



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<sup>ème</sup> 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 Nouredine	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 été fondamentale 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 DJBAOUI** 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 **Docteur Salima DOUICHENE** 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.

Je tiens également à remercier chaleureusement Madame **MEDJAHED Wahiba**, l'ingénieure de notre laboratoire "Pharmacognosie et Apy-phytothérapie", pour son attention bienveillante et son amabilité constante. Grâce à son professionnalisme exemplaire, elle a su mettre à notre disposition les conditions de travail optimales, favorisant ainsi le bon déroulement de nos investigations.

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 protège 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 oublier bien sûr les femmes de mes oncles vous savez bien que je vous aime et vous respecte beaucoup.*

### ***Mes grands-mères***

*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 vos présences 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 $\beta$ ). 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 des 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 protocoles 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 présence des métabolites secondaire, des composés phénolique qui sont intimement associée 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 ( $A\beta$ ). 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 بالاستيلين 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 وقائيين ومتوازنين ، 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'-رباعي هيدروكسي ترانس ستيلبين) (PE-1) ، بثور ب (PE-2) و (PE-3) bulrush A 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 , أستيل كولينستراز , في الجسم الحي , في السيليكو

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : la chronologie des découvertes des composés des plaques séniles et des enchevêtrements neurofibrillaires des patients atteints par la maladie d'Alzheimer .....	6
<b>Figure 2</b> : la chronologie de la maladie d'Alzheimer .....	7
<b>Figure 3</b> : Projection du nombre de personnes atteintes de trouble neurocognitif majeur dans le monde en 2050. ....	9
<b>Figure 4</b> :La MA d'origine familiale et la MA d'origine sporadique et leurs causes sous-jacentes.. ....	10
<b>Figure 5</b> : Evolution de la prévalence en fonction de l'âge et du sexe.. ....	11
<b>Figure 6</b> : Cerveau sain et cerveau atteint de la maladie d'Alzheimer .....	12
<b>Figure 7</b> : Cerveau sain et cerveau atteint de la maladie d'Alzheimer .....	13
<b>Figure 8</b> : 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
<b>Figure 9</b> : 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
<b>Figure 10</b> : les voies vers le diagnostic de la maladie Alzheimer .....	20
<b>Figure 11</b> : Infographie résumant la nature et la physiopathologie ciblée des principaux biomarqueurs de la maladie Alzheimer .....	21
<b>Figure 12</b> : Evolution de la maladie Alzheimer . ....	22
<b>Figure 13</b> : 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 .....	22
<b>Figure 14</b> :Dégradation de l'acétylcholine par l'acétylcholinestérase .....	26

<b>Figure 15:</b> Potentialisation de la transmission cholinergique par les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase .....	27
<b>Figure 16 :</b> Théorie des signatures .....	31
<b>Figure 17 :</b> Ginkgo biloba .....	33
<b>Figure 18 :</b> Camellia sinensis .....	34
<b>Figure 19:</b> Huperzia serrata .....	35
<b>Figure 20:</b> Curcuma longa .....	36
<b>Figure 21:</b> Morphologie du fruit de la passion pourpre <i>Passiflora edulis</i> f. <i>edulis</i> . .....	38
<b>Figure 22 :</b> 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
<b>Figure 23:</b> 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
<b>Figure 24 :</b> Courbes d'étalonnages: A: Acide gallique, B: Quercétine, C: Catéchine .....	57
<b>Figure 25 :</b> 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).....	58
<b>Figure 26 :</b> 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) .....	59
<b>Figure 27 :</b> 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).....	60
<b>Figure 28 :</b> 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).....	61
<b>Figure 29 :</b> 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
<b>Figure 30 :</b> Structures chimiques de 3 composés PE1-3 détectés par HPLC-HR-ESI-MS.....	63
<b>Figure 31 :</b> Spectre HR-ESI-MS du trans-piceatannol (TR= 8,7 min.).....	64
<b>Figure 32 :</b> Spectre HR-ESI-MS de la scirpusine B (TR= 10,2 min.) .....	65
<b>Figure 33 :</b> Spectre HR-ESI-MS de la scirpusine A (TR= 11,0 min.) .....	66
<b>Figure 34 :</b> Structures des stilbènes à partir des graines de <i>P. edulis</i> et les ligands natifs AChE et BChE. ....	67

<b>Figure 35</b> : 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 : $\pi$ -empilable et violet : $-\sigma\pi\pi$ .....	69
<b>Figure 36</b> : 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 : $\pi$ -empilement ; et orange : -cation. ....	70
<b>Figure 37</b> : Structure chimique du radical DPPH <sup>•</sup> et de sa forme réduite.....	83
<b>Figure 38</b> : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe (III)-TPTZ et un antioxydant (AH). ....	84
<b>Figure 39</b> : Formation et piégeage du radical ABTS <sup>•+</sup> par un antioxydant donneur de H. [Marc et al., 2004].....	85
<b>Figure 40</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la détermination de la capacité antioxydante de Passiflora edulis. ....	88
<b>Figure 41</b> : Courbe d'étalonnage de Trolox pour la détermination de la capacité antioxydante de Passiflora edulis.....	89
<b>Figure 42</b> : Courbe d'étalonnage du sulfate ferreux heptahydraté (FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O).....	90
<b>Figure 43</b> : Réaction colorimétrique d'Ellman.....	97
<b>Figure 44</b> : pourcentage d'inhibition de l'acétylcholinestérase de galanthamine.....	99
<b>Figure 45</b> : Effet de PES sur l'activité locomotrice.....	111
<b>Figure 46</b> : Effet de PES sur l'activité de curiosité .....	113
<b>Figure 47</b> : Effet de PES sur l'activité de Double compartiment noir/blanc.....	114
<b>Figure 48</b> : Effet de PES sur l'activité de test de labyrinthe en croix surélevée .....	116
<b>Figure 49</b> : Effet de PES sur l'activité de test de Persolt .....	117
<b>Figure 50</b> : 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) .....	118

<b>Figure 51 :</b> 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)....	119
<b>Figure 52 :</b> 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).....	120
<b>Figure 53 :</b> 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) .....	121
<b>Figure 54 :</b> 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) .....	122
<b>Figure 55 :</b> Effet de PES sur l'activité locomotrice .....	124
<b>Figure 56 :</b> Effet de PES sur le test de curiosité .....	125
<b>Figure 57 :</b> Effet de PES sur le test double compartiment Noir/Blanc.....	126
<b>Figure 58 :</b> Effet de PES sur le test Labyrinthe en croix surélevée .....	127
<b>Figure 59 :</b> Effet de PES sur l'activité de test de Persolt .....	128
<b>Figure 60 :</b> 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 ) .....	130
<b>Figure 61 :</b> 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 ) .....	131
<b>Figure 62 :</b> 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 ) .....	132
<b>Figure 63 :</b> 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 ) .....	133
<b>Figure 64 :</b> 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 ) .....	134
<b>Figure 65 :</b> 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.....	136
<b>Figure 66 :</b> photomicrographie du cortex cérébral des 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 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. ....	137

<b>Figure 67</b> : photomicrographie cortex cérébral du 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 avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500µm, 250 µm, 100 µm (A, B, C/D) respectivement.....	138
<b>Figure 68</b> : 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 du 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.....	139
<b>Figure 69</b> : 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 .....	140
<b>Figure 70</b> : 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.....	142
<b>Figure 71</b> : 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 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 . .....	143
<b>Figure 72</b> : 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 .....	144
<b>Figure 73</b> : 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.....	145

<b>Figure 74</b> : 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.....	146
<b>Figure 75</b> : 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 et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 250 µm, 100 µm. ....	148
<b>Figure 76</b> : 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 <i>Passiflora edulis</i> 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 .....	149
<b>Figure 77</b> : Activité inhibitrice de l'AChE (%) chez les souris.....	160
<b>Figure 78</b> : Marquage immunohistochimique du cerveau par anticorps anti-beta amyloïdes.Grossissement X10. Barres d'échelle : 50 µm.....	168
<b>Figure 79</b> : Marquage immunohistochimique du cerveau par Tio flavine TSh Grossissement X10. Barres d'échelle : 50 µm. ....	169

### *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1</b> : le profil des acides gras des graines de <i>Passiflora edulis</i> .....	42
<b>Tableau 2</b> : les compositions nutritives des graines de <i>Passiflora edulis</i> .....	43
<b>Tableau 3</b> : le profil des acides phénolique des graines de <i>Passiflora edulis</i> .....	44
<b>Tableau 4</b> :le profil des flavonoïdes des graines de <i>Passiflora edulis</i> .....	45
<b>Tableau 5</b> : le profil des stilbènes des graines de <i>Passiflora edulis</i> .....	46
<b>Tableau 6</b> : Composés de stilbène de la fraction de graine de <i>P. edulis</i> (PEAS) identifiés par l'analyse HPLC-DAD-MS .....	63
<b>Tableau 7</b> : Amarrage moléculaire des composés PE-1–5 avec AchE. ....	71
<b>Tableau 8</b> : Amarrage moléculaire des composés PE-1–5 avec BChE.....	72
<b>Tableau 9</b> : Résultats de test de toxicité après 14 jours d'observation .....	98
<b>Tableau 10</b> : Effets sur le comportement animal de la fraction acétone riche en stilbène des graines de <i>P. edulis</i> (PEAS) éliminées de l'huile.....	110

## *Liste des abréviations*

Abs : Absorbance

ABS : site de liaison anionique

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6- sulfonique

Ach : Acétylcholine

AchE : Acétylcholinestérase

ADC2 : Chambre de développement automatique 2

ADI : Maladie d'Alzheimer internationale

AlCl<sub>3</sub> : Trichlorure d'aluminium

ALZ : Alzheimer

APP : protéine précurseur de l'amyloïde ou amyloïde precursor protein en anglais

ASNM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

ATCI : Acétylthiocholine iodide

ATS4 : Échantillonneur automatique TLC

A $\beta$  : Bêta-amyloïde

BChE : Butyrylcholinestérase

BSA : Bovin sérum albumine

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

FeCl<sub>3</sub> : 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

FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O : 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

IC<sub>50</sub> : 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 sirtuine

SN : surnageant

TEAC : Trolox équivalent antioxydant capacité

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 DES MATIERES**

<b>Introduction générale</b> .....	<b>1</b>
------------------------------------	----------

### **Partie I : Synthèse bibliographique**

#### **Chapitre I : Maladie d'Alzheimer**

I.1.Généralité .....	4
I.2.Histoire de la maladie d'Alzheimer : .....	5
I.3.Les données épidémiologique de la maladie d'Alzheimer.....	7
I.4.Les formes de la maladie d'Alzheimer : .....	9
I.4.1.la forme sporadique .....	10
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 .....	16
I.6.1. Trouble de mémoire.....	17
I.6.2. Troubles cognitifs .....	17
I.6.3. Trouble psycho-comportementaux .....	17
I.7. Les biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer de la maladie d'Alzheimer .....	18
I.7.1. Dans LCR .....	18
I.7.2. Dans le sang .....	19
I.7.3.IRM Morphologie.....	19
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.9.2. Les facteurs protecteurs de la maladie 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.6.1. Conseils hygiéno-diététiques : .....	30
II.6.2. La phytothérapie.....	33

## **Chapitre III : *Passiflora edulis***

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 nutritives .....	41
III.5.2. Les compositions phénoliques .....	43
III.6. les propriétés pharmacologiques de <i>Passiflora edulis</i> :.....	47
III.6.1. L'activité antioxydante : .....	47
III.6.2. Effet sur la peau .....	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 II : 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.3.2.Chromatographie liquide à haute performance HPLC-DAD-MS .....	53
I.4.Amarrage moléculaire (Docking).....	54
<b>I.5.Résultats</b> .....	56
I.5.1.Résultats des analyse phytochimique .....	56
I.5.2.Les résultats de la chromatographie sur couche mince à haute performance (HPTLC) .....	58
I.5.3.Détermination des composés phénoliques à l'aide de l'analyse HPLC-DAD-MS ..	62
I.5.4.Amarrage moléculaire .....	67
<b>I.6.Discussion</b> .....	73
<b>I.7.L'évaluation des activités Biologique</b> .....	83
<b>I.7.1.Détermination de l'activité antioxydante</b> .....	83
<b>I.7.1.1. Matériels et méthode</b> .....	83
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).....	83
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 .....	84
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) .....	85
<b>I.7.1.2. Résultats</b> .....	87
I.7.1.2.1. Test de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) .....	88
I.7.1.2.2. Activité de piégeage vers l'ABTS*+ .....	89
I.7.1.2.3. Détermination du pouvoir antioxydant du Fer.....	89
<b>I.7.1.3. Discussion</b> .....	91

I.7.2.Détermination d'activités anti-Alzheimer via l'inhibition de l'acétylcholinestérase	97
<b>I.7.2.1.Résultats</b>	96
<b>I.7.2.2.Discussion</b>	96
<b>Chapitre II : Etude <i>in vivo</i></b>	
<b>II.1. Matériel animal</b>	96
II.2.Test de toxicité	96
II.2.1.Principe	96
II.2.2.Protocole	97
<b>II.2.3.Résultats</b>	98
<b>II.2.4.Discussion</b>	98
II.3.Evaluation des activités biologiques <i>in vivo</i>	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 neurologiques	102
II.4.1.Tests de comportement neurologiques	102
II.4.2.Tests de mémoire	104
II.5.Etude histologique	106
II.5.1.Fixation	106
II.5.2.Macroscopie	106
II.5.3.Imprégnation (circulation)	107
II.5.4. Inclusion	107
II.5.5.Microtomie	107
II.5.6.Montage	109
II.5.7.Lecture microscopique	109
II.6.Analyse statistique	109
<b>II.7.Résultats</b>	110
II.7.1.Résultat de l'évaluation de l'activité neuroprotectrice de l'extrait des graines de <i>Passiflora edulis</i>	110
II.7.2.Résultats de l'évaluation de l'activité anti-Alzheimer en parallèle de l'extrait des graines de <i>passiflora edulis</i>	123
II.7.2.Les résultats de l'étude histologique	135
<b>II.7.3.Discussion</b>	150
II.8.Dosage de l'acétylcholinestérase <i>in vivo</i>	159

II.8.1.Préparation de l'homogénat : .....	159
II.8.2.Le dosage de l'acétylcholinestérase : .....	159
<b>II.8.3.Les Résultats</b> .....	<b>160</b>
II.9.Immunohistochimie fluorescente par l'anticorps « anti-beta amyloïdes » .....	163
II.9.1.Préparation des lames en silane.....	163
II.9.2.Protocole.....	163
II.10.Immunohistochimie des plaques amyloïdes par la Thio flavine (ThS) : .....	165
II.10.1.Principe : .....	165
II.10.2.Protocole.....	166
II.10.3.Le montage des coupes avec DAPI .....	166
<b>II.11.Résultats</b> .....	166
II.11.1.Immunohistochimie fluorescente par l'anticorps « anti-beta amyloïdes ».....	167
II.11.2.Immunohistochimie des plaques amyloïdes par la Thio flavine (ThS) :.....	167
<b>II.12.Discussion</b> .....	170
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	172
<b>Références bibliographique</b> .....	177

# *Introduction générale*

De nos jours, une multitude de maladies diverses s'implantent au sein de la communauté, engendrant de lourdes répercussions socio-économiques. Le cancer, le diabète, les affections cardiovasculaires et neurologiques figurent parmi les préoccupations majeures de la communauté scientifique, qui oriente ses efforts vers l'exploration des traitements disponibles dans les pratiques médicales actuelles.

L'analyse approfondie des étiologies de diverses pathologies nous a permis de mettre en exergue une condition fondamentale : la maladie d'Alzheimer. Il s'agit d'une affection répandue et dévastatrice, caractérisée par l'accumulation extracellulaire de plaques bêta-amyloïdes (A $\beta$ ) et l'enchevêtrement intracellulaire de protéines Tau, ainsi que par la perte de synapses, qui constituent des caractéristiques pathologiques emblématiques de cette maladie.

**[Venugopalan, J et al.,2021 ; Graff-Radford, J et al., 2021].**

La maladie d'Alzheimer est une affection neurodégénérative progressive et irréversible, étroitement liée au vieillissement. Elle se caractérise par une perte de mémoire sévère, des comportements inaccoutumés, des changements de personnalité ainsi qu'un déclin marqué des capacités mnésiques. Cette maladie dévaste irrémédiablement les cellules cérébrales essentielles, entraînant ainsi des difficultés majeures en termes de mémoire, de cognition et de conduite. **[Ju, Y., & Tam, K. Y. 2022].**

D'après les données du Rapport mondial sur la maladie d'Alzheimer 2022, environ 50 millions de personnes dans le monde sont actuellement aux prises avec cette affection neurodégénérative et des pathologies connexes, dont près des trois quarts demeurent malheureusement non diagnostiqués **[Gauthier, S et al., 2022]**. Outre son impact néfaste considérable sur la qualité de vie des patients, la maladie d'Alzheimer engendre également un lourd fardeau économique, susceptible d'excéder les 1 000 milliards de dollars d'ici 2050 **[Wong, W. 2020]**.

Bien que notre compréhension approfondie des étiologies de la maladie d'Alzheimer se soit nettement étoffée au fil des années, aucun traitement médicamenteux capable d'enrayer sa progression n'a jusqu'à présent été mis au point. À cet égard, les options thérapeutiques actuelles n'offrent qu'un soulagement symptomatique minime, voire exacerbent parfois le dysfonctionnement cognitif avec divers effets indésirables, sans parvenir à freiner l'évolution inexorable de cette affection dévastatrice.

Historiquement, les inhibiteurs de la cholinestérase et les antagonistes des récepteurs du glutamate ont représenté les principaux traitements standardisés de la maladie d'Alzheimer. Bien que ces interventions apportent un certain soulagement symptomatique, elles demeurent dans l'incapacité de guérir et/ou de ralentir la progression de cette maladie dévastatrice.

[Cao, S. Q et al., 2022].

Il existe par conséquent un besoin criant de développer de nouvelles pistes thérapeutiques issues de ressources végétales, susceptibles de contrer efficacement la maladie d'Alzheimer avec peu, voire sans, d'effets secondaires indésirables.

De fait, les produits naturels provenant de plantes médicinales sont utilisés depuis des lustres pour le traitement de divers troubles cognitifs tels que l'amnésie, la démence, la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson. Nombre d'études ont en outre démontré le potentiel des plantes médicinales dans la prise en charge thérapeutique de la maladie d'Alzheimer.

La *Passiflora edulis*, plus communément appelée fruit de la passion, est largement répandue dans les régions tropicales et subtropicales du monde. Cette plante suscite un intérêt croissant en raison de sa composition nutritionnelle équilibrée et de ses bienfaits avérés pour la santé. À ce jour, plus d'une centaine de constituants phytochimiques distincts ont été identifiés dans les différentes parties de la *Passiflora edulis*, parmi lesquels les flavonoïdes et les triterpénoïdes représentent les composés majoritaires.

Divers extraits, jus de fruits et molécules isolées issus de cette plante ont démontré un large éventail d'effets bénéfiques sur la santé, ainsi qu'une palette d'activités biologiques remarquables, notamment des propriétés antioxydantes, antihypertensives, antitumorales, antidiabétiques et hypolipémiantes.

Dans le cadre de la présente étude, nous mettons en évidence le potentiel protecteur de l'extrait acétonique des graines de *Passiflora edulis* à l'encontre de la neurotoxicité induite par l'administration combinée de chlorure d'aluminium et de D-galactose chez des souris de la souche NMRI, constituant un modèle animal de la maladie d'Alzheimer.

Ce manuscrit s'articule autour de deux parties essentielles : une synthèse bibliographique suivie d'une partie expérimentale.

La première partie se décline en trois chapitres distincts :

Le Chapitre I dresse un état des lieux bibliographique sur la maladie d'Alzheimer.

Le Chapitre II est consacré aux traitements synthétiques et naturels contre cette pathologie. Enfin, le Chapitre III fournit une description générale de la *Passiflora edulis*, en abordant ses caractéristiques botaniques, sa systématique, sa répartition géographique ainsi que quelques-unes de ses utilisations en pharmacologie.

La seconde partie, de nature expérimentale, se compose quant à elle de deux chapitres distincts. Le premier chapitre *in vitro* comporte :

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

L'évaluation d'activités biologiques (activités antioxydante et anticholinestérase)

Le second chapitre *in vivo* vise à évaluer les effets neuroprotecteurs de la *Passiflora edulis*, à travers deux protocoles distincts (parallèle et neuroprotecteur). Il inclut également la détermination de l'activité anticholinestérase ainsi que des analyses immunohistochimiques par fluorescence anti-bêta amyloïdes et Thio-flavine S.

