic profile, antioxidant activity and hypoglycaemic potential. *Foods*, 8(3), 89.

- Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M. (2013).** Antioxidant activities and phenolics of *Passiflora edulis* seed recovered from juice production residue. *Journal of oleo science*, 62(4), 235-240.
- Mahdi, O., Chiroma, S. M., Hidayat Baharuldin, M. T., Mohd Nor, N. H., Mat Taib, C. N., Jagadeesan, S., ... & Mohd Moklas, M. A. (2021).** Win55, 212-2 attenuates cognitive impairments in *alcl3+* d-galactose-induced alzheimer's disease rats by enhancing neurogenesis and reversing oxidative stress. *Biomedicines*, 9(9), 1270.
- Majeed . D. M ., D. K. Nagabhushanam, D. D. Kalman, D. B. Bhat, D. P. Vaidyanathan, D. S. Bani and D. A. Pandey . (2013).** European patent application. Patent No. EP 3 108 935 A1. Application No. 16184143.2
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- Maraković, N., Knežević, A., Vinković, V., Kovarik, Z., & Šinko, G. (2016).** Design and synthesis of N-substituted-2-hydroxyiminoacetamides and interactions with cholinesterases. *Chemico-biological interactions*, 259, 122-132.
- Mathiyazahan, D. B., Thenmozhi, A. J., & Manivasagam, T. (2015).** Protective effect of black tea extract against aluminium chloride-induced Alzheimer's disease in rats: A behavioural, biochemical and molecular approach. *Journal of Functional Foods*, 16, 423-435.
- Matsui, Y., Sugiyama, K., Kamei, M., Takahashi, T., Suzuki, T., Katagata, Y., & Ito, T. (2010).** Extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) seed containing high amounts of piceatannol inhibits melanogenesis and promotes collagen synthesis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(20), 11112-11118.
- Matsui, Y., Sugiyama, K., Kamei, M., Takahashi, T., Suzuki, T., Katagata, Y., & Ito, T. (2010).** Extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) seed containing high amounts of piceatannol inhibits melanogenesis and promotes collagen synthesis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(20), 11112-11118.
- Matsui, Y., Sugiyama, K., Kamei, M., Takahashi, T., Suzuki, T., Katagata, Y., & Ito, T. (2010).** Extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) seed containing high amounts of piceatannol inhibits melanogenesis and promotes collagen synthesis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(20), 11112-11118.

Matsumoto, Y., & Katano, Y. (2021). Cardiovascular protective effects of polyphenols contained in passion fruit seeds namely piceatannol and scirpusin B: A review. *Tokai J. Exp. Clin. Med*, 46, 151-161.

-Matthews, F. E., Arthur, A., Barnes, L. E., Bond, J., Jagger, C., Robinson, L., & Brayne, C. (2013). A two-decade comparison of prevalence of dementia in individuals aged 65 years and older from three geographical areas of England: results of the Cognitive Function and Ageing Study I and II. *The Lancet*, 382(9902), 1405–1412.

-Mattson, M.P., 2004. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*. 430, 631-9.

-Matyas, N., Aschenberger, F. K., Wagner, G., Teufer, B., Auer, S., Gisinger, C., & Gartlehner, G. (2019). Continuing education for the prevention of mild cognitive impairment and Alzheimer's-type dementia: a systematic review and overview of systematic reviews. *BMJ open*, 9(7), e027719.

Mehrbeheshti, N., Esmaili, Z., Ahmadi, M., & Moosavi, M. (2022). A dose response effect of oral aluminum nanoparticle on novel object recognition memory, hippocampal caspase-3 and MAPKs signaling in mice. *Behavioural Brain Research*, 417, 113615.

Melo Filho, A. A., Kamezaki, A. K., Ribeiro, P. E., De Melo, A. G. R., Fernandez, I. M., Dos Santos, R. C., ... & Chagas, P. C. (2018). Chemical composition, antioxidant and biological activity of leaves *Passiflora Foetida*. *Chemical engineering transactions*, 64, 241-246.

Mesole, S. B., Alfred, O. O., Yusuf, U. A., Lukubi, L., & Ndhlovu, D. (2020). Apoptotic inducement of neuronal cells by aluminium chloride and the neuroprotective effect of eugenol in wistar rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020.

-Messaad, M., Dhouib, I., Abdelhedi, M., & Khemakhem, B. (2022). Synthesis, bioassay and molecular docking of novel pyrazole and pyrazolone derivatives as acetylcholinesterase inhibitors. *Journal of Molecular Structure*, 1263, 133105.

Miles, J. A., & Ross, B. P. (2020). Recent advances in virtual screening for cholinesterase inhibitors. *ACS chemical neuroscience*, 12(1), 30-41.

-Mishra, S., & Palanivelu, K. (2008). The effect of curcumin (turmeric) on Alzheimer's disease: An overview. *Annals of Indian Academy of Neurology*, 11(1), 13.

Murias, M., Jäger, W., Handler, N., Erker, T., Horvath, Z., Szekeres, T., ... & Gille, L. (2005). Antioxidant, prooxidant and cytotoxic activity of hydroxylated resveratrol analogues: structure–activity relationship. *Biochemical pharmacology*, 69(6), 903-912.

Murillo, E., & Méndez, J. (2012). Guía rápida para la determinación de núcleos secundarios en extractos vegetales. Universidad del Tolima, Tolima, Colombia.

Muzzu, T., Mitolo, S., Gava, G. P., & Schultz, S. R. (2018). Encoding of locomotion kinematics in the mouse cerebellum. *PLoS One*, 13(9), e0203900.

Najar, J., Östling, S., Gudmundsson, P., Sundh, V., Johansson, L., Kern, S., ... & Skoog, I. (2019). Cognitive and physical activity and dementia: A 44-year longitudinal population study of women. *Neurology*, 92(12), e1322-e1330.