Cette seconde phase de l'étude a été étayée par des analyses statistiques approfondies et des examens histologiques détaillés, avant d'être approfondie par des échanges instructifs.

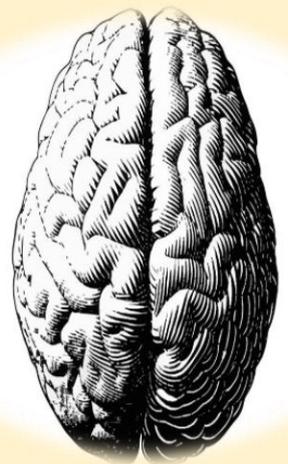
Pour finaliser ce projet de recherche, une conclusion générale a été formulée, accompagnée de perspectives stimulantes visant à prolonger ces travaux. Les résultats statistiques et histologiques ont ainsi permis de solidifier les observations, tandis que les discussions enrichissantes ont contribué à donner une vision d'ensemble cohérente à cette étude. La rédaction d'une conclusion substantielle, assortie d'axes de recherche futurs prometteurs, a permis de parachever avec succès cette présente investigation.

# *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. 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. 1998b ; 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 $\beta$ ) [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].

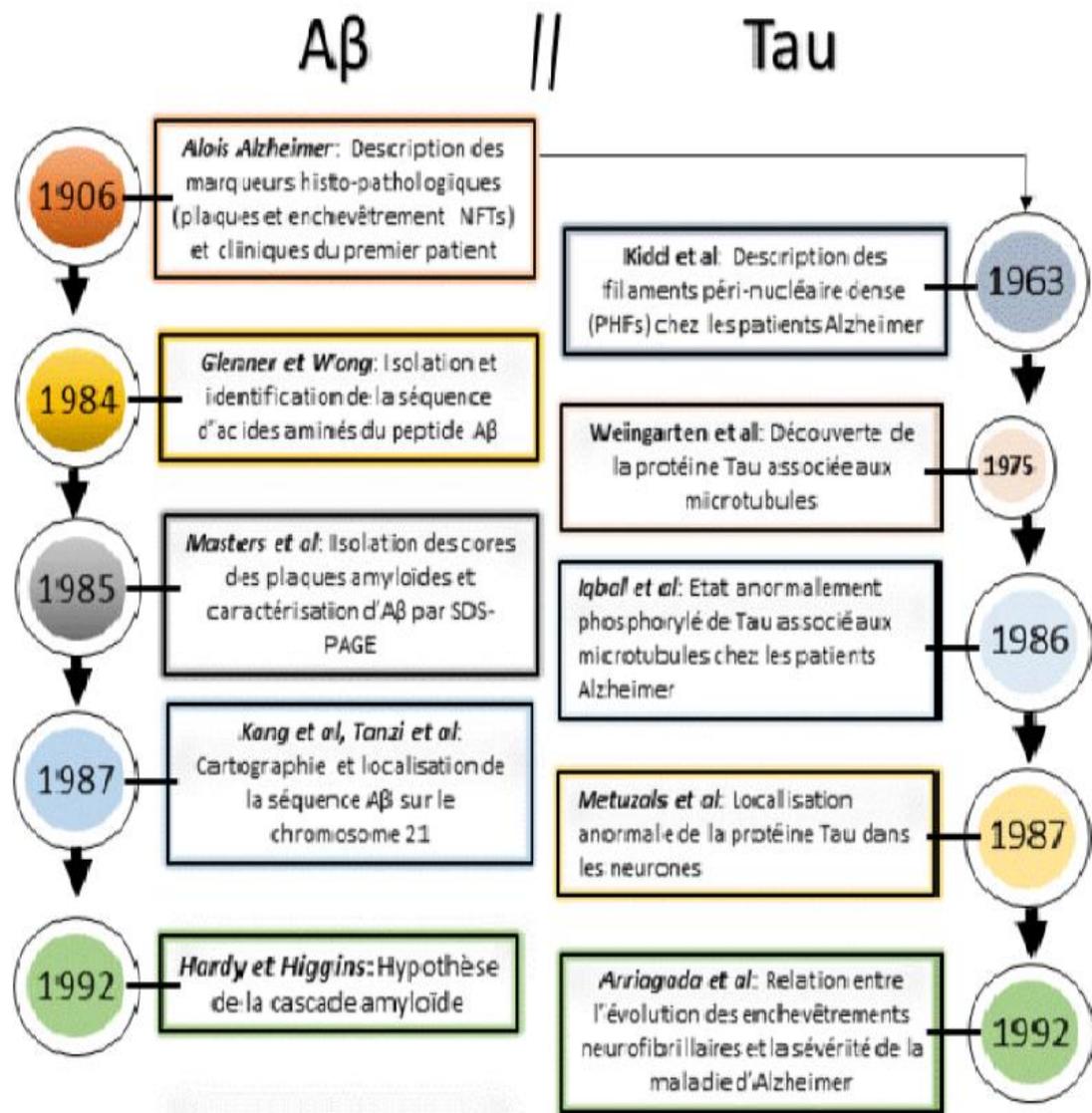
**I.2.Histoire de la maladie d'Alzheimer**

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)

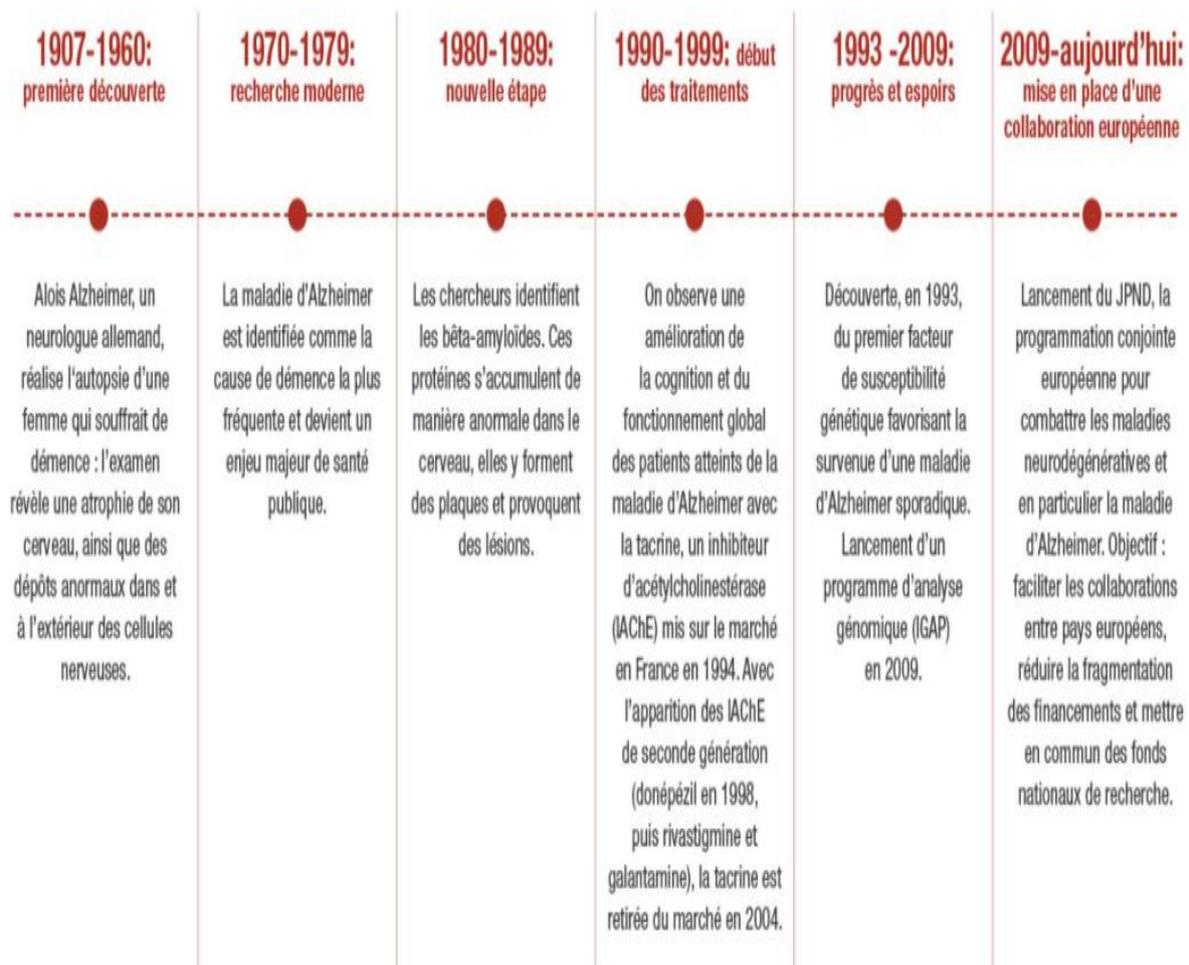
Ces résultats ont été présenté à la 37ème conférence des psychiatres allemands à Tübingen avec sous-titre « On the peculiar disease process of the cerebral cortex » et a permis la publication en 1910 dans le laboratoire du Dr Kraepelin, du premier article intitulé « Clinically and histologically peculiar 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 1** : 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 2** : la chronologie de la maladie d'Alzheimer selon [Leclerc, F. 2022].

### I.3. Les données épidémiologique 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.

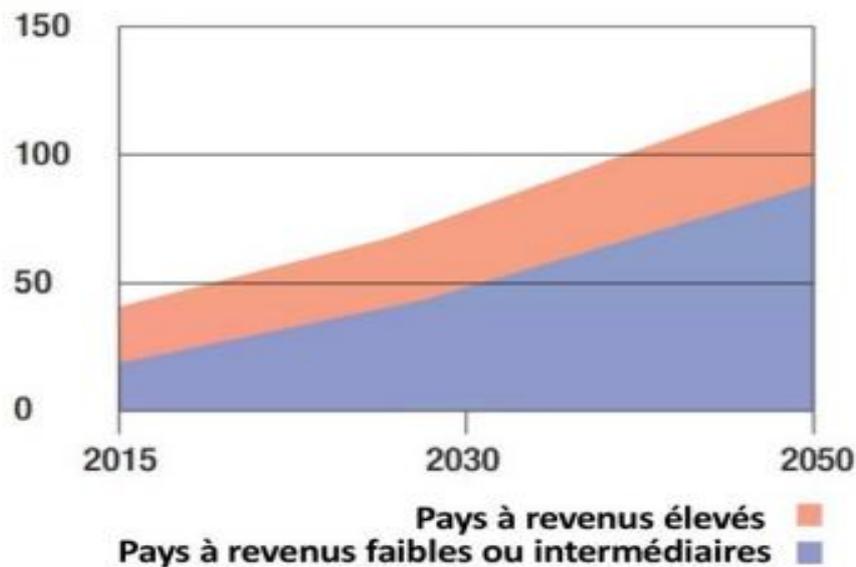
Dans les pays les plus développés. Ces chiffres devraient continuer d'augmenter dans les années à venir. L'organisation mondiale de la santé a estimé que le nombre de nouveaux cas de démence à 10 millions chaque année, avec une prédominance pour la maladie d'Alzheimer [World Health Organization . 2017].

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**].

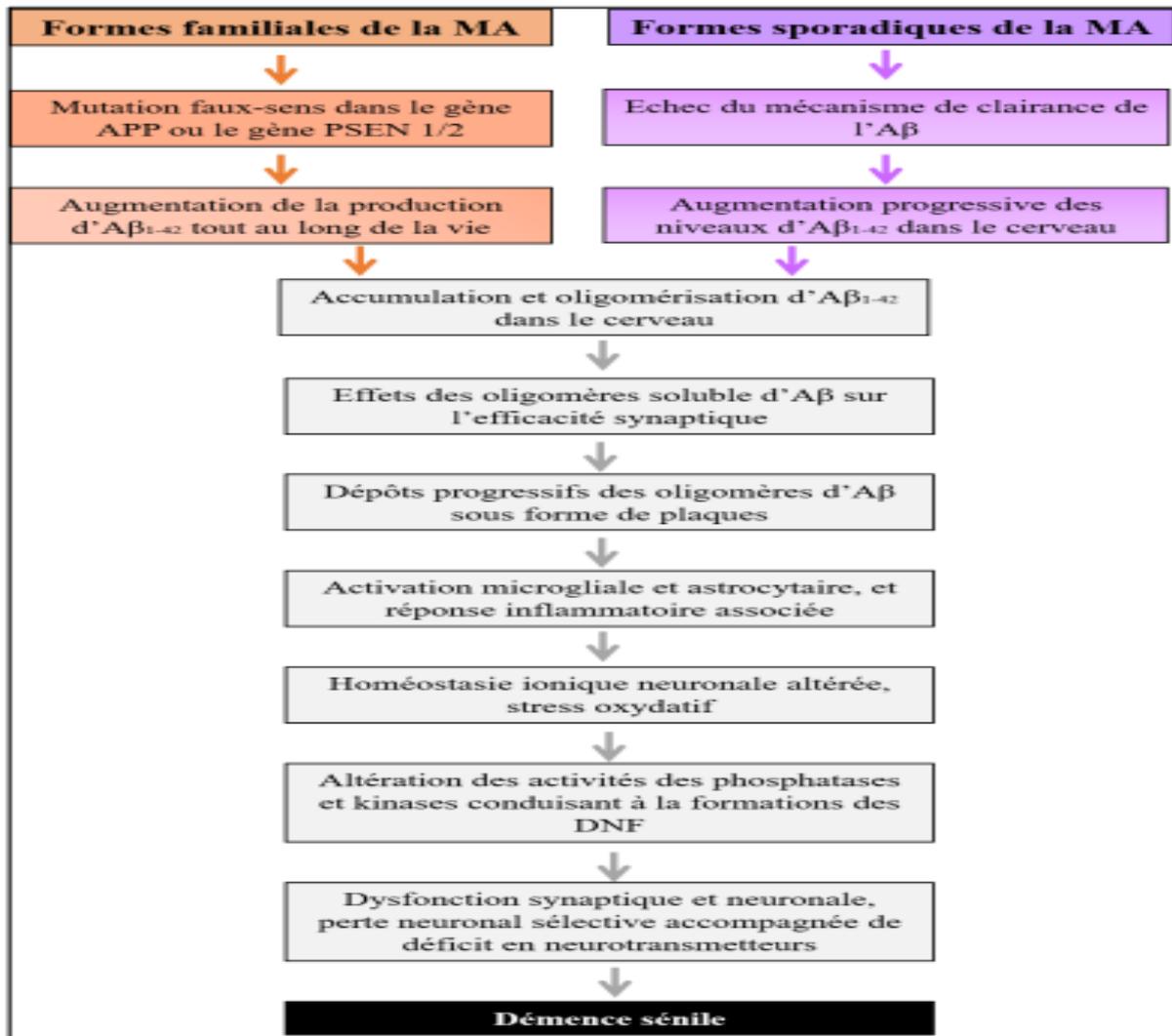
Alors que le vieillissement de la population s'accompagne d'une augmentation du nombre de troubles neurocognitifs majeurs, plusieurs études font état d'une diminution de sa prévalence et/ou de son incidence en Europe, en particulier chez les femmes (**Grasset et al., 2016 ; Schrijvers et al., 2012 ; 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 3:** 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 $\beta$ , entraînant une mort neuronale importante [Qiu et al., 2015].



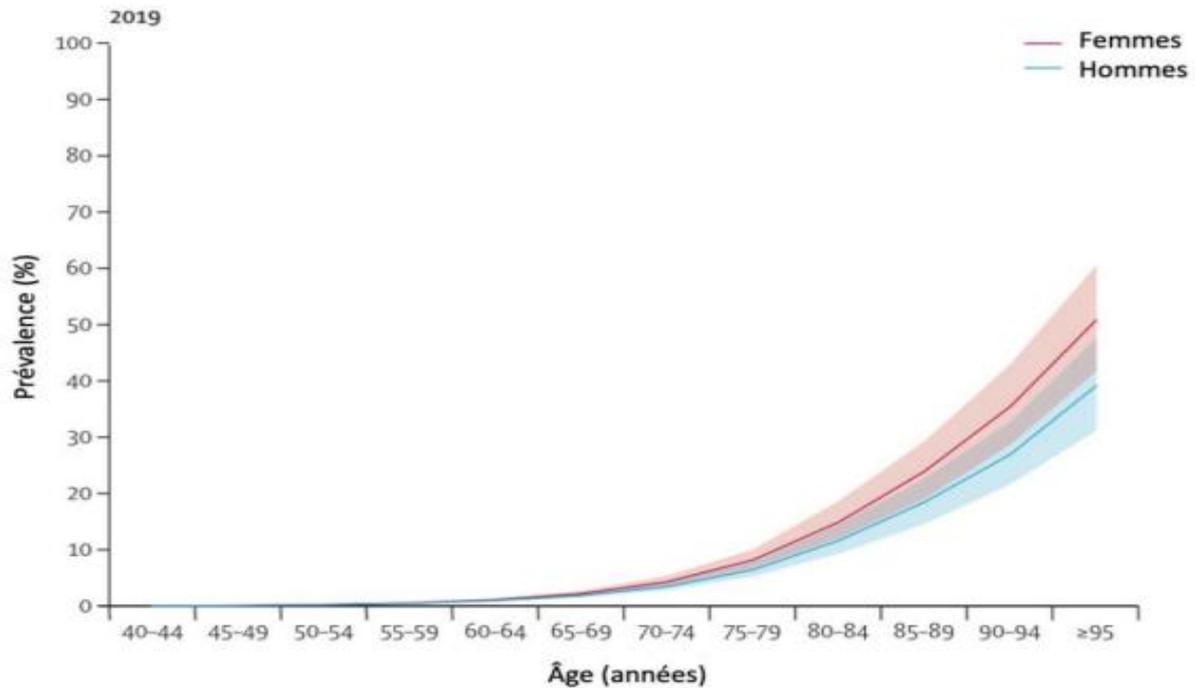
**Figure 04** : La MA d'origine familiale et la MA d'origine sporadique et leurs causes sous-jacentes. [Selkoe, D.J., Hardy, J., 2016].

#### 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 5** : 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).

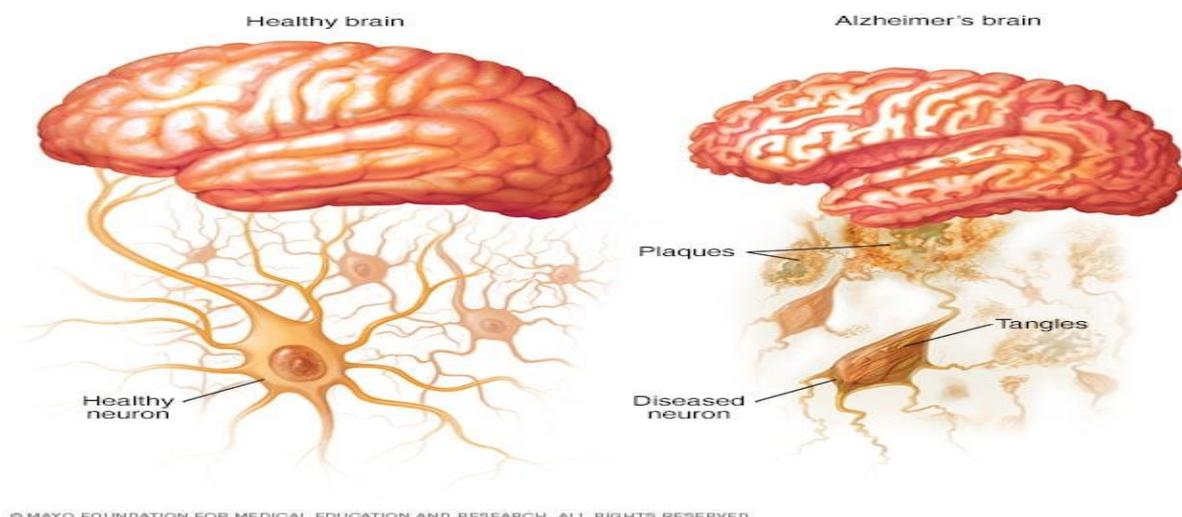
Des mutations transmises selon un mode autosomique dominant ont été mises en évidence : si un des parents a le gène défectueux, cela suffit pour transmettre ce gène à l'enfant et permettre à la maladie d'Alzheimer de se manifester.

Les mutations de ces gènes conduisent de façon directe ou indirecte à une augmentation de la production de peptide  $\beta$  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].

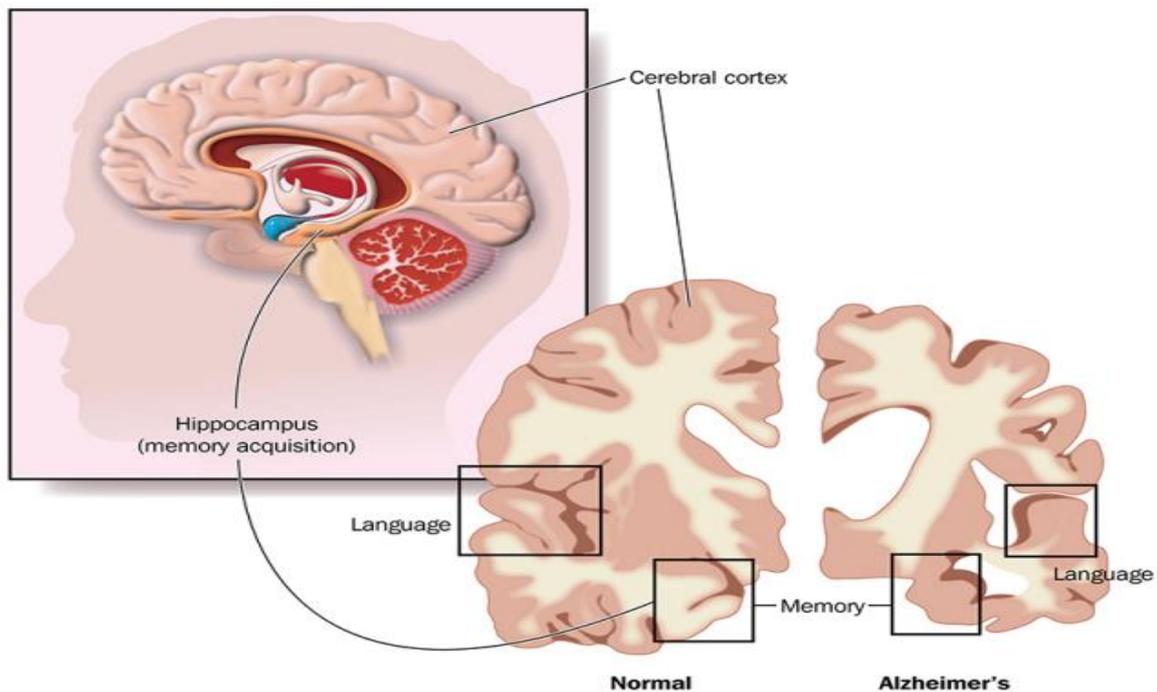
## I.5. Neuropathologie de la maladie d'Alzheimer

### 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 6 :** Cerveau sain et cerveau atteint de la maladie d'Alzheimer (anonyme)



**Figure 7 :** 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 [Frändemichie 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].

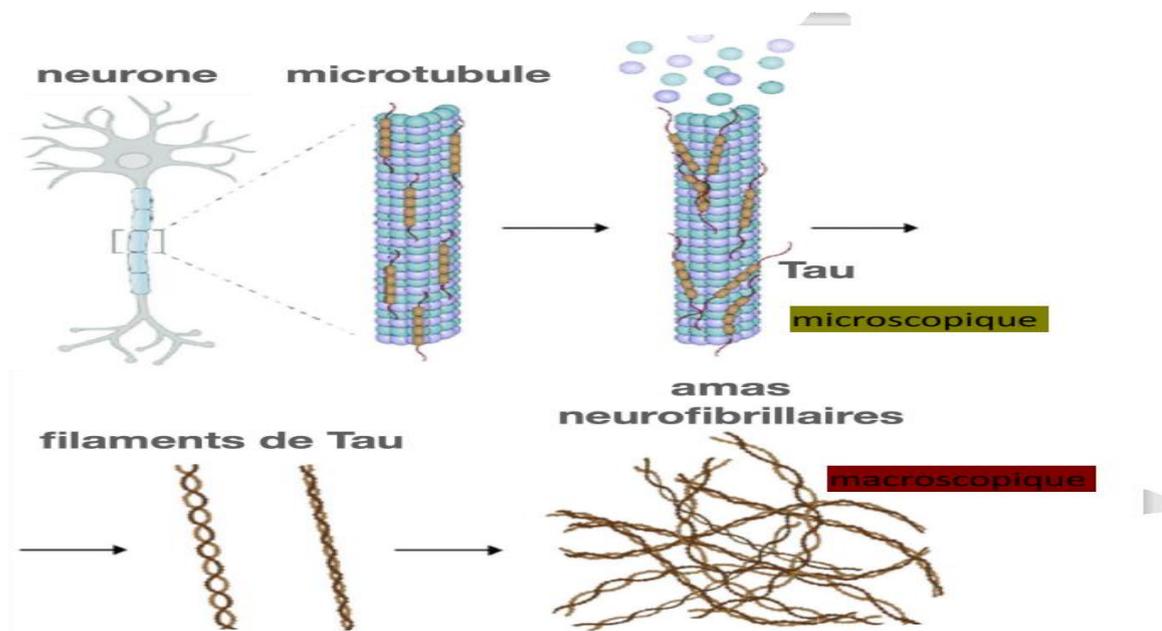
Dans la maladie d'Alzheimer l'accumulation interneuronale d'agrégat de tau insoluble sous forme de filament sous-tendent la formation d'enchevêtrement neurofibrillaire [Wang and Mandelkow, 2016 ; Goedert and Spillantini, 2019], qui sont localisées dans les corps cellulaires des neurones et sont composées 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, le 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 8** : 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 $\beta$  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 $\beta$  due à des mutations génétiques dans la MA familiale (FAD)

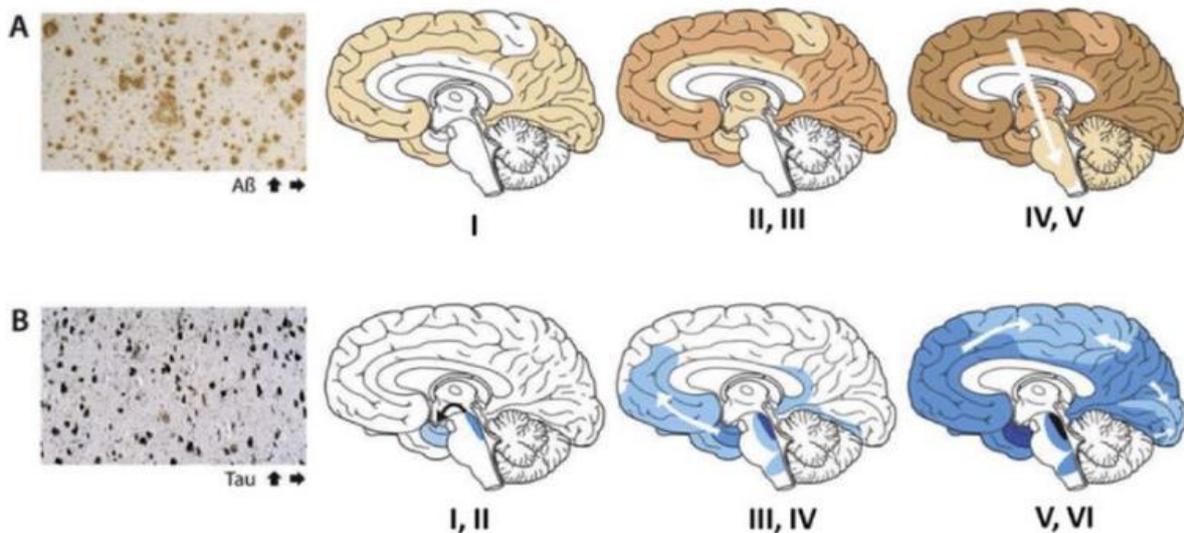
[Selkoe et Hardy. 2016]. Le clivage enzymatique d'APP (protéine précurseur de l'amyloïde ou amyloïde precursor protein en anglais) est responsable de l'accumulation de dépôts amyloïdes à la fois au niveau intra et extracellulaire, [Dugger BN, Dickson DW., 2017]

Les peptides A $\beta$  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 $\beta$  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 [Spires-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  $\alpha$ -sécrétase. Cette voie, qui est la plus fréquente, ne produit pas de peptide A $\beta$ 42.
- ❖ Une voie catabolique amyloïdogénique, caractérisée par un clivage successif par l'enzyme  $\beta$ -sécrétase puis par la  $\gamma$ -sécrétase. Ce double clivage entraîne la production de peptides solubles A $\beta$ .



**Figure 9** : 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 lésions 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 apparus 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 apparaissent 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 nouvelles informations, 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 correspondent à l'impossibilité de réaliser des gestes sans qu'il y ait de trouble des moteurs ou articulaires ni de paralysie.

#### **I.6.2.3. Trouble de la reconnaissance : agnosie**

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 $\beta$ 1-40, A $\beta$ 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 $\beta$ 42 est plus faible dans le cas de la maladie d'Alzheimer, l'utilisation du ratio des concentration en protéine A $\beta$ 42/ A $\beta$ 40 pourrait être un meilleur biomarqueur de la neuropathologie de type Alzheimer que la concentration en protéine A $\beta$ 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 $\beta$ 42, consiste le fragment d'A $\beta$  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

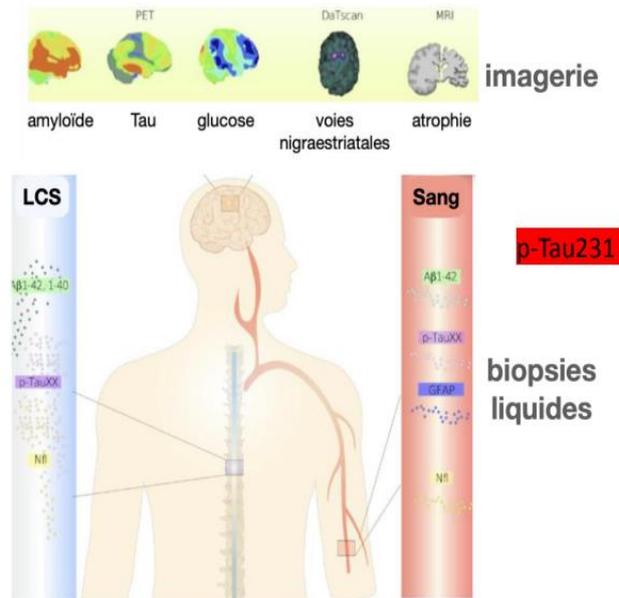
Le développement de biomarqueurs sanguins amyloïde et tau est en cours. Le dosage sanguin de la phospho-tau 217, en particulier, paraît prometteur et serait relativement spécifique de la maladie d'Alzheimer par rapport à d'autres types de démences, dans des cohortes de patients très bien caractérisés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

### **I.7.3.IRM Morphologie**

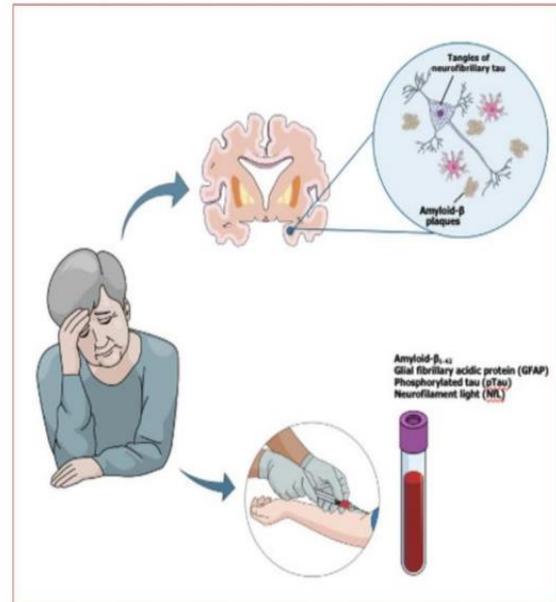
L'IRM encéphalique permet d'éliminer des diagnostics différentiels de MA. Elle permet d'avoir une estimation de l'atrophie corticale dans les régions atteintes par la MA telles que les structures temporales internes, notamment l'hippocampe, aussi les régions temporo-pariétales. Ces régions s'atrophient 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].

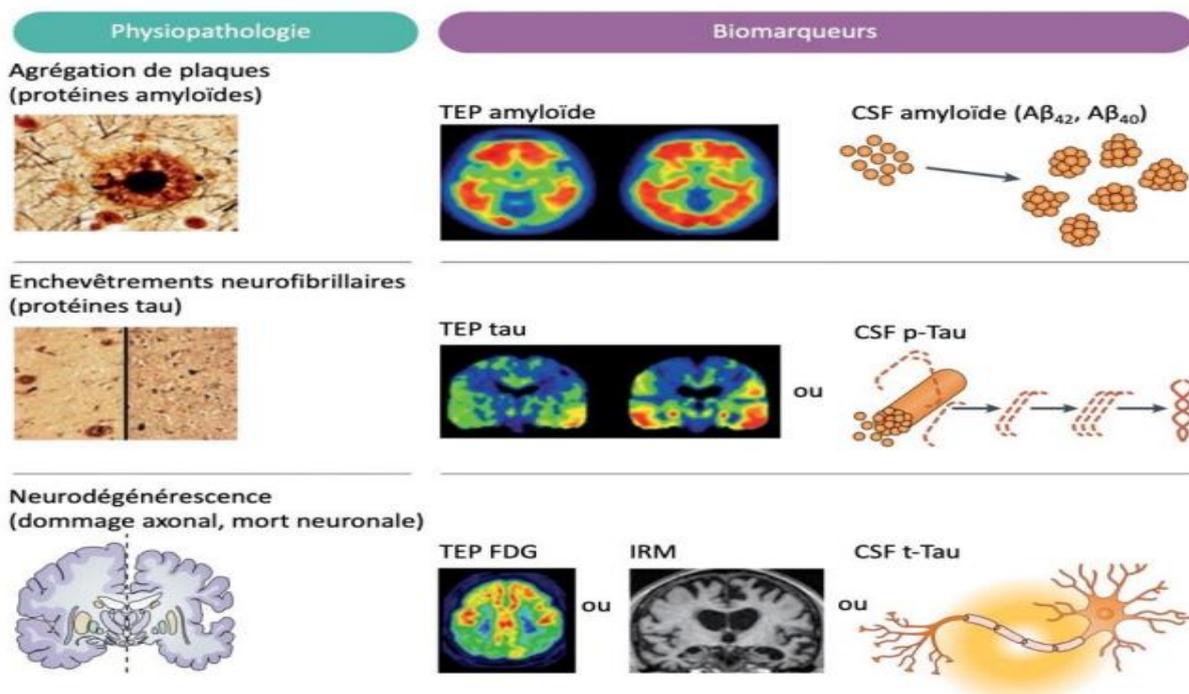
### Les biomarqueurs et leur détection



### tests sanguins



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

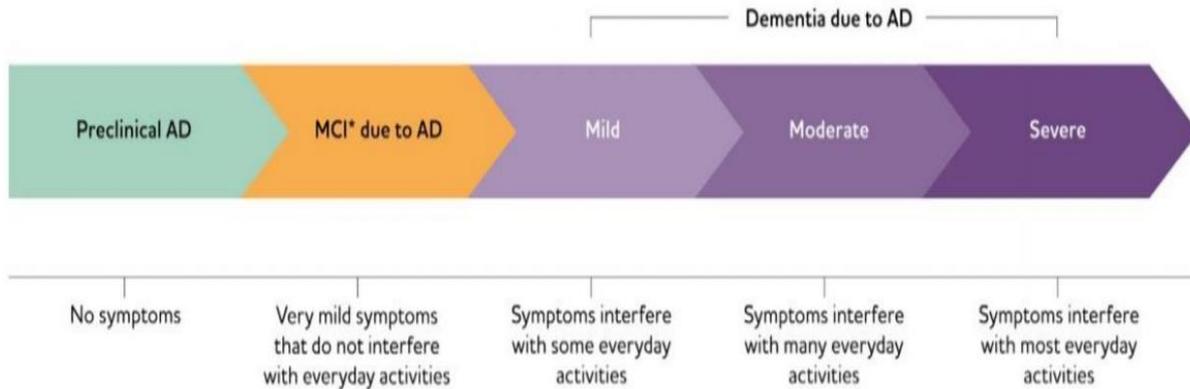


**Figure 11** : Infographie résumant la nature et la physiopathologie ciblée des principaux biomarqueurs de la maladie Alzheimer [Hampel et al., 2021].

### 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.

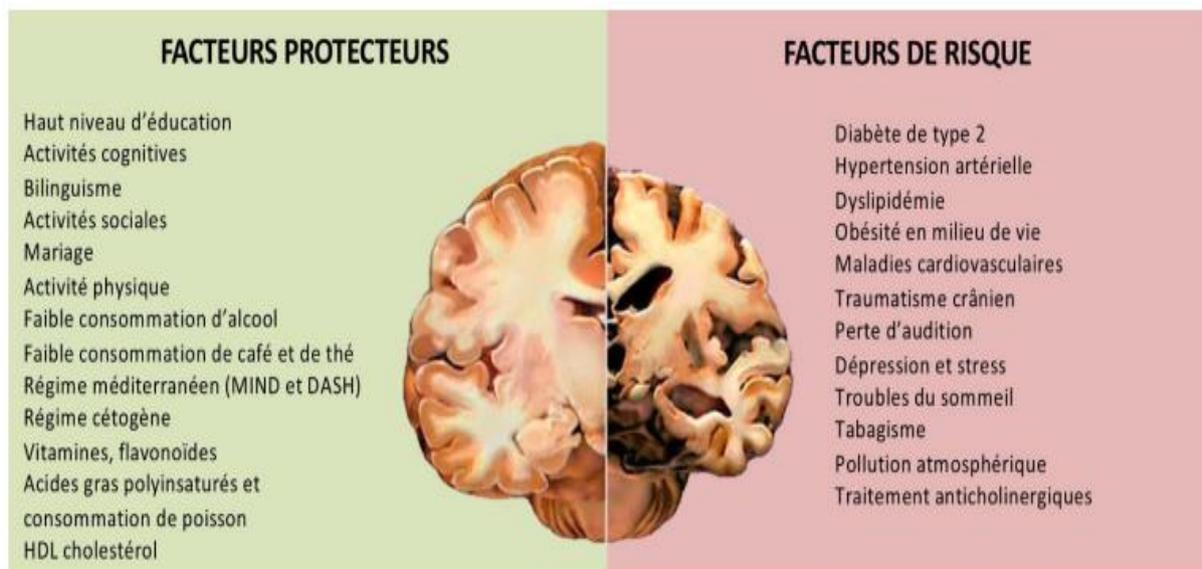
La MA est ainsi classée selon 3 stades : faible ; modérée ; sévère



**Figure 12** : Evolution de la maladie 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 (Figure13).



**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., 2016; 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 $\beta$  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 protecteurs 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.*, 2016 ; 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 $\beta$  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*

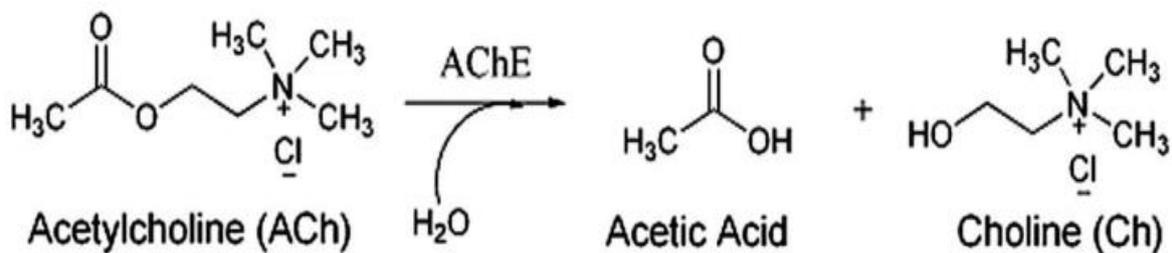
## II.1. Généralité

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]

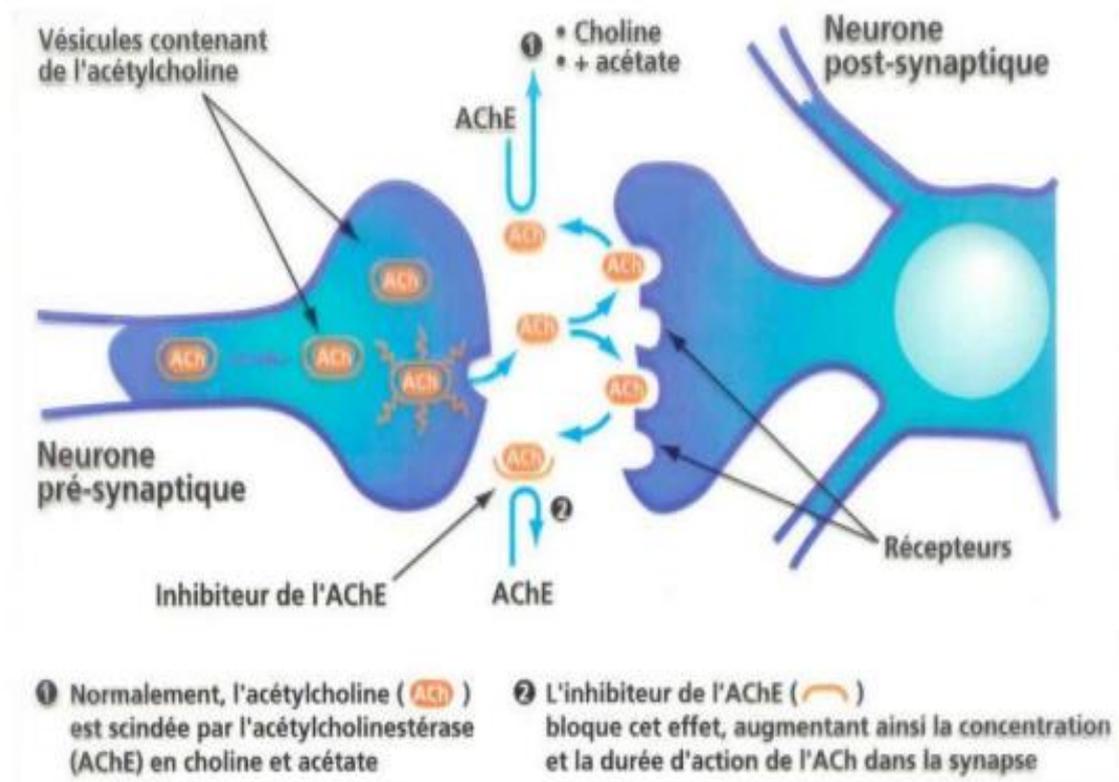
Trois d'entre elles agissent comme des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Ce sont le Donépézil, la Rivastigmine et la Galantamine. Elles sont utilisées dans la plupart des cas. La Memantine est un anti glutamate (antagoniste des récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA)). Cette classe thérapeutique 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 nicotiques 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 $\beta$ (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 $\beta$ 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 $\beta$  (p3-42) , la forme pyroglutamate d' A $\beta$  , 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 $\beta$  solubles, en vue d'une approbation accélérée [Se Thoe et al., 2021; Song et al., 2022] .