Nobre, A. C., Rao, A., & Owen, G. N. (2008). L-theanine, a natural constituent in tea, and its effect on mental state. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 17.

of matrix-metalloprotease MMP-2 and MMP-9 by *Passiflora edulis* and *P. foetida* aqueous extracts. *Fitoterapia* 74 (3), 302–304.

Ogunlade, B., Adedokun, S. A., & Agie, J. A. (2022). Nutritional supplementation of gallic acid ameliorates Alzheimer-type hippocampal neurodegeneration and cognitive impairment induced by aluminum chloride exposure in adult Wistar rats. *Drug and chemical toxicology*, 45(2), 651-662.

Okamura, N., Funaki, Y., Tashiro, M., Kato, M., Ishikawa, Y., Maruyama, M., ... & Yanai, K. (2008). In vivo visualization of donepezil binding in the brain of patients with Alzheimer's disease. *British journal of clinical pharmacology*, 65(4), 472-479.

Oliveira, D. A., Angonese, M., Gomes, C., & Ferreira, S. R. (2016). Valorization of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) by-products: Sustainable recovery and biological activities. *The Journal of Supercritical Fluids*, 111, 55-62.

Oliver, J. M., Burg, D. L., Wilson, B. S., McLaughlin, J. L., & Geahlen, R. L. (1994). Inhibition of mast cell Fc epsilon R1-mediated signaling and effector function by the Syk-selective inhibitor, piceatannol. *Journal of Biological Chemistry*, 269(47), 29697-29703.

Onoja, J. O., Elufioye, T. O., Sherwani, Z. A., & Ul-Haq, Z. (2021). Molecular docking study on columbin isolated from *Tinospora cordifolia* as a cholinesterase inhibitor. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 20(2), 337-343.

Palmqvist, S., Janelidze, S., Quiroz, Y. T., Zetterberg, H., Lopera, F., Stomrud, E., ... & Hansson, O. (2020). Discriminative accuracy of plasma phospho-tau217 for Alzheimer disease vs other neurodegenerative disorders. *Jama*, 324(8), 772-781.

Pan, Z. H., Ning, D. S., Fu, Y. X., Li, D. P., Zou, Z. Q., Xie, Y. C., ... & Li, L. C. (2020). Preparative isolation of piceatannol derivatives from passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds by high-speed countercurrent chromatography combined with high-performance liquid chromatography and screening for α -glucosidase inhibitory activities. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(6), 1555-1562.

Pandey, A. K. (2007). Anti-staphylococcal activity of a pan-tropical aggressive and obnoxious weed *Parthenium hysterophorus*: an in vitro study. *National Academy Science Letters*, 30(11/12), 383-386.

Paudel, P. Seong, S. H. Zhou, Y. Park, H. J. . Jung H. A and J. S. J. A. o. Choi, 2019, 4, 12259

Petry, R. D., Reginatto, F., de-Paris, F., Gosmann, G., Salgueiro, J. B., Quevedo, J., ... & Schenkel, E. P. (2001). Comparative pharmacological study of hydroethanol extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* leaves. *Phytotherapy Research*, 15(2), 162-164.

Ping Y et al (2015) . Linking $\alpha\beta$ 42-induced hyperexcitability to neurodegeneration, learning and motor deficits, and a shorter lifespan in an Alzheimer's model. *PLoS Genet* 11(3):e1005025

Pisani, L., Iacobazzi, R. M., Catto, M., Rullo, M., Farina, R., Denora, N., ... & Altomare, C. D. (2019). Investigating alkyl nitrates as nitric oxide releasing precursors of multitarget acetylcholinesterase-monoamine oxidase B inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 161, 292-309.

Pradeepkiran, J. A., Reddy, A. P. and Reddy, P. H. (2019) , 'Pharmacophore-based models for therapeutic drugs against phosphorylated tau in Alzheimer's disease'. doi : 10.1016/j.drudis.2018.11.005 .

Purohit, S., Barik, C. R., Kalita, D., Sahoo, L., & Goud, V. V. (2021). Exploration of nutritional, antioxidant and antibacterial properties of unutilized rind and seed of passion fruit from Northeast India. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 3153-3167.

Qiu, T., Liu, Q., Chen, Y. X., Zhao, Y. F., & Li, Y. M. (2015). $\text{A}\beta$ 42 and $\text{A}\beta$ 40: similarities and differences. *Journal of Peptide Science*, 21(7), 522-529.

- Rege, S. D., Geetha, T., Griffin, G. D., Broderick, T. L., & Babu, J. R. (2014).** Neuroprotective effects of resveratrol in Alzheimer disease pathology. *Frontiers in aging neuroscience*, 6, 218.
- Rege, S. D., Geetha, T., Griffin, G. D., Broderick, T. L., & Babu, J. R. (2014).** Neuroprotective effects of resveratrol in Alzheimer disease pathology. *Frontiers in aging neuroscience*, 6, 218.
- Rice-evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., & Pridham, J. B. (1995).** The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free radical research*, 22(4), 375-383.
- Ritchie, K., Lovestone, S., 2002.** The dementias. *Lancet*. 360, 1759-66.
- Rivière, C., Papastamoulis, Y., Fortin, P. Y., Delchier, N., Andriamanarivo, S., Waffo-Teguo, P., ... & Monti, J. P. (2010).** New stilbene dimers against amyloid fibril formation. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 20(11), 3441-3443.
- Rodríguez, Á. A. J., Arteaga, J. J. M., Arango, W. M., & Pabón, M. F. G. (2021).** Vasodilator effect of ethanolic extracts of *Passiflora vitifolia* and *Passiflora edulis* f. *edulis* seeds. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 11(10), 061-069.
- Rodríguez, Á. A. J., Arteaga, J. J. M., Arango, W. M., & Pabón, M. F. G. (2021).** Vasodilator effect of ethanolic extracts of *Passiflora vitifolia* and *Passiflora edulis* f. *edulis* seeds. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 11(10), 061-069.
- Rozemuller, J. M., Eikelenboom, P., Stam, F. C., Beyreuther, K., & Masters, C. L. (1989).** A4 protein in Alzheimer's disease: primary and secondary cellular events in extracellular amyloid deposition. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 48(6), 674-691.
- Rumbaoa, R. G. O., Cornago, D. F., & Geronimo, I. M. (2009).** Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine sweet potato (*Ipomoea batatas*) varieties. *Food Chemistry*, 113(4), 1133-1138.
- Saba, K., Rajnala, N., Veeraiah, P., Tiwari, V., Rana, R. K., Lakhota, S. C., & Patel, A. B. (2017).** Energetics of excitatory and inhibitory neurotransmission in aluminum chloride model of Alzheimer's disease: Reversal of behavioral and metabolic deficits by Rasa Sindoor. *Frontiers in molecular neuroscience*, 10, 323.