#### **➤ Prévenir l'agrégation d'A $\beta$ :**

Les GAG-mimétique et les chélateurs de métaux tels que le zinc ou le cuivre dirigés spécifiquement sur les formes tronquée d'A $\beta$  et favorisent en effet l'agrégation d'A $\beta$ . Par exemple, les dérivés de la coumarine ont un fort impact sur l'agrégation d'A $\beta$  et sur la MAO-B qui module la  $\gamma$ -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'Aβ :**

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].

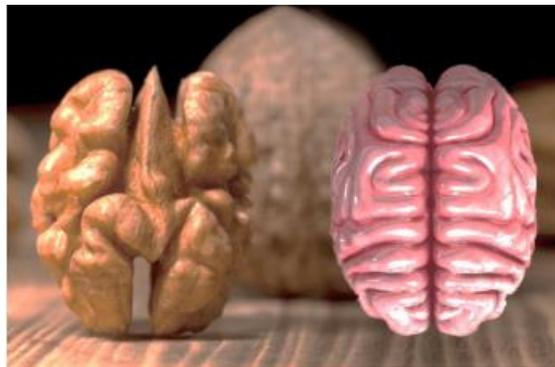


Figure 16 : Théorie des signatures [Elideo Sillaro. 2016].

#### II.6.1.2. 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 dessiquée 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 ; Krieps 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, lycopodine), 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  $\beta$ -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].

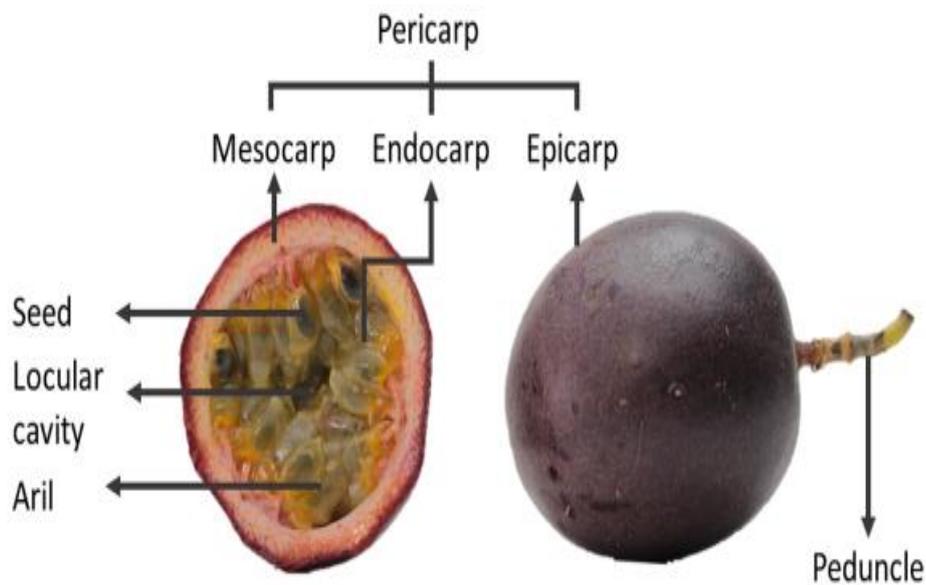
Le genre *Passiflora*, comprenant environ 520 espèces, est le plus important de la famille des Passifloraceae [Arbonnier, 2000 ; Wohlmuth et al., 2010].

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 [Aguilón-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 glutam atérirgique, 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.

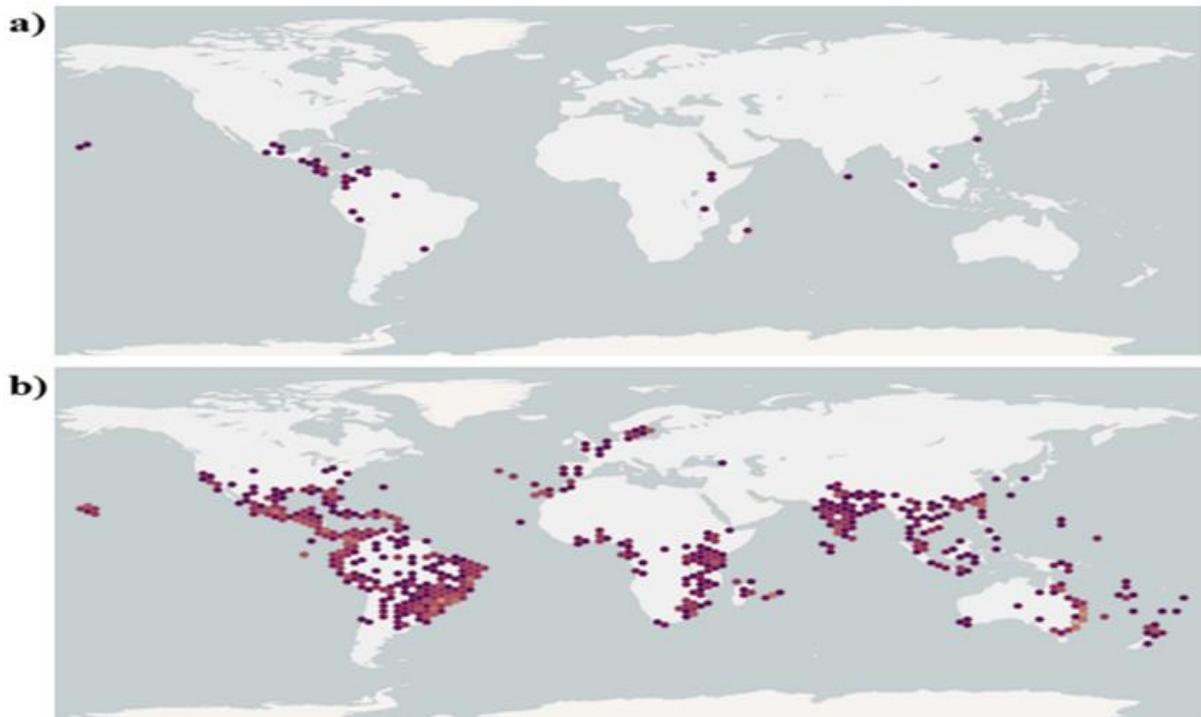


Figure 22 : a) *Passiflora edulis f. edulis* et b) *Passiflora edulis Sims* selon le Système mondial d'information sur la biodiversité (GBIF) (Passifloraceae in GBIF Secrétariat, 2021).

[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 1** : 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 <i>Passiflora edulis</i>
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.5.1.2. 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.4.1.3. 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 [[Ramaïya , Bujang & Zakaria .2018 ] .

**Tableau 2** : les compositions nutritives 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>
<b>Teneur en éléments nutritifs (g/100 g de graines sur une base sèche)</b>	
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
<b>Teneur en minéraux (mg/100 g de graines sur une base sèche)</b>	
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 3** : 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 4** : le profil des flavonoïdes des graines de *Passiflora edulis* .

Composants	Solvant	Références
Epicatechin	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]
Isoorientin	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  $\alpha$ -glucosidase [Pan et al., 2020], et La scirpusine B a également été signalée pour présenter de forts effets vasorelaxants [Sano et al., 2011].

**Tableau 5** : le profil des stilbènes des graines de *Passiflora edulis* .

Composant	Solvant	Référence
Piceatannol	80% ethanol	[ Uchida-Maruki at 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 peu [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  $\alpha$ -amylase et de la  $\alpha$ -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* utilisées dans cette étude ont été fournies en 2016 par le Nafoods Group JSC, basé dans la province de Nghe An au Vietnam. Elles ont été identifiées et authentifiées par le botaniste Dr. Nguyen Quoc Binh, du Musée national de la nature du Vietnam, affilié à l'Académie des Sciences et des Technologies du Vietnam (VAST), à Hanoi. Un spécimen de référence portant la cote C-573 a ensuite été déposé dans l'herbier de l'Institut de chimie des produits naturels de l'VAST, à 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**

La préparation de la fraction riche en stilbènes poly phénoliques a été réalisée à partir des graines violettes séchées et broyées de *Passiflora edulis*. Dans un premier temps, une extraction à l'n-hexane ( $3 \times 15$  L) à température ambiante pendant 3 jours a permis d'éliminer l'huile des graines (5,0 kg). Après filtration et concentration sous pression réduite, cette fraction hexanoïque a représenté un rendement de 880 g.

La poudre des graines déshuilées (4200 g) a ensuite été extraites trois fois par sonication pendant 3 heures, à l'aide d'un mélange acétone/eau (70/30, v/v,  $3 \times 12$  L). La concentration sous pression réduite de cette solution a finalement conduit à l'obtention d'une fraction acétonique riche en stilbènes poly phénoliques, d'un poids de 330 g, soit un 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). 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  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  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  $\mu\text{g/ml}$  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 de l'extrait de *Passiflora edulis* a été déterminée selon la méthode colorimétrique décrite par **Topçu et al. (2007)**, adaptée aux micro volumes (microplaque de 96 puits). Un volume de 50 µl d'extrait a été mélangé avec 130 µl de méthanol, 10 µl d'acétate de potassium 1M et 10 µl de nitrate d'aluminium 10%. Le mélange a été incubé 40 minutes à température ambiante avant de mesurer l'absorbance à 415 nm au spectrophotomètre. La quercitrine a été utilisée comme standard pour tracer la courbe d'étalonnage, selon le même protocole d'échantillonnage.

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) :**

La chromatographie sur couche mince haute performance (HPTLC) est une technique chromatographique très avancée, largement utilisée ces dernières années pour l'empreinte digitale des plantes médicinales, l'analyse de produits, le criblage des métabolites, la quantification des ingrédients actifs et des médicaments à base de plantes, ainsi que pour l'analyse phytochimique et biomédicale. Cette technique est plus sensible et permet d'analyser un plus grand nombre d'échantillons en un temps réduit, tout en utilisant de faibles volumes de solvants. La HPTLC fait partie des techniques instrumentales les plus sophistiquées basées sur les principes 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 bondes 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 MgCl<sub>2</sub> (33% HR) pendant 10 min . Après les plaques HPTLC ont été déprivatisées 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 concentration ( 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 Salft B (0.5 g de fast blue salft blue dissout dans 100 ml d'eau distillée , ensuit la plaque a été déprivatisée 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, arbitin ont été préparés en concentration de 1000ppm (1mg dans 1ml de méthanol).

### **I.3.1.4. Les flavonoïdes**

Trois concentrations de l'extrait (1 mg/kg, 2 mg/kg, 5 mg/kg) et des standards positifs (spiranoside, myréticine, apigénine, naringine, isoquercitroside, baicaléine, taxifoline, quercétine dihydrate à 1 mg/ml) ont été déposés sur une plaque de silice par un applicateur automatique Linomat du système CAMAG HPTLC, en bandes de 6 mm de large. La plaque a été chauffée à 100°C pendant 3 minutes, puis dérivée avec 2 ml de réactif NP (1 g d'ester d' aminoéthyle de diphenylborinique dans 100 ml d'éthanol) avec une buse verte niveau 3, et 2 ml de PEG (5 g de polyéthylène glycol 400 dans 100 ml d'éthanol) avec une buse bleue niveau 2. La plaque a ensuite été photographiée immédiatement sous lumière blanche, UV 254 nm et UV 365 nm à l'aide d'un système de visualisation.

### **I.3.1.5. Les Terpenoïdes**

L'extrait et les standards de référence (camphre, terpinène, thymol, hydroxyéchalosome, menthol) ont été appliqués sur la plaque HPTLC à l'aide du distributeur automatique CAMAG ATS4, à des concentrations respectives de 1 mg/ml, 2 mg/ml et 5 mg/ml pour l'extrait, et de 1 mg/ml pour les standards. Après le développement, la plaque a été pulvérisée avec 2 ml de réactif d'anisaldéhyde-acide sulfurique (préparé en ajoutant avec précaution 10 ml d'acide sulfurique à un mélange refroidi de 170 ml de méthanol et 20 ml d'acide acétique, puis en ajoutant 1 ml d'anisaldéhyde) en utilisant une buse bleue de niveau 3. La plaque a ensuite été chauffée à 100°C pendant 3 minutes. Des photographies de la plaque développée et dérivée ont été prises sous lumière blanche, UV 254 nm et UV 365 nm à l'aide du système de visualisation CAMAG TLC.

### **I.3.1.6. Les alcaloïdes**

L'extrait a été appliqué sur la plaque HPTLC à l'aide de l'applicateur d'échantillons automatique CAMAG Linomat, en trois concentrations distinctes (1 mg/ml, 2 mg/ml, 5 mg/ml), aux côtés des standards de référence (noscapine, ascorbine, caféine, peiminine, quinine, théophylline, atropine, théobromine) à 1 mg/ml. Après le développement, la plaque a immédiatement été pulvérisée avec 2 ml de réactif de Dragendorff, préparé en mélangeant 1 ml de la solution A (0,85 g de nitrate basique de bismuth dissous dans 10 ml d'acide acétique et 40 ml d'eau sous chauffage) et 1 ml de la solution B (8 g d'iodure de potassium dissous dans 30 ml d'eau), avec 4 ml d'acide acétique et 20 ml d'eau, en utilisant une buse rouge de niveau 2. Des photographies de la plaque ainsi dérivée ont ensuite été prises sous lumière visible à l'aide du système de visualisation CAMAG TLC Visualizer 2.

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

La fraction PEAS a été filtrée sur un filtre de 0,45 µm avant d'être analysée par HPLC-DAD. Le système chromatographique utilisé était un Agilent 1290 Infinity LC, équipé d'un détecteur à barrette de diodes. L'analyse de spectrométrie de masse en tandem haute résolution (MS/MS HR) a été effectuée sur un spectromètre de masse quadripolaire à temps de vol (QTOF) Agilent 6530 Sharp-Mass LC/MS, muni d'une source d'ionisation par électronébulisation.

La séparation chromatographique par HPLC a été réalisée sur un système Agilent 1290 Infinity, comprenant une pompe quaternaire, un passeur d'échantillons automatique, un détecteur DAD et une colonne Agilent Poroshell 120 SB-C18 (3,0 x 50 mm, granulométrie 2,7 µm). Le débit était de 0,3 ml/min et le gradient de solvant utilisé a varié de 5 à 90 % d'acétonitrile dans l'eau sur une durée de 25 minutes.

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

L'extrait a été filtré sur un filtre de 0,45 µm avant d'être analysé par spectrométrie de masse haute résolution par ionisation électrospray (HR-ESI-MS), sur un système Agilent 6530 Accurate-Mass QTOF LC/MS (Agilent, Santa Clara, États-Unis). La séparation chromatographique a été réalisée sur un système HPLC Agilent 1290 Infinity, équipé d'un dégazeur, d'une pompe quaternaire, d'un passeur d'échantillons automatique, d'un détecteur DAD et d'une colonne J'sphère ODS H80 (250 mm × 20 mm I.D.). Le débit a été maintenu à 0,3 ml/min. La phase mobile était composée d'eau de qualité CLHP (solvant A) et d'acétonitrile pur (solvant B), avec un gradient d'élution comme suit : de 95 à 5 % de A (3 min), de 70 à 30 % de A (8 min), de 50 à 50 % de A (15 min), de 20 à 80 % de A (25 min) et de 0 à 100 % de B (27 min), à un débit de 1 ml/min et une pression maximale de la pompe de 4000 psi. Les composés phénoliques ont été identifiés à une longueur d'onde de 210 nm. Leur identification préliminaire a été réalisée par l'interprétation des spectres de masse et la comparaison de leurs 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. Les ligands des graines de fruits de la passion ont été préparés à l'aide du logiciel Chems sketch 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  $\Delta G$  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

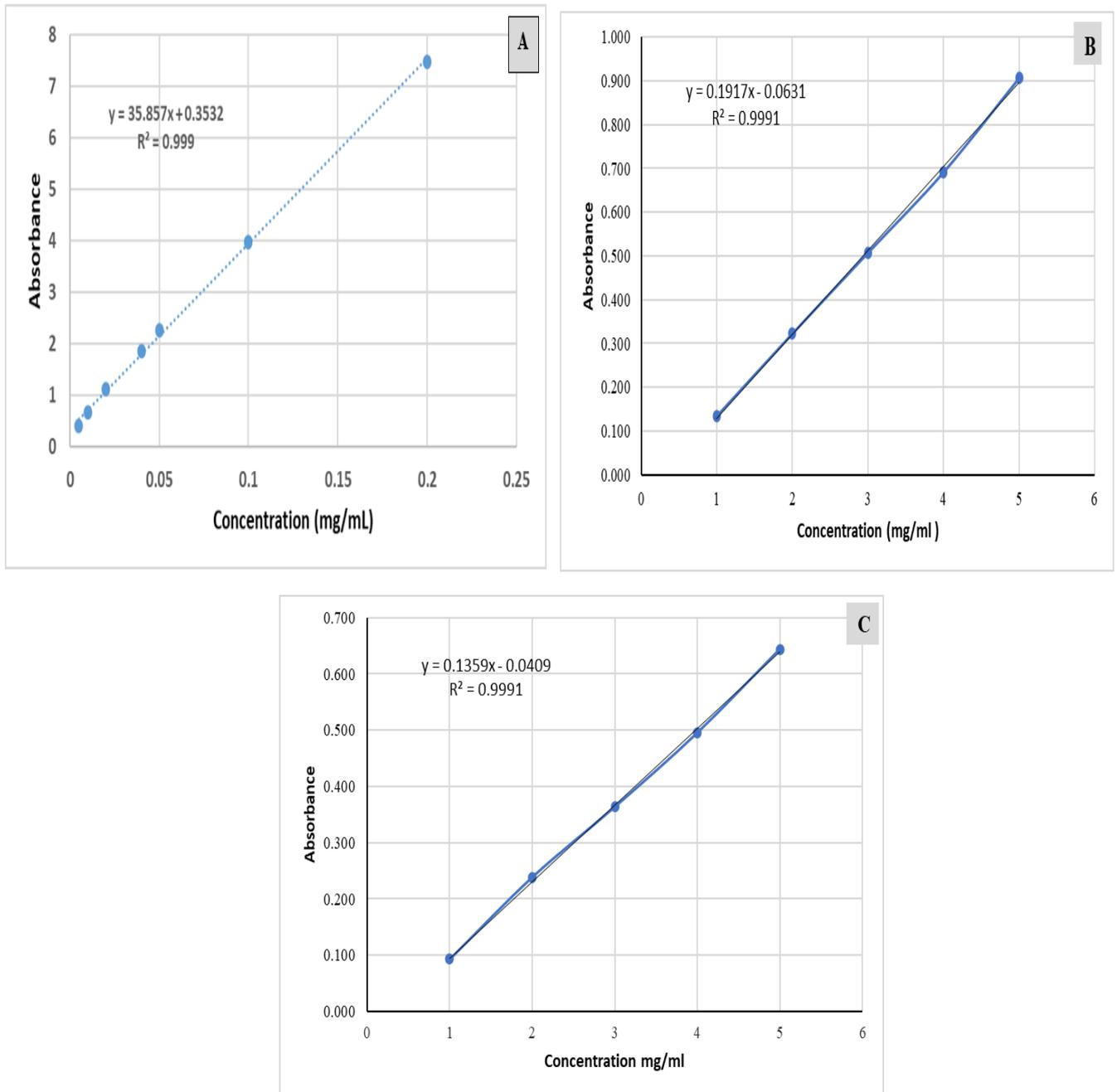
#### I.5.1.1. Dosage des métabolites secondaire

L'analyse phytochimique de la fraction de PEAS a révélé la présence de composés phénoliques, étroitement liés aux activités biologiques de cette fraction. La teneur totale en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés de la fraction acétonique à 70 % des graines a été déterminée par les méthodes de Folin-Ciocalteu, de la quercétine et de la catéchine, respectivement. Ces teneurs ont été exprimées en milligrammes d'équivalent d'acide gallique (EAG) par gramme d'extrait.