Sahibzada, M. U. K., Ahmad, W., El-Shehawi, A. M., Jafri, I., Irfan, S., Khusro, A., ... & Emran, T. B. (2022). Acetylcholinesterase inhibitory activity and iron-induced lipid peroxidation reducing potential of *Pimpinella stewartii* leaves in male wistar rats. *Journal of King Saud University-Science*, 34(4), 101993.

Saito, S., Yamamoto, Y., Maki, T., Hattori, Y., Ito, H., Mizuno, K., ... & Ihara, M. (2017). Taxifolin inhibits amyloid- β oligomer formation and fully restores vascular integrity and memory in cerebral amyloid angiopathy. *Acta neuropathologica communications*, 5, 1-16.

Salloway, S., Sperling, R., Gilman, S. A., Fox, N. C., Blennow, K., Raskind, M., ... & Grundman, M. (2009). A phase 2 multiple ascending dose trial of bapineuzumab in mild to moderate Alzheimer disease. *Neurology*, 73(24), 2061-2070.

Samadi, A., De Los Ríos, C., Bolea, I., Chioua, M., Iriepa, I., Moraleda, I., ... & Marco-Contelles, J. (2012). Multipotent MAO and cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: synthesis, pharmacological analysis and molecular modeling of heterocyclic substituted alkyl and cycloalkyl propargyl amine. *European journal of medicinal chemistry*, 52, 251-262.

Samieri, C., Sonawane, A. R., Lefèvre-Arbogast, S., Helmer, C., Grodstein, F., & Glass, K. (2020). Using network science tools to identify novel diet patterns in prodromal dementia. *Neurology*, 94(19), e2014–e2025.

Sano, S., Sugiyama, K., Ito, T., Katano, Y., & Ishihata, A. (2011). Identification of the strong vasorelaxing substance scirpusin B, a dimer of piceatannol, from passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(11), 6209-6213.

Sano, S., Sugiyama, K., Ito, T., Katano, Y., & Ishihata, A. (2011). Identification of the strong vasorelaxing substance scirpusin B, a dimer of piceatannol, from passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(11), 6209-6213.

Sano, S., Sugiyama, K., Ito, T., Katano, Y., & Ishihata, A. (2011). Identification of the strong vasorelaxing substance scirpusin B, a dimer of piceatannol, from passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(11), 6209-6213.

Santos, T. C. D., Gomes, T. M., Pinto, B. A. S., Camara, A. L., & Paes, A. M. D. A. (2018). Naturally occurring acetylcholinesterase inhibitors and their potential use for Alzheimer's disease therapy. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1192.

Santos, T. C. D., Gomes, T. M., Pinto, B. A. S., Camara, A. L., & Paes, A. M. D. A. (2018). Naturally occurring acetylcholinesterase inhibitors and their potential use for Alzheimer's disease therapy. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1192.

Saravanan, S., & Parimelazhagan, T. (2013). Total phenolic content, free radical scavenging and antimicrobial activities of Passiflora subpeltata seeds. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(4), 067-072.

Saravanan, S., & Parimelazhagan, T. (2013). Total phenolic content, free radical scavenging and antimicrobial activities of Passiflora subpeltata seeds. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(4), 067-072.

Satizabal, C., Beiser, A. S., & Seshadri, S. (2016). [Review of Incidence of dementia over three decades in the Framingham heart study]. *The New England journal of medicine*, 375(1), 93–94.

Schieber, A., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds—recent developments. *Trends in food science & technology*, 12(11), 401-413.

Schrijvers, E. M. C., Verhaaren, B. F. J., Koudstaal, P. J., Hofman, A., Ikram, M. A., & Breteler, M. M. B. (2012). Is dementia incidence declining?: Trends in dementia incidence since 1990 in the Rotterdam Study. *Neurology*, 78(19), 1456–1463.

Selkoe DJ, Hardy J. 2016. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Molecular Medicine* 8:595–608. doi:10.15252/emmm.201606210 .

Siddhuraju, P., & Becker, K. (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food chemistry*, 101(1), 10-19.

Sim, Y., Choi, J. G., Gu, P. S., Ryu, B., Kim, J. H., Kang, I., ... & Oh, M. S. (2016). Identification of neuroactive constituents of the ethyl acetate fraction from cyperi rhizoma using bioactivity-guided fractionation. *Biomolecules & Therapeutics*, 24(4), 438.

Skalny, A. V., Aschner, M., Jiang, Y., Gluhcheva, Y. G., Tizabi, Y., Lobinski, R., & Tinkov, A. A. (2021). Molecular mechanisms of aluminum neurotoxicity: Update on adverse effects and therapeutic strategies. In *Advances in neurotoxicology* (Vol. 5, pp. 1-34). Academic Press.

Smilin Bell Aseervatham, G., Abbirami, E., Sivasudha, T., & Ruckmani, K. (2020). Passiflora caerulea L. fruit extract and its metabolites ameliorate epileptic seizure, cognitive deficit and oxidative stress in pilocarpine-induced epileptic mice. *Metabolic Brain Disease*, 35, 159-173.