La teneur phénolique totale a été calculée à l'aide d'une courbe d'étalonnage (figure 24A), dont l'équation était  $y = 0,0359x + 0,3532$  et le coefficient de régression linéaire  $R^2 = 0,999$ . La teneur phénolique totale de la fraction acétonique des graines de fruits de la passion a ainsi été établie à  $413,87 \pm 1,71$  mg EAG/g d'extrait.

La teneur des flavonoïdes a été calculée à l'aide de la courbe d'étalonnage (**figure 24B**), 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  $236.57 \pm 6$  mg GEQ/g d'extrait.

La teneur des tanins a été calculée à l'aide de la courbe d'étalonnage (**figure 24C**), 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  $150.63 \pm 6.27$  mg EC/g d'extrait.

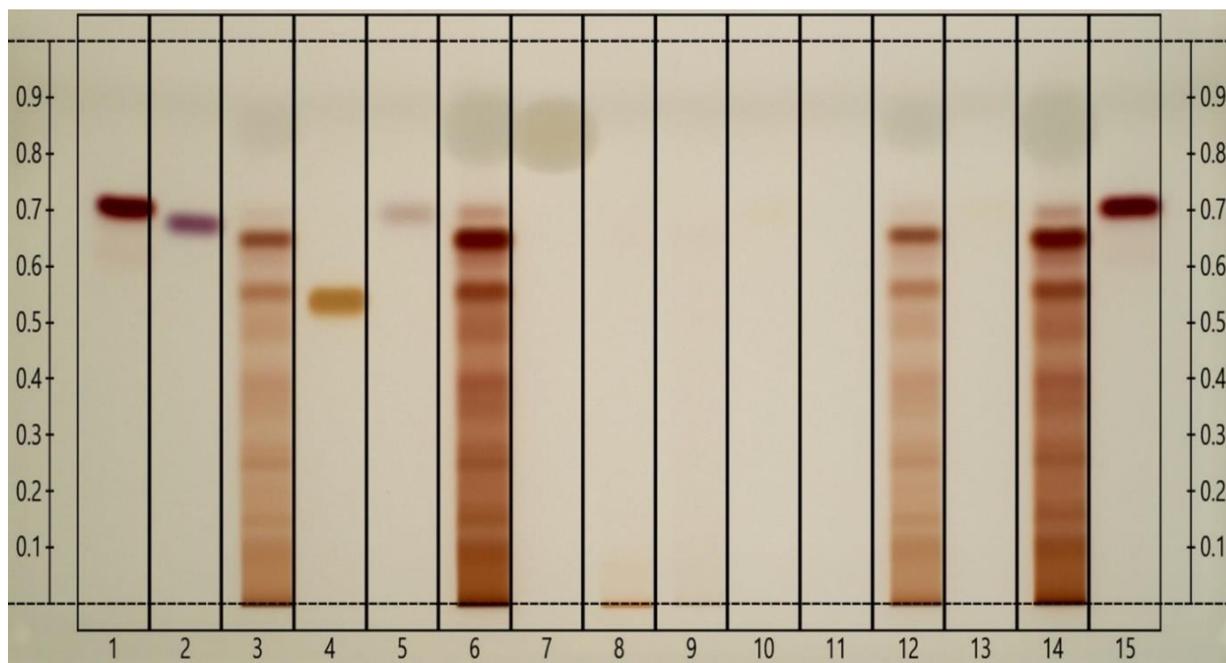


**Figure 24** : Courbes d'étalonnages : A : Acide gallique, B : Quercétine, C : Catéchine

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

### I.5.2.1. Les composés phénoliques :

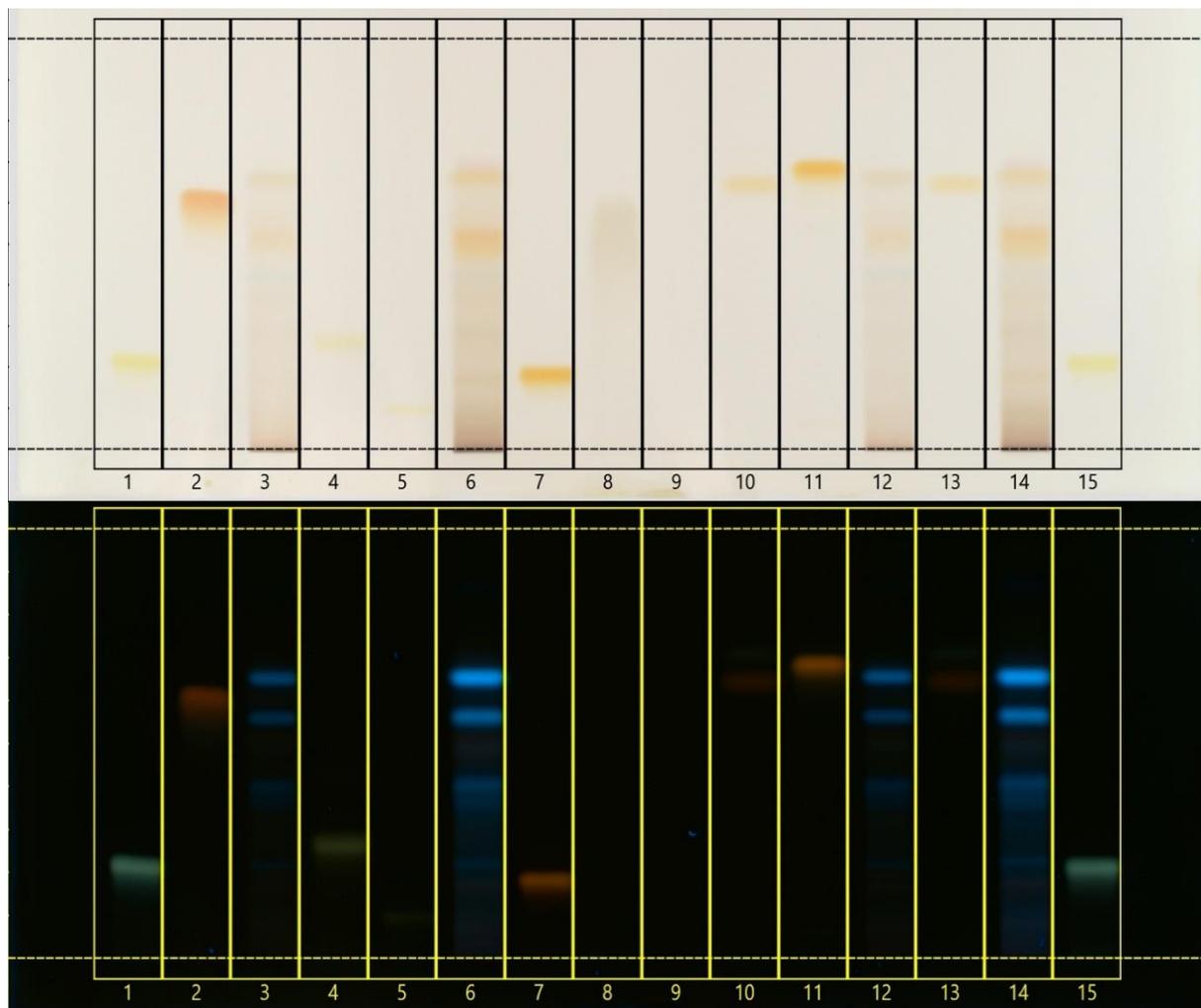
La figure met en évidence la présence de composés phénoliques dans l'extrait de PES, sous la forme de bandes de couleur rouge, mauve, brune et jaune, visible dans les pistes 3, 6, 12 et 14. En revanche, l'extrait de PES à 1 mg/kg (piste 9) ne semble pas contenir de composés phénoliques détectables. (Fig. 25).



**Figure 25** : Profile HPTLC de graines de *Passiflora edulis*, sur une plaque de gel de silice F254 ; phase mobile : chloroforme, Acétate d'éthyle, acide formique, méthanol (40 / 40 / 8 / 12) (v/v/v/v), la plaque a été pulvérisée avec le réactif Fast bleu 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

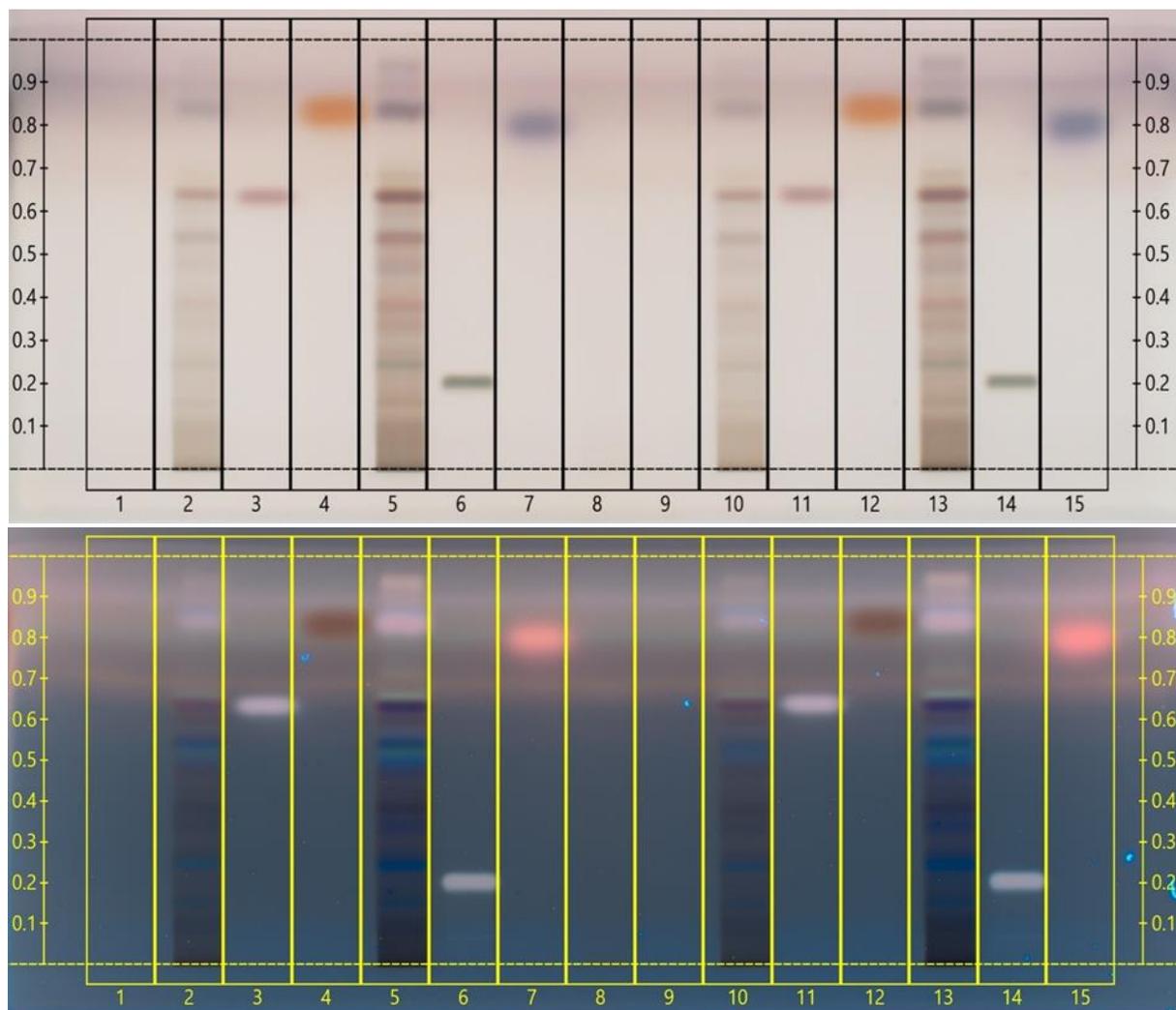
L'analyse des résultats révèle que l'extrait acétonique des graines de *Passiflora edulis* est riche en flavonoïdes tels que spiranosides, apigénine, isoquercitrine, taxifoline, quercétine dihydratée, naringine et baicaléine. Ces composés se manifestent sous forme de bandes de faible intensité, voire complètement invisibles, sur les chromatogrammes HPTLC de l'extrait PES. La similarité des profils chromatographiques indique que ces flavonoïdes ont été très efficacement extraits. (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, acide 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) , Isoquerciticide ( 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

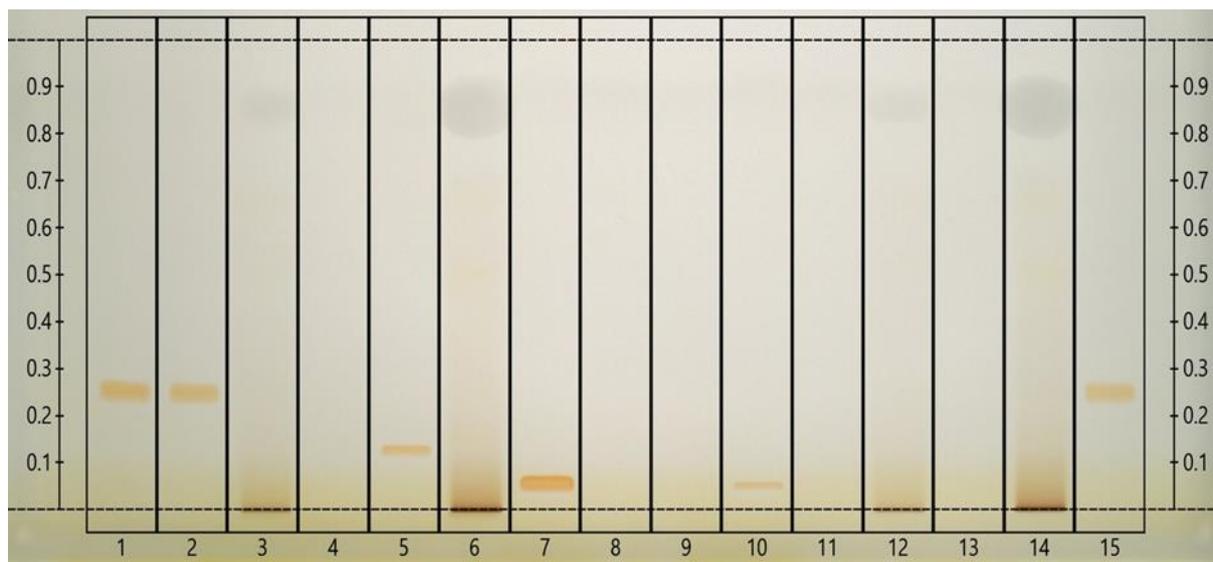
L'extrait des graines de *Passiflora edulis* s'avère particulièrement riche en composés terpénoïdes, qui se manifestent sous la forme de bandes de couleurs variées - orange, vert, mauve, bleu, brun - sur les chromatogrammes. Ces motifs révèlent la présence de composés tels que le terpinène monohydraté, le thymol, l'hydroxyécallysone et le menthol, tandis que le camphre semble absent de l'extrait PES. **(Figure 27).**



**Figure 27** : Profile HPTLC de graines de *Passiflora edulis*, sur une plaque de gel de silice F254 ; phase mobile : chloroforme, Acétate d'éthyle, acide 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) , Hydroxyecallysone (Voie 6) , Menthol (Voie 7 ) , Camaphor ( Voie 9 ) , Terpin monohydrate (Voie 11) , thymol ( Voie 12 ) , Hydroxyecallysone ( Voie 14) , Menthol ( voie 15 ) .PES ( Voies 2 , 5 , 10 , 13 ) .

#### I.5.2.4. Alcaloïdes

L'analyse par pulvérisation au réactif de Dragendorff suggère que l'extrait des graines de *Passiflora edulis* ne renferme pas de quantités significatives d'alcaloïdes. En effet, seules de faibles bandes de couleur jaune-orange sont visibles, correspondant probablement à des composés tels que la noscapine, l'ascopine, la péimine, la quinine ou l'atropine. Cela indique que les alcaloïdes ne constituent pas une fraction majeure de cet extrait végétal. (**Fig. 28**)

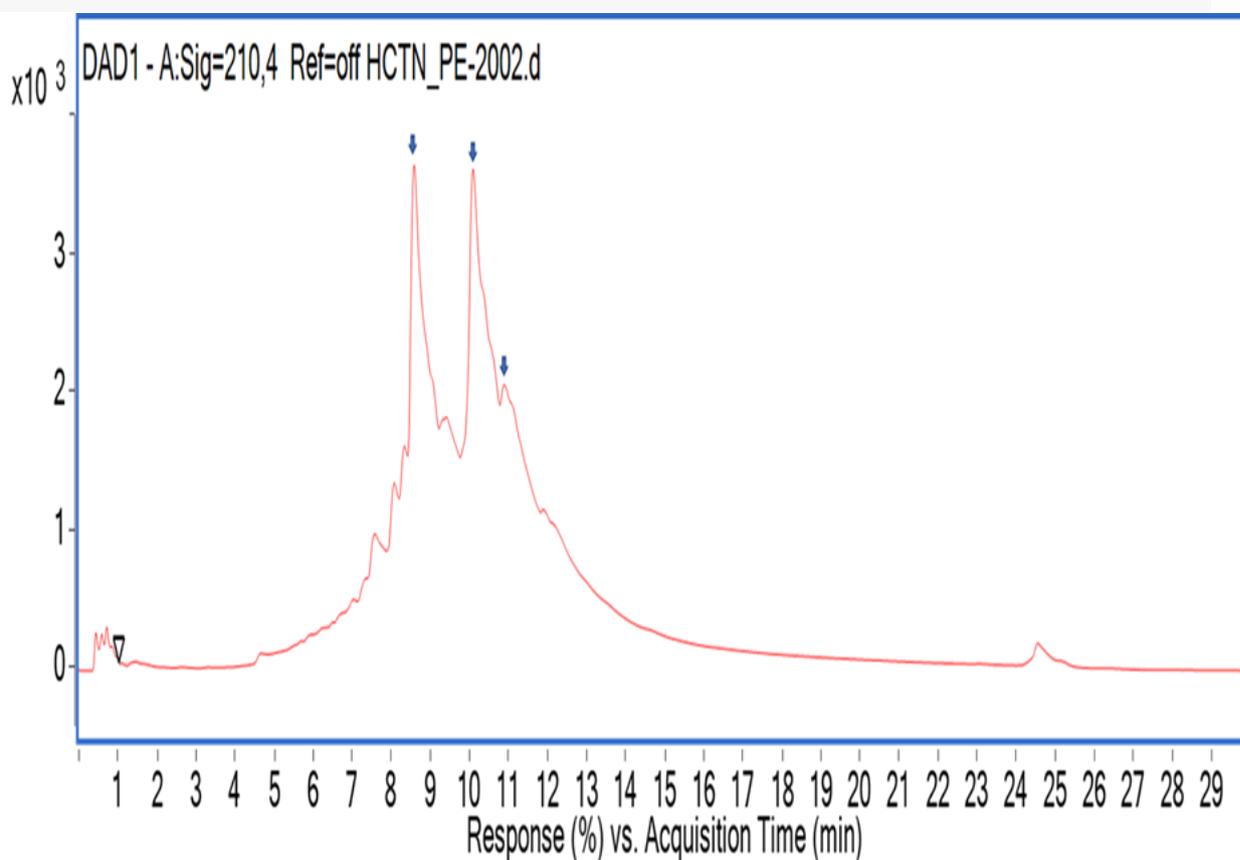


**Figure 28** : Profile HPTLC de graines de *Passiflora edulis*, sur une plaque de gel de silice F254 ; phase mobile : chloroforme, Acétate d'éthyle, acide formique, méthanol (40 / 40 / 8 / 12) (v/v/v/v), la plaque a été pulvérisée avec le réactif dragondroff et visualisée sous lumière visible. les standard utilisés : Noscapine ( voie 1 ) , Ascopine (Voie 2) , Cafféine (Voie 4) , Peimine (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

L'analyse de la teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait acétonique à 70% a été réalisée par HPLC-HR-ESI-MS. Cette étude a permis d'identifier trois composés majeurs au sein de cet extrait. Il s'agit du trans-picéatannol (PE-1) ainsi que des scirpusines A et B (PE-2 et PE-3).