Spire-Jones, T. L., & Hyman, B. T. (2014). The intersection of amyloid beta and tau at synapses in Alzheimer's disease. *Neuron*, 82(4), 756-771.

Stanek, N., & Jasicka-Misiak, I. (2018). HPTLC phenolic profiles as useful tools for the authentication of honey. *Food analytical methods*, 11, 2979-2989.

Taborda, J. A. V., Arango, W. M., Arteaga, J. J. M., & Almonacid, C. M. G. (2021). Encapsulation of bioactive compounds from byproducts of two species of passionflowers: evaluation of the physicochemical properties and controlled release in a gastrointestinal model. *Heliyon*, 7(7).

Taborda, J. A. V., Arango, W. M., Arteaga, J. J. M., & Almonacid, C. M. G. (2021). Encapsulation of bioactive compounds from byproducts of two species of passionflowers: evaluation of the physicochemical properties and controlled release in a gastrointestinal model. *Heliyon*, 7(7).

Thangarajan, S., Deivasigamani, A., Natarajan, S. S., Krishnan, P., & Mohanan, S. K. (2014). Neuroprotective activity of L-theanine on 3-nitropropionic acid-induced neurotoxicity in rat striatum. *International Journal of Neuroscience*, 124(9), 673-684.

Thoe, E. S., Fauzi, A., Tang, Y. Q., Chamyuang, S., & Chia, A. Y. Y. (2021). A review on advances of treatment modalities for Alzheimer's disease. *Life sciences*, 276, 119129.

Tison, F. (2022). *Les maladies neurodégénératives et maladies apparentées en pratique*. Elsevier Health Sciences.

Uchida-Maruki, H., Inagaki, H., Ito, R., Kurita, I., Sai, M., & Ito, T. (2015). Piceatannol lowers the blood glucose level in diabetic mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 38(4), 629-633.

Vaiserman, A., Koliada, A., & Lushchak, O. (2020). Neuroinflammation in pathogenesis of Alzheimer's disease: Phytochemicals as potential therapeutics. *Mechanisms of Ageing and Development*, 189, 111259.

Venugopalan, J., Tong, L., Hassanzadeh, H. R., & Wang, M. D. (2021). Multimodal deep learning models for early detection of Alzheimer's disease stage. *Scientific reports*, 11(1), 3254.

Verny M. La maladie Alzheimer. Éditions Solar. 2018. 310p

Véronique M . (2021) . La maladie d'Alzheimer suite au déremboursement des traitement symptomatiques , la prise en charge actuelle , et les perspective d'avenir , thèse de doctorat .

Vincent-Bugnas, S., Vitale, S., Mouline, C. C., Khaali, W., Charbit, Y., Mahler, P., Prêcheur, I., Hofman, P., Maryanski, J. L., & Doglio, A. (2013). EBV infection is common in gingival epithelial cells of the periodontium and worsens during chronic periodontitis. *PloS one*, 8(12), e80336. 90 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080336> .

Von Elm, E., Altman, D. G., Egger, M., Pocock, S. J., Gøtzsche, P. C., Vandenbroucke, J. P., & Strobe Initiative. (2014). The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: guidelines for reporting observational studies. *International journal of surgery*, 12(12), 1495-1499.

Wada, M., Noda, Y., Shinagawa, S., Chung, J. K., Sawada, K., Ogyu, K., ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2018). Effect of education on Alzheimer's disease-related neuroimaging biomarkers in healthy controls, and participants with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a cross-sectional study. *Journal of Alzheimer's Disease*, 63(2), 861-869.

Wang, H., Wu, S., Wang, L., Gou, X., Guo, X., Liu, Z., & Li, P. (2022). Association between serum total bilirubin and Alzheimer's disease: A bidirectional Mendelian randomization study. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 103, 104786.

Wang, J., Liu, Y., Li, X. H., Zeng, X. C., Li, J., Zhou, J., ... & Hu, K. (2017). Curcumin protects neuronal cells against status-epilepticus-induced hippocampal damage through induction of autophagy and inhibition of necroptosis. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 95(5), 501-509.

Wen, H., Fu, Z., Wei, Y., Zhang, X., Ma, L., Gu, L., & Li, J. (2018). Antioxidant activity and neuroprotective activity of stilbenoids in rat primary cortex neurons via the PI3K/Akt signalling pathway. *Molecules*, 23(9), 2328.

Wen, H., Fu, Z., Wei, Y., Zhang, X., Ma, L., Gu, L., & Li, J. (2018). Antioxidant activity and neuroprotective activity of stilbenoids in rat primary cortex neurons via the PI3K/Akt signalling pathway. *Molecules*, 23(9), 2328.

Winblad, B., Amouyel, P., Andrieu, S., Ballard, C., Brayne, C., Brodaty, H., ... & Zetterberg, H. (2016). Vaincre la maladie d'Alzheimer et d'autres démences : une priorité pour la science et la société européennes. *The Lancet Neurology* , 15 (5), 455-532.

Wong, W. (2020). Economic burden of Alzheimer disease and managed care considerations. *The American journal of managed care*, 26(8 Suppl), S177-S183.

Wu, Y.-T., Fratiglioni, L., Matthews, F. E., Lobo, A., Breteler, M. M. B., Skoog, I., & Brayne, C. (2016). Dementia in western Europe : epidemiological evidence and implications for policy making. *Lancet Neurology*, 15(1), 116–124.

Yamamoto, T., Sato, A., Takai, Y., Yoshimori, A., Umehara, M., Ogino, Y., ... & Tanuma, S. I. (2019). Effect of piceatannol-rich passion fruit seed extract on human glyoxalase I-mediated cancer cell growth. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 20, 100684.

Yamamoto, T., Sato, A., Takai, Y., Yoshimori, A., Umehara, M., Ogino, Y., ... & Tanuma, S. I. (2019). Effect of piceatannol-rich passion fruit seed extract on human glyoxalase I-mediated cancer cell growth. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 20, 100684.