La **figure 29** présente un profil chromatographique typique obtenu par HPLC-DAD-MS pour les constituants de la fraction acétonique des graines de *Passiflora edulis*. Cette analyse poussée a révélé la présence marquée de ces composés phénoliques identifiés, à savoir le trans-picéatannol (3,4,3',5'-tétrahydroxy-trans-stilbène) en tant que composé majoritaire, accompagné des scirpusines B et A, comme l'indique le **tableau 06**.

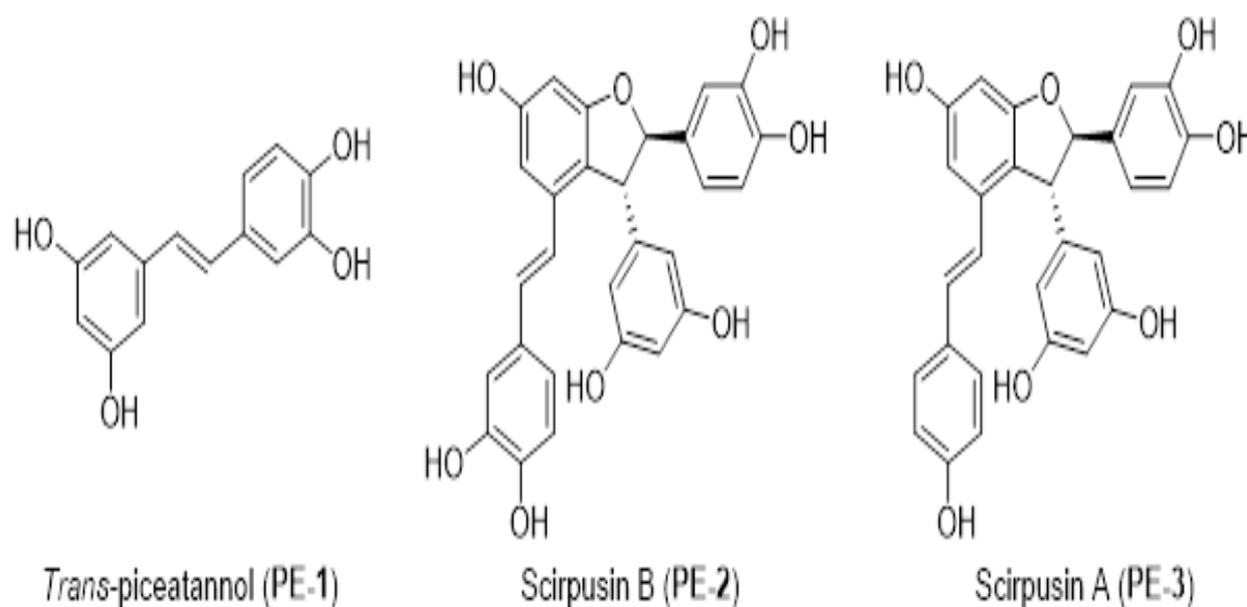


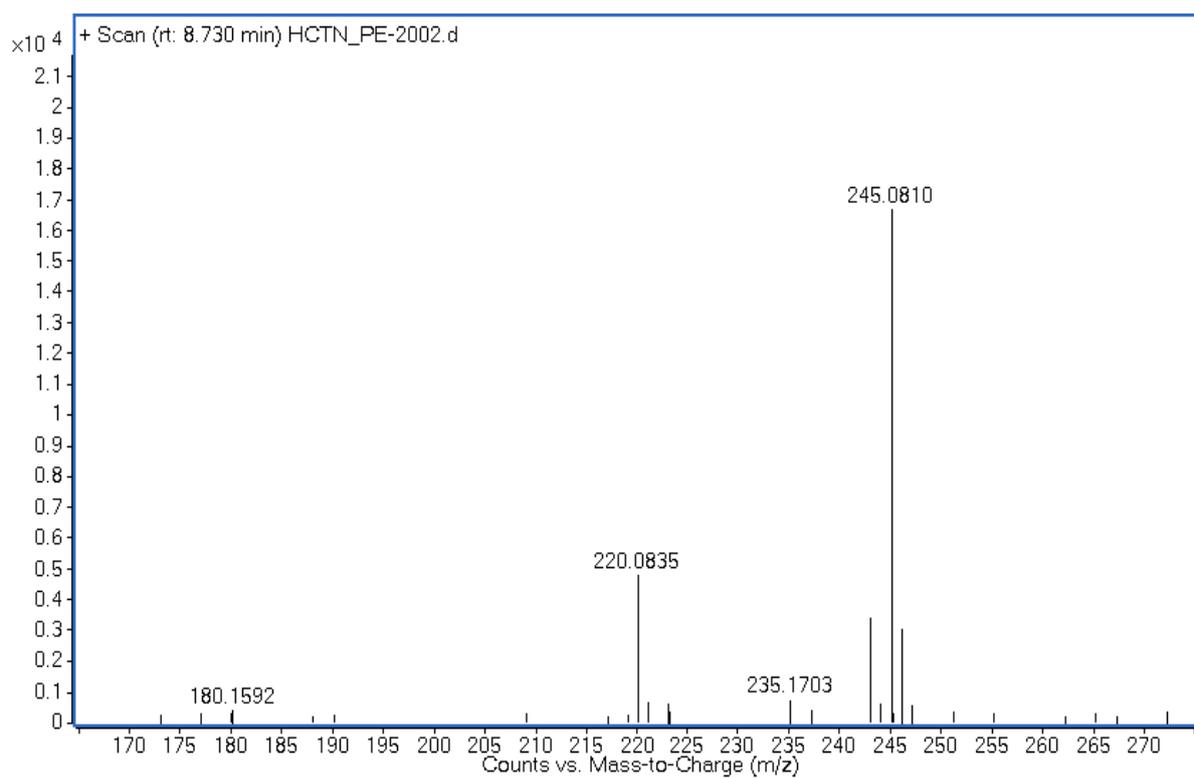
**Figure 29** : Profil HPLC-DAD de la fraction PEAS à 210 nm. Le trans-picéatannol (PE-1), la scirpusine B (PE-2) et la scirpusine A (PE-3) ont été détectés comme constituants majeurs.

**Tableau 6** : 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 <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> (MW = 244)	245.0810
2	10.255	scirpusin B (PE-2)	C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub> (MW = 486)	487.1391
3	11.034	scirpusin A (PE-3)	C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub> (MW = 470)	471.1438

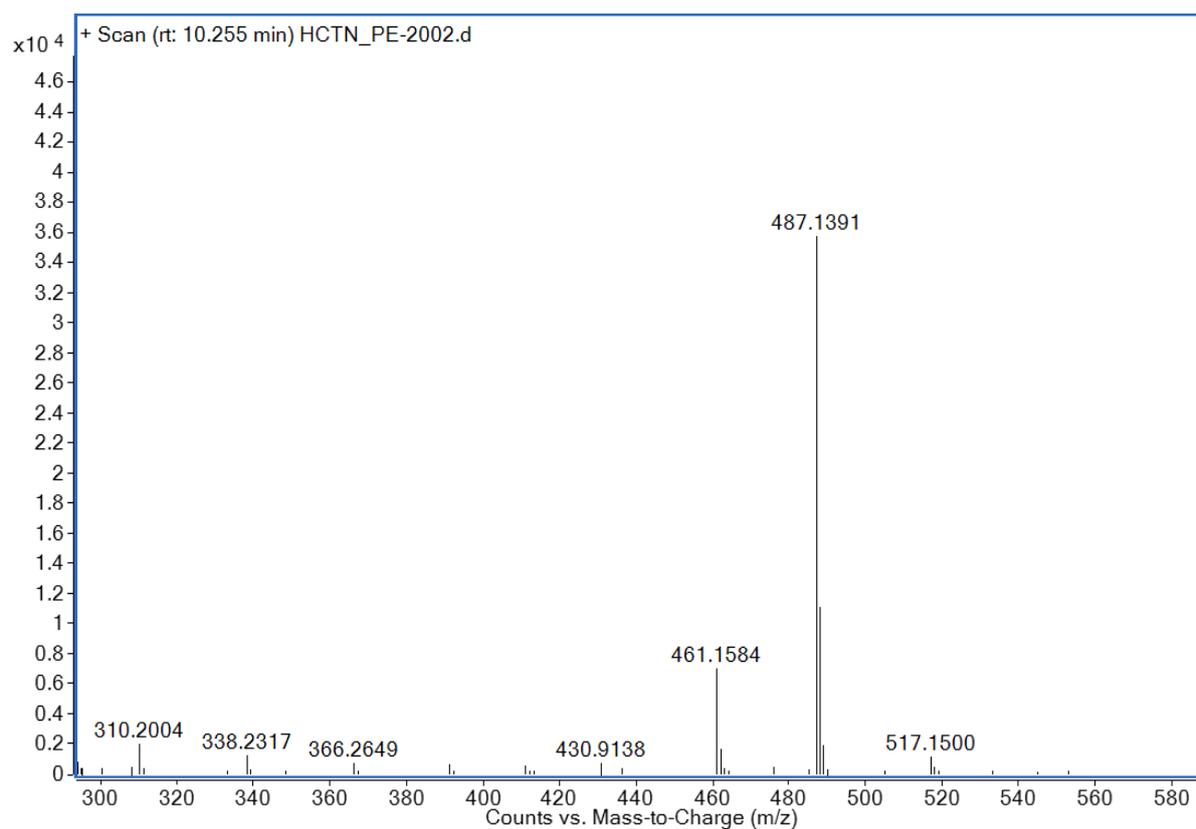
(Rt): Retention time; (MF / MW) Molecular formula / Molecular weight; (M+H) Mass spectrum (HR-ESI-MS)

**Figure 30** : Structures chimiques de 3 composés PE1-3 détectés par HPLC-HR-ESI-MS



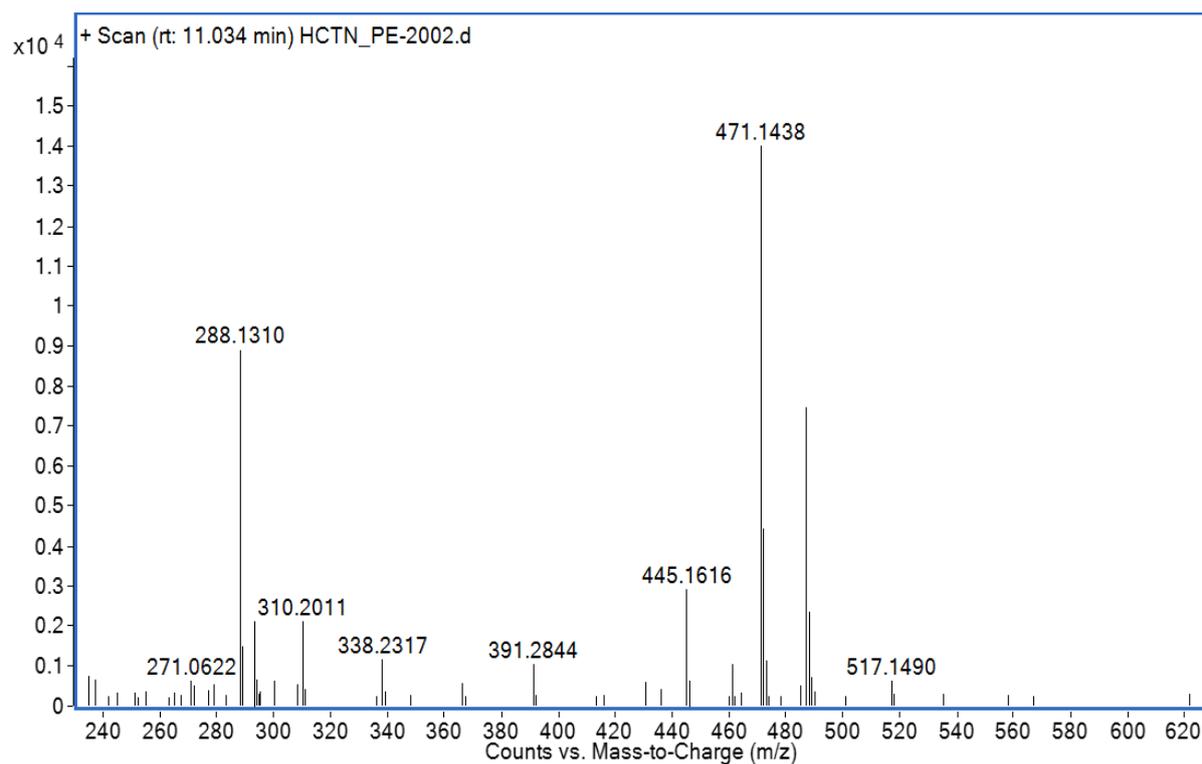
Formula (M)	Score (MFG) ▾	Mass	Mass (MFG)	m/z (Calc)
C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	99.89	244.0737	244.0736	245.0808

**Figure 31** : Spectre HR-ESI-MS du trans-piceatannol (TR= 8,7 min.)



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

**Figure 32** : Spectre HR-ESI-MS de la scirpusine B (TR= 10,2 min.)

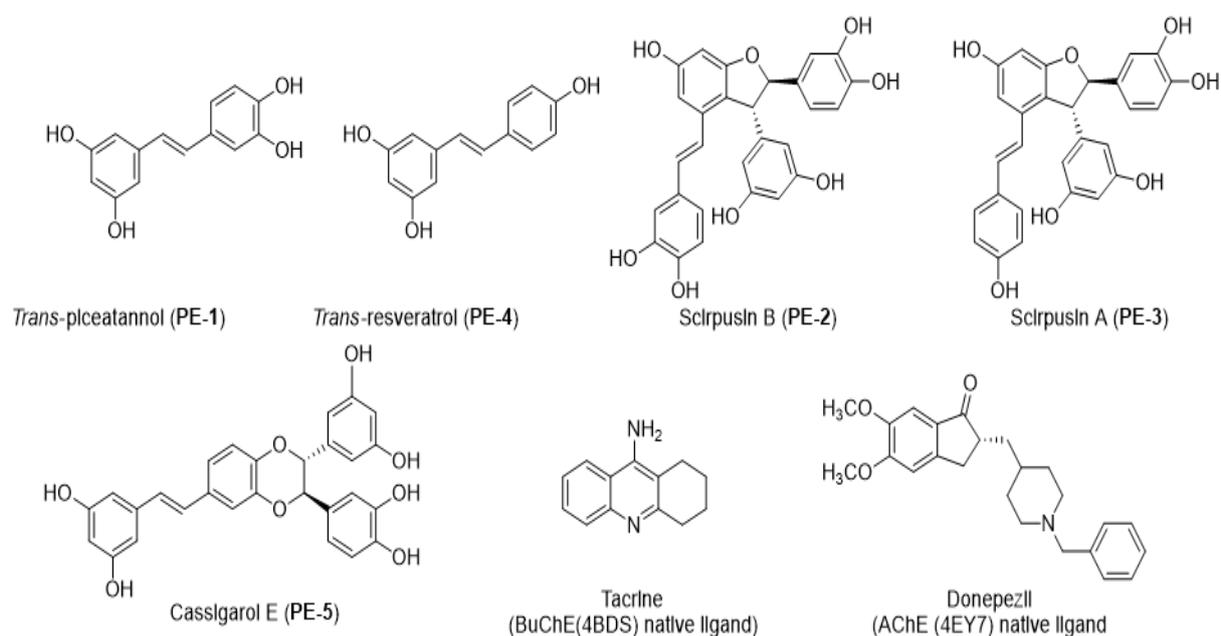


Formula (M)	Score (MFG ▾)	Mass	Mass (MFG)	m/z (Calc)
▶ C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	100	470.1365	470.1366	471.1438

**Figure 33** : Spectre HR-ESI-MS de la scirpusine A (TR= 11,0 min.)

### I.5.4. Amarrage moléculaire

Sur la base de nos analyses HPLC-MS ainsi que des données existantes concernant la composition chimique des graines de *Passiflora edulis* après délipidation, nous avons sélectionné cinq stilbènes ainsi que deux composés de référence pour réaliser une étude d'amarrage moléculaire. L'objectif était de mieux comprendre les mécanismes d'action potentiels et les modes d'interaction de ces molécules avec deux enzymes cérébrales humaines, à savoir l'AChE (identifiant PDB : 4EY7) et la BChE (identifiant PDB : 4BDS), comme l'illustre la **figure 34**.

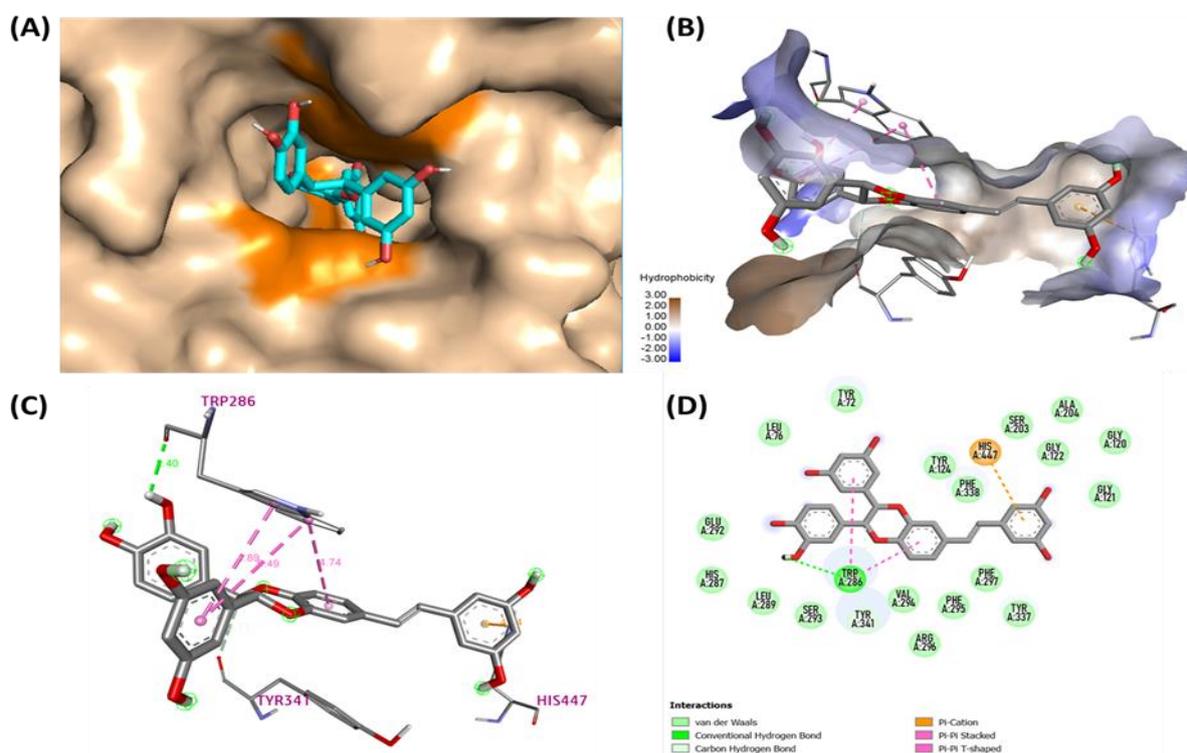


**Figure 34** : Structures des stilbènes à partir des graines de *P. edulis* et les ligands natifs AChE et BChE.

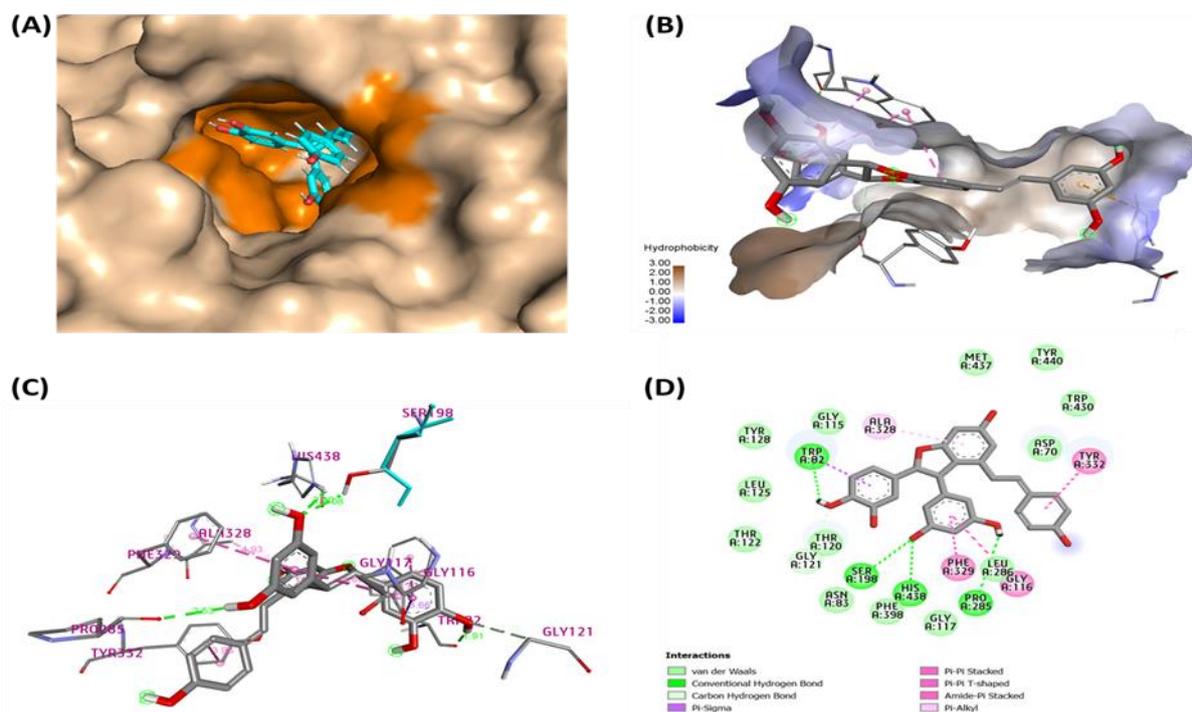
Les résultats de la simulation d'amarrage moléculaire, incluant les paramètres d'amarrage, les interactions au sein du réseau et les valeurs d'énergie libre de liaison  $\Delta G$  (en kcal/mol), des interactions hydrophobes, d'empilement et de CI50 prédites, sont présentés dans les **tableaux 07 et 08** ainsi que dans les **figures 35 et 36**. L'analyse d'amarrage a révélé que les énergies libres de liaison des composés testés avec l'AChE et la BChE variaient entre -7,08 et -11,55 kcal/mol. Face à l'AChE, l'ordre des énergies de liaison négatives était le suivant : le cassigarol E < la scirpusine A < la scirpusine B, avec des valeurs respectives de  $\Delta G$  de -11,55, -9,85 et -8,89 kcal/mol. Ces valeurs de  $\Delta G$  étaient nettement plus favorables que celle de la tacrine, le composé de référence positif (-8,71 kcal/mol).

En ce qui concerne la BChE, l'ordre des énergies de liaison négatives était le suivant : la scirpusine A < le cassigarol E < la scirpusine B, avec des valeurs respectives de  $\Delta G$  de -11,55, -10,71 et -9,91 kcal/mol. Ces valeurs de  $\Delta G$  étaient plus négatives que celle du donépézil, le composé de référence positif (-9,90 kcal/mol), et même inférieures à la sienne (-9,07 kcal/mol). En revanche, le trans-picéatannol (PE-1) et le trans-resvératrol (PE-4) ont montré une faible activité inhibitrice envers la BChE.

Le cassigarol E (PE-5) a présenté des énergies de liaison particulièrement favorables avec l'AChE et la BChE, avec des valeurs de  $\Delta G$  respectives de -11,55 et -10,71 kcal/mol, ainsi que des valeurs de CI50 prédites très basses de 0,003 et 0,014  $\mu\text{M}$ . La scirpusine A (PE-3) a, quant à elle, été liée au site actif de l'AChE avec une énergie de liaison de -9,85 kcal/mol et une CI50 prédite de 0,059  $\mu\text{M}$ . Ce composé a également affiché la plus forte énergie de liaison (-11,55 kcal/mol) et la plus faible valeur de CI50 prédite (0,003  $\mu\text{M}$ ) parmi tous les stilbènes testés.



**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 :  $\pi$ -empilable et violet :  $-\sigma\pi\pi$ .



**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 :  $\square$ -empilement ; et orange : -cation.

**Tableau 7** : 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 8** : Amarrage moléculaire des composés PE-1–5 avec BChE.

No	Compound	BchE			
		Binding energy (Kcal /mol )	IC50,pred. ( $\mu$ 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 passiflore violette ont été séchées, réduites en poudre, puis dégraissées par trempage dans du n-hexane à température ambiante avec l'aide d'un bain à ultrasons. Cela a permis d'obtenir d'un côté l'extrait n-hexanique, et de l'autre les graines dégraissées. Une étude de la littérature et des tests préliminaires d'extraction des graines de passiflore avec divers solvants tels que le méthanol, l'éthanol à 96% ou encore des mélanges acétone/eau, ont révélé que l'extrait aqueux à 70% d'acétone présentait le meilleur rendement en composés phénoliques (données non communiquées ici). En conséquence, les graines dégraissées ont été extraites avec cette solution hydro-acétonique à 70%, générant ainsi une fraction acétonique destinée à des évaluations biologiques plus approfondies. Ces résultats se démarquent favorablement des données publiées précédemment sur le sujet.

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 s'inscrivent dans la continuité des travaux de [Kawakami, S et al., 2021 ; Matsui, Y. et al., 2010], qui ont démontré que la majeure partie des polyphénols totaux présents dans les différentes parties du fruit de la Passiflore (*P. edulis*) - soit 88% - se concentrait spécifiquement dans les graines. Diverses familles de polyphénols, incluant notamment les stilbènes, ont pu être isolées et identifiées à partir de ces graines.

**Goud et al.** ont rapporté en 2021 que le contenu total en polyphénols des graines non dégraissées du fruit de la passiflore pourpre du nord-est de l'Inde variait de 31 à 55 mg équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait, et ce en fonction des différents solvants utilisés (acétate d'éthyle, eau, acétone, méthanol) [Purohit, S et al., 2021]. Par ailleurs, **Yepes, A et al.** ont montré en 2021 qu'avec une méthode d'extraction à l'éthanol, la teneur en polyphénols totaux atteignait  $0,32 \pm 0,04$  g équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait [Yepes, A et al., 2021] - un résultat similaire à celui rapporté par **Oliveira et al.** En 2016, qui avaient mesuré  $0,39 \pm 0,1$  g équivalents d'acide gallique par gramme de graines de passiflore dégraissées.

**Purohit et al.** ont en effet rapporté en 2021 que les extraits méthanoliques des fruits de passiflore pourpre et jaune du nord-est de l'Inde présentaient les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux, surpassant même leurs homologues à l'acétone [Purohit, S et al 2021]. A l'inverse, les extraits à l'acétate d'éthyle et aqueux affichaient les plus faibles concentrations. Ainsi, les extraits méthanoliques de passiflore jaune et pourpre ont enregistré des teneurs

respectives de  $66,52 \pm 4,36$  et  $62,30 \pm 9,07$  mg équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait - des valeurs supérieures à celles mesurées pour les extraits méthanoliques de passiflore pourpre ( $61,37 \pm 1,90$ ) et jaune ( $54,63 \pm 0,23$ ). Or, les composés phénoliques sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, protectrices contre l'oxydation des huiles et des aliments gras [Kaur, C., & Kapoor, H. C. (2002), Rumbaoa, R. G. O et al., 2009], améliorant ainsi la qualité et la durée de conservation des produits alimentaires. De plus, il est bien établi que ces composés phénoliques issus d'extraits végétaux présentent également des activités antimicrobiennes et antifongiques [Manach, C et al., 2004, A Moure et al., 2001].

Diverses techniques d'extraction, telles que la macération (MAC), l'extraction assistée par ultrasons (UE) et l'extraction par fluide supercritique (SFE), ont également été mises en œuvre afin d'optimiser la production de composés polyphénoliques à partir des graines de passiflore [Purohit et al., 2021]. Ainsi, Purohit et al ont rapporté que l'extrait éthanolique à 50% des tourteaux et des graines présentait les plus fortes teneurs en polyphénols totaux, avec des valeurs respectives de 284 et 336 mg équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait pour la macération et l'extraction assistée par ultrasons [Oliveira, D. A et al., 2016]. Ces résultats dépassaient même ceux obtenus pour l'extrait acétonique des graines de *P. subpeltata* récoltées en Inde ( $340,70$  mg GAE/g d'extrait) [Saravanan, S., & Parimelazhagan, T. 2013].

Par ailleurs, Purohit et al ont également mis en évidence que l'extrait méthanolique de la pulpe de passiflore jaune ( $73,38 \pm 2,04$  mg équivalents de quercétine/g) et l'extrait acétonique de la pulpe de passiflore pourpre ( $71,72 \pm 2,04$  mg QUE/g) affichaient les plus fortes teneurs en flavonoïdes parmi tous les extraits testés. Cette différence pourrait s'expliquer par la thermo instabilité des flavonoïdes, les rendements étant plus faibles pour l'extrait aqueux. Enfin, la pulpe des fruits de passiflore jaune et pourpre s'est révélée plus riche en flavonoïdes que leurs graines respectives.

Les flavonoïdes possèdent de nombreuses propriétés bénéfiques pour la santé grâce à leur fort pouvoir antioxydant, leur capacité à induire des systèmes enzymatiques protecteurs [Pandey, A. K. 2007] ainsi que leurs effets antibactériens et antiviraux avérés [Cook, N. C., & Samman, S. (1996), Rice-evans, C. A]. Au-delà, ces métabolites secondaires jouent également un rôle préventif dans les maladies dégénératives telles que les cancers et les troubles cardiovasculaires.

Enfin, l'analyse phytochimique qualitative a mis en évidence la présence de composés phénoliques, notamment de tanins, dans ces extraits de passiflore. les tanins sont largement reconnus pour leurs propriétés thérapeutiques dans le traitement de diverses pathologies

[**Kähkönen, M. P. 1999**]. Une méthode HPTLC optimisée a également été développée pour établir le profil phénolique détaillé de ces extraits de graines de *Passiflora edulis*.

L'analyse HPTLC des composés phénoliques, effectuée en utilisant la lumière visible et l'UV366 avec des réactifs de visualisation, a permis un regroupement préliminaire de ces composés en différentes familles/classes [**Karthika et PulSamy, 2015**]. Ainsi, les taches de couleur jaune orangé, brun-vert terne et violet-rouge-orange observées sous UV sont caractéristiques respectivement des flavonoïdes, des flavones et des anthocyanes [**Stanek et Jasicka-Misiak, 2018 ; Karthika et PulSamy, 2015**].

De même, l'acide caféique, l'acide p-coumarique, l'acide chlorogénique et l'acide férulique ont été identifiés sous forme de taches bleu clair et bleu foncé. À l'inverse, certains phénols simples comme l'acide gallique ne présentent pas de fluorescence sous UV et apparaissent plutôt sous forme de taches sombres et absorbantes [**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 dominants, 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.

Selon les travaux de [**Dos Santos, L. C et al., 2021**], l'extrait riche en flavonoïdes, notamment en taxifoline, provenant des graines de PE a fait l'objet d'investigations approfondies. De leur côté, [**Saito, S et al., 2017**] ont rapporté que cette molécule phénolique présentait également des propriétés thérapeutiques intéressantes contre la maladie d'Alzheimer.

Les résultats obtenus par ces auteurs se sont avérés particulièrement prometteurs. En effet, la taxifoline a démontré la capacité d'empêcher la détérioration cérébro-vasculaire chez la souris. De plus, une diminution significative des dépôts de protéine  $\beta$ -amyloïde a été observée chez les spécimens animaux ayant bénéficié de ce traitement phénolique [Saito, S et al.,2017]. Ces découvertes ouvrent ainsi de nouvelles perspectives quant à l'exploitation thérapeutique potentielle de la taxifoline, un composé flavonoïque d'origine végétale aux vertus neuroprotectrices avérées.

Lorsque les flavonoïdes sont extraits à l'éthanol des graines de *P. edulis*, une diversité remarquable de composés a été mise en évidence [Dos Reis, L. C. R et al., 2018 ; Yamamoto, T et al.,2018 ; Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M., 2013 ; Rodríguez, Á. A. J et al., 2021]. Parmi eux figurent des aglycones telles que l'épicatéchine, la quercétine et le kaempférol, ainsi que des hétérosides comme la rutine, l'isoquercétine, la malvidine 3,5-diglucoside, l'orientine, l'isoorientine, la vitexine et l'isovitexine.

Les travaux de [Dos Reis, L. C. R et al., 2018] ont notamment révélé une teneur relativement élevée en kaempférol, atteignant 3,75 mg/g de graines. Cette molécule flavonoïde est connue pour ses diverses fonctions physiologiques bénéfiques, en particulier ses propriétés anticancéreuses, antioxydantes, anti-inflammatoires et neuroprotectrices [Imran, M et al., 2019]. Par ailleurs, [Rodríguez, Á. A. J et al., 2021] ont rapporté des teneurs respectives de 421,56 et 341,59  $\mu$ g/g de graines en isovitexine et vitexine.

Enfin, des études ont également identifié la présence de composés tels que l'isoorientine, l'isovitexine et l'orientine dans les pelures [da Silva Francischini, D et al., 2020] et les feuilles de *P. edulis*, [Alves, J. S. F et al., 2020] suggérant une répartition ubiquitaire de ces flavonoïdes dans différentes parties de cette plante [Kawakami, S et al.,2021].

L'analyse chromatographique HPTLC a révélé que l'extrait acétonique des graines de *Passiflora edulis* était particulièrement riche en une variété de composés phytochimiques. Parmi eux figurent notamment des acides phénoliques tels que le resvératrol, l'acide sinapique, l'acide rosmarinique, l'acide férulique, le magnolol et l'acide ginkgolique. L'extrait comprend également une diversité de terpénoïdes, comme le terpinène monohydraté, le thymol, l'hydroxyécallysone et le menthol. Enfin, la présence d'alcaloïdes a également été mise en évidence par l'apparition de bandes de coloration jaune.

Ces résultats concordent avec les observations rapportées dans les travaux antérieurs de [Rodríguez, Á. A. J et al., 2021] et de [Murillo, E., & Méndez, J. 2012], soulignant la richesse phytochimique caractéristique des graines de *Passiflora edulis*. Cette diversité de métabolites secondaires confère probablement à cette plante des propriétés biologiques et thérapeutiques d'un grand intérêt.

L'analyse HPLC a révélé que la fraction acétonique était particulièrement riche en stilbénoides aux propriétés remarquables. Parmi eux figuraient notamment le picéatannol (PE-1) ainsi que les scirpusines A et B (PE-2 et PE-3).

Cette composition phytochimique complexe n'est pas sans rappeler celle observée dans les rhizomes du souchet comestible (*Cyperus rotundus*) [Majeed. D. M et al., 2013] ou encore dans les graines du fruit de la passion jaune [Pan, Z. H et al., 2020].

Bien que l'extrait d'acétate d'éthyle ait démontré une activité anti-adipogénique intéressante dans les adipocytes 3T3-L1, avec une valeur IC50 de 9,39 mg/ml [Majeed. D. M et al., 2013], il semble que chacun des constituants stilbéniques possède des propriétés biologiques qui lui sont propres. Cette riche diversité de métabolites secondaires confère sans aucun doute à cette plante un potentiel thérapeutique et nutraceutique des plus fascinants, à explorer davantage.

Les récents travaux de [Cuong, T. D et al., 2019] ont permis d'isoler, à partir de l'extrait éthanolique des graines de *Passiflora edulis* Sims cultivées au Vietnam, une remarquable palette de composés phénoliques. Parmi eux se distinguent le trans-resvératrol (1), le trans-picéatannol (2), la sulfurétine (3), la (+) balanophonine (4) et le cassigarol E (5).

Particulièrement fascinants sont les effets du picéatannol et de son dimère, la scirpusine B. Ces stilbénoides ont en effet démontré de puissantes propriétés antioxydantes, vasorelaxantes, anti-athéroscléreuses et cardioprotectrices [Matsumoto, Y., & Katano, Y. 2021].

Quant à la scirpusine A, ce dimère d'hydroxy-stilbène présente une activité inhibitrice de l'agrégation du peptide bêta-amyloïde particulièrement robuste, avec une valeur CE50 de  $0,7 \pm 0,3 \mu\text{M}$ . Elle exerce également des effets inhibiteurs sur la bêta-sécrétase [Rivière, C et al., 2010].

De plus, les scirpusines A et B démontrent toutes deux des vertus neuroprotectrices, en protégeant les neurones de l'hippocampe des dommages induits par une exposition chronique aux corticostéroïdes, et en prévenant la formation de fibrilles amyloïdes [Sim, Y et al., 2016].

Cette riche palette de composés bioactifs confère à la graine de *Passiflora edulis* un potentiel thérapeutique particulièrement prometteur, notamment dans les domaines cardiovasculaire et neurodégénératif.

Les sous-produits de la passion fruit (*Passiflora edulis*), et notamment ses graines, se révèlent être une véritable manne de polyphénols [Dos Santos, L. C et al., 2021]. Au sein de cette riche palette, le picéatannol a tout particulièrement retenu l'attention des chercheurs ces dernières années.

De même, le resvératrol, un autre composé phénolique majeur de cette espèce, fait l'objet d'un intérêt grandissant dans le traitement potentiel de la maladie d'Alzheimer [Rège, S. D et al 2014]. Ses propriétés neuroprotectrices ont en effet été maintes fois démontrées par la recherche scientifique.

Ces découvertes soulignent avec éloquence le formidable potentiel thérapeutique caché dans ces sous-produits de la passion fruit, longtemps considérés comme de simples déchets. Une véritable pépite à exploiter davantage pour relever les défis de santé publique contemporains.

Les graines de *Passiflora edulis* (la passiflore comestible) se révèlent être une riche source de stilbènes, avec le picéatannol (3,3',4,5'-tétrahydroxy-trans-stilbène) comme composé phare.

Ce puissant antioxydant a été identifié comme un inhibiteur efficace de la tyrosine kinase [Oliver, J. M et al., 1994], et fait également l'objet d'un intérêt croissant pour ses propriétés d'activateur des sirtuines [Howitz, K. T. et al., 2003 ; Dai, H et al., 2018], des enzymes clés dans la régulation du métabolisme énergétique.

Les différentes études menées sur la teneur en picéatannol des graines de *P. edulis*, déterminée par extraction à l'éthanol, font état de concentrations variant de 4,8 [Matsui, Y. et al., 2010] à 36,8 mg [De Santana, F. C et al., 2017] par gramme de matière sèche [Sano, S et al., 2011 ; Pan, Z. H et al., 2020]. Ces variations peuvent s'expliquer par des différences dans les protocoles d'extraction, l'origine géographique et la saison de récolte des échantillons.

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  $\alpha$ -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'YPPF 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 PPF. D'autre part, l'acide pcoumarique n'a été trouvé que dans les extraits méthanoliques de YPFS, PPF et PPF.

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  $IC_{50}$ , 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  $\mu$ 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 IC<sub>50</sub>, 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 CI<sub>50</sub>, pred de 0,014 M, ce qui était 68 fois inférieur à celui du témoin positif, la tacrine (IC<sub>50</sub>, 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  $\mu$ 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 constitue une première étape visant à déterminer les propriétés neuroprotectrices des différentes parties de *Passiflora edulis* ainsi que la composition chimique active de la plante. D'après les recherches menées (sur le plan chimique, in vivo et in silico), la fraction polyphénolique riche en stilbène à 70% d'acétone extraite des graines de fruit de la passion (PEAS) a démontré une activité anti-Alzheimer prometteuse, méritant d'être davantage étudiée dans la perspective de la prévention ou du traitement de la maladie d'Alzheimer. Néanmoins, des expérimentations supplémentaires s'avèrent nécessaires, notamment sur l'activité inhibitrice in vitro contre le cholinestérase et le dépôt du peptide amyloïde, ainsi que sur la dégénérescence des neurones cérébraux induite par la composition en stilbène, afin de mieux comprendre son mécanisme d'action thérapeutique exact et d'envisager son développement en tant que candidat médicament pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Les travaux de [Wen, H. et al., 2018] ont révélé que les stilbénoides présentent des propriétés neuroprotectrices avérées. Par ailleurs, de nombreuses études [Cai, Y.J. et al., 2004 ; Murias, M. et al., 2005 ; Fulda, S., 2010] ont établi que l'activité antioxydante et antiproliférative des stilbénoides était directement liée à leur structure chimique.