Yang, W. N., Han, H., Hu, X. D., Feng, G. F., & Qian, Y. H. (2013). The effects of perindopril on cognitive impairment induced by d-galactose and aluminum trichloride via inhibition of acetylcholinesterase activity and oxidative stress. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 114, 31-36.

Yepes, A., Ochoa-Bautista, D., Murillo-Arango, W., Quintero-Saumeth, J., Bravo, K., & Osorio, E. (2021). Purple passion fruit seeds (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims) as a promising source of skin anti-aging agents: Enzymatic, antioxidant and multi-level computational studies. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(1), 102905.

Yepes, D. F. M., Arango, W. M., Rodríguez, Á. A. J., Arteaga, J. J. M., & Porras, Á. E. A. (2021). Encapsulation of phenols of gulupa seed extract using acylated rice starch: Effect on the release and antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 87, 104788.

Yi, S., Chen, S., Xiang, J., Tan, J., Huang, K., Zhang, H., ... & Wu, H. (2021). Genistein exerts a cell-protective effect via nrf2/ho-1//pi3k signaling in ab25-35-induced alzheimer's disease models in vitro. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 59(1), 49-56.

Yuliani, S., Mustofa, & Partadiredja, G. (2019). The neuroprotective effects of an ethanolic turmeric (*Curcuma longa* L.) extract against trimethyltin-induced oxidative stress in rats. *Nutritional Neuroscience*, 22(11), 797-804.

Zerrouki, Kh., Djebli, N., Esra Eroglu, O., Nurten, O., Ozhan, G., et al. 2016. Hypericum perforatum improve memory and learning in alzheimer's model: (experimental study in mice). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* ISSN- 0975-1491. Vol 8, Issue 8.

Zhang, Y. J., Zhou, T., Wang, F., Zhou, Y., Li, Y., Zhang, J. J., ... & Li, H. B. (2016). The effects of *Syzygium samarangense*, *Passiflora edulis* and *Solanum muricatum* on alcohol-induced liver injury. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(10), 1616.

Zhang, Y., Chen, J., Qiu, J., Li, Y., Wang, J., & Jiao, J. (2015). Intakes of fish and polyunsaturated fatty acids and mild-to-severe cognitive impairment risks: a dose-response meta-analysis of 21 cohort studies–3. *The American journal of clinical nutrition*, 103(2), 330-340.

Zhang, Y., Yang, X., Jin, G., Yang, X., & Zhang, Y. (2016). Polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* alleviate cognitive impairment in a rat model of Alzheimer's disease. *International journal of biological macromolecules*, 92, 935-941.

Zheng, H., & Koo, E. H. (2011). Biology and pathophysiology of the amyloid precursor protein. *Molecular neurodegeneration*, 6(1), 1-16.

Zhou, Y., Fu, Y., Yin, W., Li, J., Wang, W., Bai, F., ... & Liu, H. (2021). Kinetics-driven drug design strategy for next-generation acetylcholinesterase inhibitors to clinical candidate. *Journal of medicinal chemistry*, 64(4), 1844-1855.

Annexes

Annexe 01 : Effet de PES sur l'activité locomotrice chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 90 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 100 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Coadministration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-STD : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 1 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours.

	Moyenne de 4 phases
Témoins	149.8 ±40.13
Alz	72.4 ±19.06
Ct-ED2	104.25 ±13.05
Ct-ED1	99.8 ±23.08
Alz-ED2	168 ±12.04
Alz-ED1	169.00 ±31.30
Alz-STD	115.8 ±36.68

Annexe 02 : Effet de PES sur l'activité de curiosité chez : souris Témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 90 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 100 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Coadministration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-STD : groupe modèle alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 1 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours.

	Moyenne de 4 phases
Témoins	17±4.22
Alz	7±3.65
Ct-ED2	10.17±4.45
Ct-ED1	13.27±4.09
Alz-ED2	9.27±6.92
Alz-ED1	8.67±4.37
Alz-STD	12.4±9.33

Annexe 03 : Effet de PES sur l'activité de Double compartiment noir/blanc chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 90 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 100 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-STD : groupe modèle alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 1 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours .

	Moyenne de 4 phases
Témoins	160.65±47.31
Alz	110.95±7.40
Ct-ED2	133.44±23.25
Ct-ED1	147.65±22.07
Alz-ED2	163.15±28.68
Alz-ED1	143.45±34.60
Alz-STD	143.35±16.56

Annexe 04 : Effet de PES sur l'activité de test de labyrinthe en croix surélevée chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 90 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 100 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-STD : groupe modèle alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 1 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours.

	Moyenne de 4 phases
Témoins	142.45±27.36
Alz	178.45±33.12
Ct-ED2	138.875±21.07
Ct-ED1	134.25±21.35
Alz-ED2	127.6±19.48
Alz-ED1	147.6±17.29
Alz-STD	143.6±17.85

Annexe 05 : Effet de PES sur l'activité de test de Persolt chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 90 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 100 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 jours. ALZ-STD : groupe modèle alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 1 mg/kg par voie intragastrique, pendant 45 jours suivies d'une Co-administration d'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour le reste des 90 j

	Phase 01
Témoins	149.8±40.13
Alz	72.4±19.06
Ct-ED2	104.25±13.05
Ct-ED1	99.8±23.08
Alz-ED2	168±12.04
Alz-ED1	169.00±31.30
Alz-STD	115.8±36.68

Annexe 06 : l'effet de PES sur la mémoire spatiale de travail (MST) . a : Mémoire spatiale de travail (4 jours d'apprentissage) ; b : test de mémoire spatiale de travail (MST) ; C : Contrôle ; Alz : Souris modèle de la maladie d'Alzheimer (administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associée à du D-Gal à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) provoquée pendant 45 jours, Alz-ED2, Alz-ED1 et Alz-STD : souris modèles de la maladie d'Alzheimer traitées avec une fraction PEAS à 200, 100 mg/kg et Rivastigmine à 1 mg/kg, respectivement pendant 45 jours, suivie d'une co-administration d'AlCl₃ (100 mg/kg par voie orale associée à du D galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pendant le reste des 90 jours .

	J 1	J 2	J 3	J 4	Test
Témoins	21.4±2.07	21.6±4.34	14.4±1.95	13.8±1.30	7±3.16
Alz	18.6±6.50	19.6±3.65	17.2±4.02	15.4±2.07	14.4±1.14
Ct-ED2	20.75±1.71	14±3.74	11.5±2.38	9.75±2.22	6.75±1.71
Ct-ED1	24.2±4.76	17.2±3.56	14.4±4.04	11±2.74	8.2±1.79
Alz-ED2	22.6±1.95	15.00±2.35	15.40±2.30	10.6±1.14	8.8±1.48
Alz-ED1	19.00±7.14	13.80±3.56	13.60±4.04	11.60±2.70	10.6±2.07
Alz-STD	16.2±2.59	16.4±3.36	14±4.30	9±2.92	10.6±3.13

Annexe 07: l'effet de PES sur la mémoire spatiale de Référence (MSR) . a : Mémoire spatiale de référence (4 jours d'apprentissage) ; b : test de mémoire spatiale de référence (MSR) ; C : Contrôle ; Alz : Souris modèle de la maladie d'Alzheimer (administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associée à du D-Gal à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) provoquée pendant 45 jours, Alz-ED2, Alz-ED1 et Alz-STD : souris modèles de la maladie d'Alzheimer traitées avec une fraction PEAS à 200, 100 mg/kg et Rivastigmine à 1 mg/kg, respectivement pendant 45 jours, suivie d'une co-administration d'AlCl₃ (100 mg/kg par voie orale associée à du Dgalactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pendant le reste des 90 jours.

	J 1	J 2	J 3	J 4	Test
Témoins	24.8±5.76	43.6±7.57	52±8.09	115.8±9.52	145.8±5.50
Alz	54.8±8.07	59.2±8.32	46.4±6.88	57.6±11.08	59.4±6.88
Ct-ED2	30.25±20.37	58.75±26.04	81±37.40	32.25±13.96	95.75±43.53
Ct-ED1	53.2±8.04	52.6±9.50	85.8±10.85	81.8±33.87	99±22.47
Alz-ED2	65.8±21.11	65.00±35.49	48.40±27.40	64.6±43.70	82.6±36.40
Alz-ED1	73.00±6.67	62.00±14.78	95.80±35.56	43.60±12.74	68.6±11.33
Alz-STD	58.2±7.26	61±9.38	60±13.06	72.8±12.56	94.4±7.02

Annexe 08 : l'effet de PES sur la mémoire spatiale de Référence (MSR) . a : Mémoire spatiale de référence (4 jours d'apprentissage) ; b : test de mémoire spatiale de référence (MSR) ; C : Contrôle ; Alz : Souris modèle de la maladie d'Alzheimer (administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associée à du D-Gal à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) provoquée pendant 45 jours, Alz-ED2, Alz-ED1 et Alz-STD : souris modèles de la maladie d'Alzheimer traitées avec une fraction PEAS à 200, 100 mg/kg et Rivastigmine à 1 mg/kg, respectivement pendant 45 jours, suivie d'une co-administration d'AlCl₃ (100 mg/kg par voie orale associée à du Dgalactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pendant le reste des 90 jours .

	J 1	J 2	J 3	J 4	Test
Témoins	18.2±1.30	12.6±2.30	11±1.41	7.2±1.92	9.6±1.67
Alz	8.6±0.55	6.4±1.67	4±1.58	5.4±0.55	6.2±1.92
Ct-ED2	7.5±2.65	8.5±3.42	7.75±3.59	8±1.83	8.5±2.38
Ct-ED1	9.8±5.45	9±2.65	8.8±2.67	8.2±1.64	10.8±1.30
Alz-ED2	8.8±2.39	9.00±1.58	5.00±1.22	5.2±0.84	6.4±0.55
Alz-ED1	10.40±2.30	7.20±1.92	6.20±3.56	5.60±1.52	8.6±1.52
Alz-STD	10.6±2.30	6.6±1.67	6.8±2.17	5.8±2.17	7.2±1.10

Annexe 09 : l'effet de PES sur la mémoire spatiale de travail (Piscine de Morris) . a : Mémoire spatiale de référence (4 jours d'apprentissage) ; b : test de mémoire spatiale de référence (MSR) ; C : Contrôle ; Alz : Souris modèle de la maladie d'Alzheimer (administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associée à du D-Gal à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) provoquée pendant 45 jours, Alz-ED2, Alz-ED1 et Alz-STD : souris modèles de la maladie d'Alzheimer traitées avec une fraction PEAS à 200, 100 mg/kg et Rivastigmine à 1 mg/kg, respectivement pendant 45 jours, suivie d'une co-administration d'AlCl₃ (100 mg/kg par voie orale associée à du Dgalactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pendant le reste des 90 jours .

	J 1	J 2	J 3	J 4	Test
Témoins	16.4±1.67	12.6±2.61	12.6±1.52	5.2±2.59	4.2±3.11
Alz	10.4±3.85	28.4±7.64	16.2±5.02	12.4±0.89	7±2.24
Ct-ED2	9.25±6.50	5.75±4.27	3.25±2.63	7±2.94	1.75±0.96
Ct-ED1	15.8±1.79	6.6±2.30	6.8±2.59	6.8±4.44	2.8±1.79
Alz-ED2	18.4±7.67	13.00±3.32	8.00±6.96	2.8±1.48	2.2±0.84
Alz-ED1	19.00±3.74	2.60±8.00	7.00±7	3.80±3.80	3.8±1.64
Alz-STD	3.8±1.10	14±4.30	2.4±1.14	2.6±1.52	1.4±0.55

Annexe 10 : l'effet de PES sur la mémoire spatiale de Référence conditionnée (Piscine de Morris) . a : Mémoire spatiale de référence (4 jours d'apprentissage) ; b : test de mémoire spatiale de référence (MSR) ; C : Contrôle ; Alz : Souris modèle de la maladie d'Alzheimer (administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associée à du D-Gal à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) provoquée pendant 45 jours, Alz-ED2, Alz-ED1 et Alz-STD : souris modèles de la maladie d'Alzheimer traitées avec une fraction PEAS à 200, 100 mg/kg et Rivastigmine à 1 mg/kg, respectivement pendant 45 jours, suivie d'une co-administration d'AlCl₃ (100 mg/kg par voie orale associée à du Dgalactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pendant le reste des 90 jours .

	J 1	J 2	J 3	J 4	Test
Témoins	12±9.46	8.4±4.28	9±3.16	2±1.22	3.2±2.59
Alz	8.2±1.64	14.6±2.19	8.2±0.84	9.8±3.11	10±3.39
Ct-ED2	6.25±3.77	10.25±5.91	3.5±2.08	2±1.15	1.75±0.50
Ct-ED1	7.2±6.14	4.2±3.27	2.8±1.48	5.4±3.65	2.6±1.82
Alz-ED2	3.8±4.21	6.60±3.29	3.20±1.92	6.2±6.22	2.6±1.67
Alz-ED1	12.00±12.47	5.60±4.39	6.20±5.54	7.40±8.08	4.6±3.78
Alz-STD	7.6±4.22	6.8±5.07	7.6±9.79	6±6.89	3±2.83

l'évaluation de l'activité anti-Alzheimer en parallèle de l'extrait des graines de passiflora

Annexe 11 : Effet de PES sur l'activité locomotrice chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-STD :groupe modèle Alzheimer traité avec Donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours .

	Moyenne de 4 phases
Témoins	43.85±14.45
Alz	39.9±5.17
Ct-ED2	45.18±3.97
Ct-ED1	30.95±18.00
Alz-ED2	29.1±12.13
Alz-ED1	27.85±8.41
Alz-STD	46.45±24.84

Annexe 12 : Effet de PES sur le test de curiosité chez : souris Témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-STD :groupe modèle Alzheimer traité avec Donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours.

	Moyenne de 4 phases
Témoins	12.8±4.39
Alz	30.27±7.76
Ct-ED2	9.42±6.14
Ct-ED1	16.6±6.36
Alz-ED2	9.40±3.99
Alz-ED1	10.87±6.12
Alz-STD	18.47±6.60

Annexe 13 : Effet de PES sur le test double compartiment Noir/Blanc chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-STD :groupe modèle alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours .

	Moyenne de 4 phases
Témoins	89.88±14.45
Alz	109.12±21.59
Ct-ED2	94.35±8.08
Ct-ED1	94.61±12.72
Alz-ED2	91.78±20.66
Alz-ED1	94.52±8.00
Alz-STD	84.42±10.59

Annexe 14 : Effet de PES sur le test Labyrinthe en croix surélevée chez : souris Témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-STD :groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours.

	Moyenne de 4 phases
Témoins	142.45±15.81
Alz	192.45±10.46
Ct-ED2	131.25±23.26
Ct-ED1	143±31.56
Alz-ED2	140.7±25.96
Alz-ED1	143±31.56
Alz-STD	129.35±20.74

Annexe 15 : Effet de PES sur le test de persolt (la nage forcé) chez : souris Témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-STD :groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours .

	Phase 01
Témoins	149.8±40.13
Alz	78.8±19.25
Ct-ED2	119.5±14.20
Ct-ED1	138±35.11
Alz-ED2	181±58.11
Alz-ED1	112.60±44.03
Alz-STD	100.8±25.01

Les tests de mémoire

Annexe 16 : Effet de PES sur le test de mémoire spatial de travail (MSR) : A : représente les 4 jours d'apprentissage , B : représente le jour de test (5ème jour) ; chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-STD :groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours

	J 1	J 2	J 3	J 4	Test
Témoins	21.4±2.07	21.6±4.34	17.6±2.19	13.6±2.51	7±3.16
Alz	24±2.35	21.2±2.95	20±1.87	16±3.23	10.8±0.84
Ct-ED2	20.25±3.03	16.25±3.77	17±2.31	12.75±5.12	6.5±1.29
Ct-ED1	16.8±6.69	13±1.87	13.4±6.54	10±7.11	4.8±3.27
Alz-ED2	17.8±3.42	15.60±6.11	13.40±5.50	9.2±5.17	3±1.87
Alz-ED1	18.00±2.92	13.20±3.96	16.20±2.28	13.00±3.94	5±2.92
Alz-STD	15.4±3.85	17.8±5.26	13.8±4.60	7.8±6.18	5±5.48

Annexe 16 : Effet de PES sur le test de mémoire spatial de Référence conditionné (MSR) : A : représente les 4 jours d'apprentissage , B : représente le jour de test (5ème jour) ; chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au Dgalactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-STD :groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours.

	J 1	J 2	J 3	J 4	Test
Témoins	26.8±16.74	36.2±19.90	91.2±13.63	93.4±4.45	121.6±5.46
Alz	21.2±12.56	58.6±21.02	86.6±6.88	68±20.89	100.4±9.24
Ct-ED2	47.5±13.18	46.5±15.76	94.5±5.80	75.5±18.66	120.75±5.38
Ct-ED1	42.8±12.85	49.2±11.56	105.8±3.49	97.8±6.46	103.2±9.88
Alz-ED2	39.8±6.18	55.40±12.66	98.20±5.81	98±6.04	116.8±16.65
Alz-ED1	26.00±11.55	45.80±11.28	78.80±15.11	87.20±18.71	65.8±13.88
Alz-STD	23±11.29	28.4±16.99	78.6±9.29	98.4±7.09	112±6.60

Annexe 17 : Effet de PES sur le test de distinction de position : A : représente les 4 jours d'apprentissage , B : représente le jour de test (5ème jour) ; chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-STD :groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours.

	J 1	J 2	J 3	J 4	Test
Témoins	18.2±1.30	12.6±2.30	11±1.41	7.2±1.92	9.6±1.67
Alz	15.6±2.51	9.6±2.19	8.2±3.96	7±3.54	12.2±1.92
Ct-ED2	13.75±2.06	14±1.41	12.5±1.29	10.25±1.26	6.25±2.63
Ct-ED1	12.6±1.67	12±1.00	8.8±2.86	8.6±3.29	9±3.23
Alz-ED2	14±1.58	12.00±2.55	7.80±2.59	8±2.74	4.6±2.07
Alz-ED1	14.40±3.51	13.60±2.88	11.80±2.86	8.00±1.58	6.6±2.30
Alz-STD	12.4±1.14	13±2.92	12.2±2.17	9.2±1.92	6.8±2.17

Annexe 18 : Effet de PES sur le test de Piscine de Morris (MST) : A : représente les 4 jours d'apprentissage , B : représente le jour de test (5ème jour) ; chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-STD :groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours.

	J 1	J 2	J 3	J 4	Test
Témoins	12.4±6.36	16.4±4.95	3.2±0.00	5.2±1.41	2.6±2.83
Alz	22.4±6.36	19.2±7.78	13±0.00	13.2±1.41	7.6±2.83
Ct-ED2	18.25±7.07	11.75±7.78	5.5±1.41	6.25±2.83	5.5±0.71
Ct-ED1	14.6±0.71	16.2±1.41	4.4±2.83	5±0.00	4.4±0.71
Alz-ED2	27.2±8.49	4.80±1.41	11.80±1.41	2±0.00	3.6±0.71
Alz-ED1	25.40±2.12	7.20±1.41	7.00±5.66	5.00±7.78	5.2±0.71
Alz-STD	20.2±1.41	18±2.12	6±7.78	10.6±1.41	3.8±1.41

Annexe 18 : Effet de PES sur le test de Piscine de Morris (MSR) : A : représente les 4 jours d'apprentissage , B : représente le jour de test (5ème jour) ; chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 100 mg/kg , CT-ED2 : contrôle témoin traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis à 200 mg/kg , ALZ-ED2 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-ED1 : groupe modèle Alzheimer traité avec l'extrait des graines de passiflora edulis 200 mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours. ALZ-STD :groupe modèle Alzheimer traité avec donépézile à 1mg/kg par voie intragastrique, et l'AlCl₃ (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 70 jours

	J 1	J 2	J 3	J 4	Test
Témoins	8±3.54	8.4±2.83	9±2.12	2±0.71	3.2±3.54
Alz	9.8±4.24	11.2±3.54	8.8±1.41	9.2±0.71	16.8±4.95
Ct-ED2	6.75±0.71	4.5±0.71	7.75±0.71	3.25±3.54	1.75±0.71
Ct-ED1	10.4±1.41	3.6±0.71	6±2.83	4.4±1.41	4.8±2.12
Alz-ED2	11.6±1.41	9.00±4.95	5.80±0.71	5.4±0.71	2.8±1.41
Alz-ED1	9.40±1.41	2.80±2.83	7.60±3.54	3.20±4.24	5.2±0.71
Alz-STD	9.6±2.83	6.6±4.24	9.6±2.83	7.8±2.12	7.2±3.54

Production
Scientifique

PUBLICATIONS INTERNATIONALES

- **Mostefa, N.**, Djebli, N., Khanh, P. N., Ha, N. X., Anh, H. T. N., Ha, V. T., ... & Cuong, N. M. (2023). Anti-Alzheimer's Activity of Polyphenolic Stilbene-Rich Acetone Fraction of the Oil-Removed Seeds of *Passiflora edulis*: in Vivo and in Silico Studies. *Chemistry & Biodiversity*, 20(5), e202201051.
- Kebal, L., Pokajewicz, K., Djebli, N., **Mostefa, N.**, Poliwoda, A., & Wieczorek, P. P. (2022). HPLC-DAD profile of phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of *Ficus carica* L. fruits from two Algerian varieties. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 155, 113738.
- Kebal, L., **Mostefa, N.**, & Djebli, N. (2022). IN VIVO ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY AND POLYPHENOLIC CONTENT OF AQUEOUS AND ETHANOLIC EXTRACTS OF *FICUS CARICA* L. FRUIT. *Journal of Applied Biological Sciences*, 16(3), 418-433.

COMMUNICATIONS INTERNATIONALES

- **Mostefa nadjjet , Djebli Noureddine**

The neuro-therapeutic effect of *Passiflora edulis* against Alzheimer's disease , Experimental study in Mice IV International turikic world congress on science and engineering -Nigde Turkey . June 23-24 , 2022 .

- **Mostefa nadjjet , Djebli Noureddine**

Evaluation of the neuroprotective activity Of *Passiflora Edulis* Seeds On Alzheimer's Disease "In Vivo Study .VI. International Anatolian Agriculture, Food, Environment and Biology Congress - Kütahya, Türkiye -09 October 2022 .

COMMUNICATIONS NATIONALES

➤ **Mostefa nadjjet , Djebli Noureddine**

L'effet neuro-thérapeutique d'Anacyclique pyrthrum L , sur la maladie d'Alzheimer . 1^{er} Séminaire sur les substance naturelles , Biotechnologie et l'innovation (SNBI) -MILA -26-27 Octobre 2021 .

➤ **Mostefa nadjjet , Djebli Noureddine**

Evaluation neuro-thérapeutique de la plante Anacyclique pyrthrum L . sur la maladie d'Alzheimer (étude in vivo) 1^{er} Séminaire national de phytochimie , pharmacognosie et phytothérapie -Batna-2021 .