## I.7.L'évaluation des activités Biologique

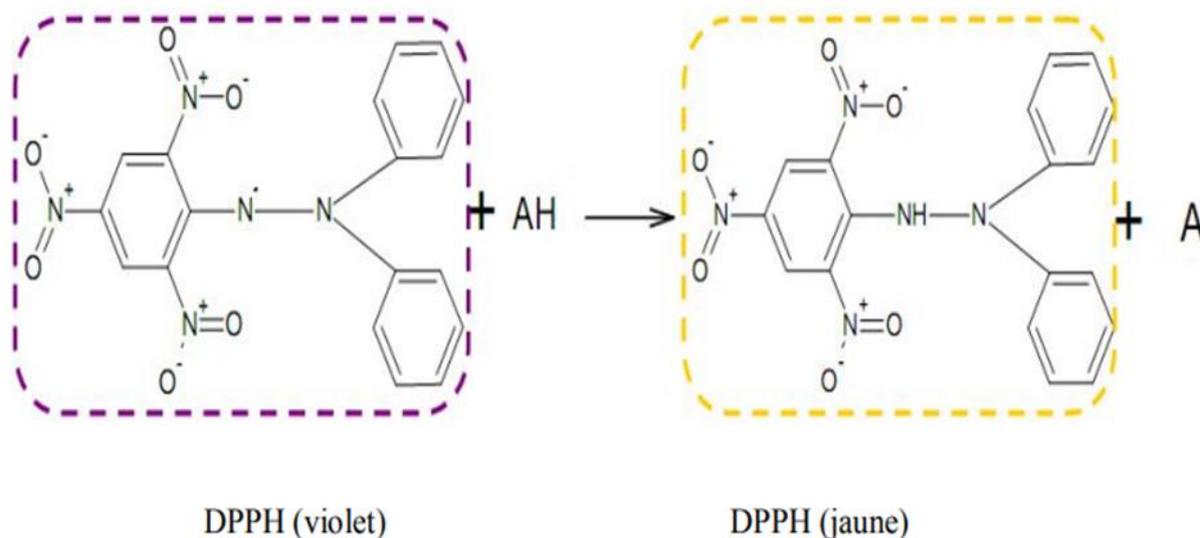
### I.7.1. Détermination de l'activité antioxydante

#### 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'évaluation du pouvoir anti-radicalaire de l'extrait des graines de *Passiflora edulis* a été réalisée selon la méthode au DPPH, conformément au protocole établi par [Lekhal et al., 2011]. Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre relativement stable qui, en présence de capteurs de radicaux libres, se réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune [Bozin et al., 2008]. Ainsi, lorsqu'une solution de DPPH<sup>•</sup> est mise en contact avec une substance donneuse d'hydrogène, autrement dit un antioxydant, il se forme la forme réduite 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine. Ce phénomène s'accompagne de la disparition de la coloration violette du DPPH pour une coloration jaune, caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm.



**Figure 37** : Structure chimique du radical DPPH<sup>•</sup> et de sa forme réduite

###### ➤ Protocole :

Dans une microplaque 96 puits, un volume de 160 µl de solution de DPPH (0,1 mM) a été mélangé avec 40 µl d'échantillon à différentes concentrations, chaque concentration étant testée en triplicat. Le mélange réactionnel a été maintenu à l'abri de la lumière et à température ambiante, avant de mesurer les absorbances à 517 nm. Le contrôle positif était

une solution d'acide ascorbique, un antioxydant de référence, préparée dans les mêmes conditions que l'échantillon, afin de tracer la courbe d'étalonnage.

Les plus faibles valeurs d'absorbance indiquent une activité de piégeage des radicaux libres plus élevée. L'activité antioxydante, traduisant la capacité de piéger le radical DPPH°, a été estimée par le pourcentage d'inhibition du DPPH.

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

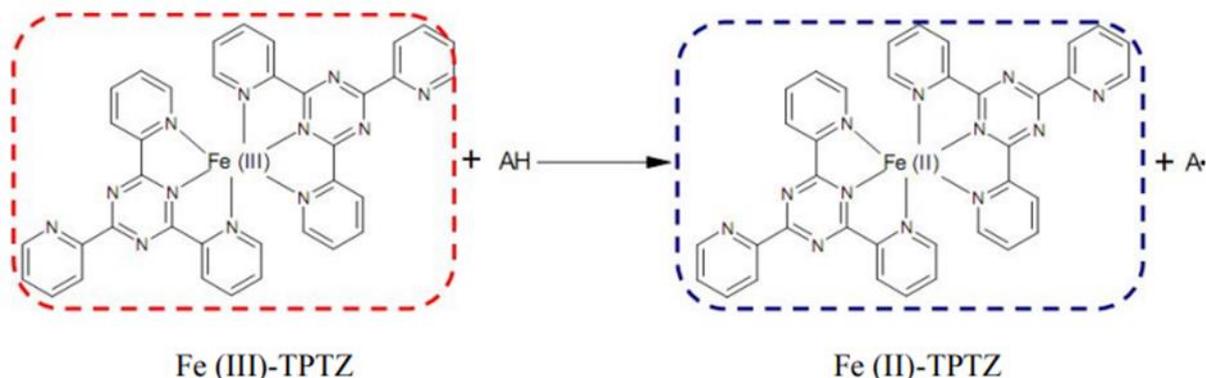
$$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test) / Abs\ contrôle] \times 100$$

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 :

L'évaluation du pouvoir réducteur de l'extrait a été réalisée selon la méthode décrite par [Benzie et Strain, 1996] et [Pulido et al., 2000 ; Agbodan et al., 2014], avec quelques adaptations. Cette approche repose sur la réduction d'un complexe ferrique tripyridyltriazine [(Fe(III)-TPTZ)<sub>2</sub>] en un complexe ferreux [(Fe(II)-TPTZ)<sub>2</sub>] par l'action d'un antioxydant (AH). Cette réaction s'opère à un pH de 3,6 afin de maintenir la solubilité du fer. (Fig. 38).



**Figure 38:** Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe (III)-TPTZ et un antioxydant (AH).

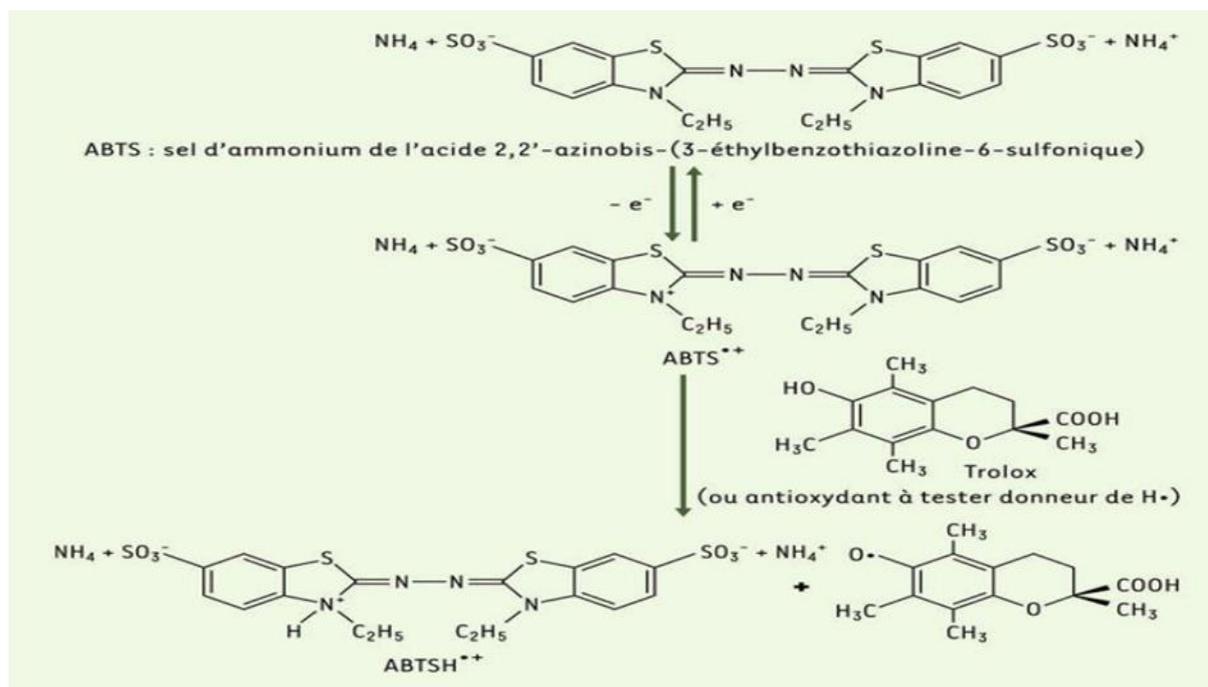
#### Protocole

Le réactif FRAP a été préparé en mélangeant, dans un rapport volumique de 10:1:1, trois solutions distinctes : une solution d'acétate de sodium 300 mM ajustée à pH 3,6, une solution de TPTZ (2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine) 10 mM dans de l'HCl 40 mM, et une solution de

FeCl<sub>3</sub> 20 mM. Ce mélange réactionnel FRAP a été conservé à 37 °C. Pour le test, un volume de 50 µl d'extrait a été mélangé avec 1500 µl de réactif FRAP. Après 6 minutes d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, les absorbances ont été mesurées à 594 nm. En parallèle, le sulfate de fer heptahydraté FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O à différentes concentrations a servi de contrôle positif, dans les mêmes conditions opératoires. L'activité antioxydante FRAP, exprimée en pourcentage d'inhibition des radicaux libres, a été calculée selon la même équation que 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) :

La méthode TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) est fondée sur la capacité d'un échantillon à piéger ou à transformer le radical cation ABTS<sup>•+</sup> (de couleur bleu-vert) en une forme ABTS<sup>•+</sup> moins colorée et plus stable. Cette décoloration est quantifiée par spectrophotométrie à 734 nm.



**Figure 39** : Formation et piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup> par un antioxydant donneur de H.

[Marc et al., 2004].

**Protocole**

L'analyse spectrophotométrique du piégeage du radical ABTS•+ a été réalisée selon la méthode décrite par **Re et al, en 1999**. Le radical ABTS•+ a été généré par la réaction entre une solution d'ABTS à 7 mM et une solution de persulfate de potassium à 2,45 mM, maintenue à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 12 heures. Cette solution a ensuite été diluée jusqu'à l'obtention d'une absorbance de  $0,708 \pm 0,025$  avant utilisation. Dans une microplaque 96 puits, 160  $\mu$ l de la solution d'ABTS•+ ont été mélangés avec 40  $\mu$ l de différentes concentrations de l'extrait testé. Après 10 minutes d'incubation, les absorbances ont été mesurées à 734 nm à l'aide d'un lecteur de microplaque.

Une courbe d'étalonnage a été établie en parallèle avec le Trolox, un antioxydant de référence, préparé dans les mêmes conditions que l'extrait.

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

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

### I.7.1.2. Résultats

Il existe de nombreuses méthodes pour évaluer l'activité antioxydante, qui se distinguent par leurs principes d'analyse et leurs conditions expérimentales. De plus, les différents antioxydants présents dans un échantillon contribuent de manière variable au potentiel antioxydant total [Wojdyło et al., 2007]. C'est pourquoi l'utilisation de plusieurs tests antioxydants complémentaires est recommandée afin d'évaluer de façon exhaustive le potentiel antioxydant de l'extrait des graines de *Passiflora edulis*.

L'emploi d'une batterie de tests antioxydants, chacun reposant sur un mécanisme d'action distinct, permet en effet d'appréhender plus finement les capacités antioxydantes de l'échantillon étudié. Cette approche multi méthodologique offre une vision d'ensemble plus représentative du potentiel antioxydant global de l'extrait de graines de *Passiflora edulis*.

Dans le cadre de notre étude, nous avons eu recours à trois méthodes distinctes pour évaluer in vitro l'activité antioxydante de *Passiflora edulis* : le test DPPH, le test ABTS et le test FRAP. Ces différentes approches reposent sur le même principe, à savoir le mélange d'espèces oxydantes, telles que des radicaux libres ou des complexes métalliques oxydés, avec un échantillon contenant des antioxydants capables d'inhiber la génération de ces espèces réactives [Prior et al., 2005]. Les antioxydants présents dans l'extrait peuvent agir selon deux mécanismes principaux : soit par transfert d'atomes d'hydrogène, soit par transfert d'électrons. L'utilisation complémentaire de ces trois méthodes nous a permis d'appréhender de manière plus exhaustive les capacités antioxydantes de *Passiflora edulis*, chaque test reflétant des aspects différents de son potentiel de piégeage des espèces oxydantes.

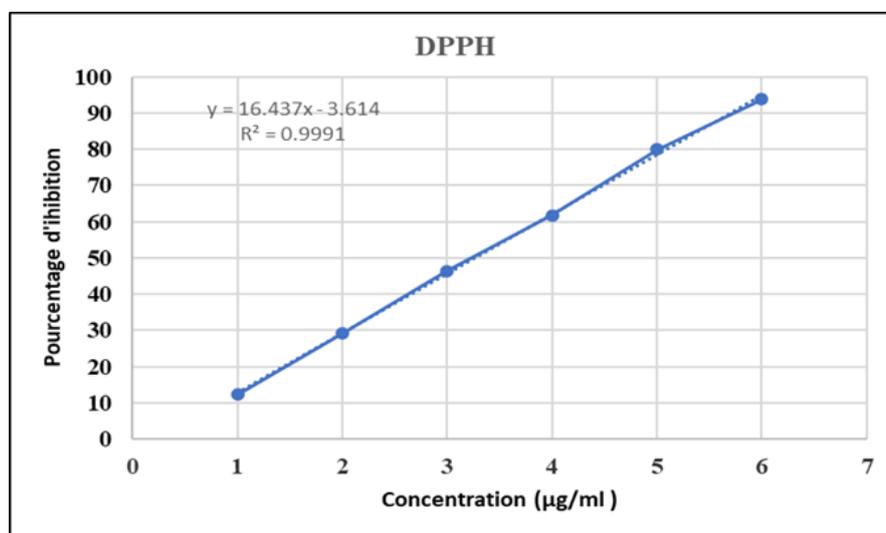
La concentration inhibitrice médiane (CI50) a été déterminée par régression linéaire à partir de la courbe représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait. Ce paramètre correspond à la concentration efficace de l'extrait requise pour piéger 50 % des radicaux libres présents dans le milieu réactionnel. Ainsi, plus la valeur de CI50 est faible, plus l'activité antioxydante de l'extrait est élevée.

Ce calcul de la CI50 permet donc d'évaluer de manière quantitative le potentiel de l'extrait à neutraliser les espèces radicalaires. Cette grandeur fournit une indication précise et standardisée de l'efficacité antioxydante, facilitant ainsi la comparaison entre différents extraits ou antioxydants de référence.

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

La capacité antioxydante totale de l'extrait a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage établie en utilisant l'acide ascorbique comme composé de référence. Cette courbe suit une équation linéaire de la forme  $16,437x - 3,614$ , avec un coefficient de détermination  $R^2$  de 0,9991. Les valeurs d'absorbance élevées obtenues pour l'acide ascorbique témoignent de son fort pouvoir antioxydant, servant ainsi de référence pour évaluer celui de l'extrait.

Les résultats du test de piégeage des radicaux DPPH de notre extrait acétonique de graines de *Passiflora edulis* montrent que celui-ci présente une activité antioxydante très importante, avec un pourcentage d'inhibition de 47,12 % et une concentration inhibitrice médiane (CI50) de 6,12  $\mu\text{g/mL}$ . Ces valeurs élevées indiquent une capacité remarquable de l'extrait à neutraliser les espèces radicalaires.

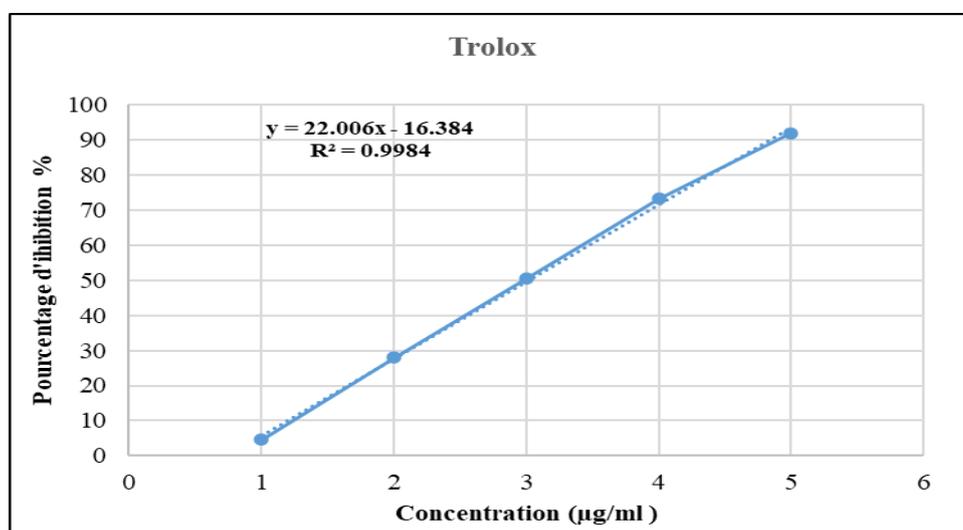


**Figure 40** : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la détermination de la capacité antioxydante de *Passiflora edulis*.

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

L'activité antioxydante de l'extrait acétonique des graines de *Passiflora edulis* a été également évaluée par le test des radicaux ABTS<sup>+</sup>. Les résultats obtenus ont révélé que cet extrait possède un pouvoir antioxydant élevé, avec un pourcentage d'inhibition de 34,18 % et une concentration inhibitrice médiane (CI50) de 6,82 µg/mL.

Ces données issues du test ABTS<sup>+</sup> viennent corroborer les conclusions du test DPPH, démontrant de manière complémentaire la forte capacité de l'extrait de graines de *Passiflora edulis* à neutraliser les espèces radicalaires. La cohérence des résultats entre ces deux méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante confirme le potentiel antioxydant remarquable de cet extrait.

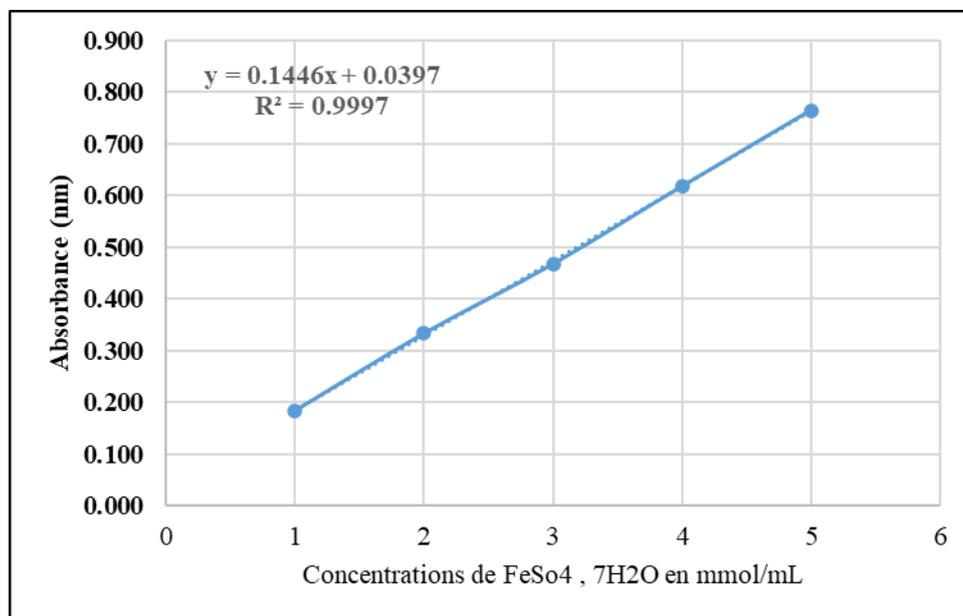


**Figure 41:** Courbe d'étalonnage de Trolox pour la détermination de la capacité antioxydante de *Passiflora edulis*.

### I.7.1.2.3. Détermination du pouvoir antioxydant du Fer

L'activité antioxydante de l'extrait des graines de *Passiflora edulis* a également été évaluée par la méthode de réduction du fer (FRAP). Cette technique permet de mesurer la capacité de l'extrait à réduire les ions Fe<sup>3+</sup> en ions Fe<sup>2+</sup>, l'un des principaux mécanismes d'action des antioxydants. C'est une méthode rapide, facile à mettre en œuvre et reproductible [Karagözler et al., 2008]. De nombreuses études récentes ont en effet démontré l'existence d'une relation directe entre les activités antioxydantes et le pouvoir réducteur de certaines plantes [Bentabet et al., 2014].

Les résultats obtenus, avec une valeur de  $24,36 \pm 1,890$ , indiquent que cet extrait de graines de *Passiflora edulis* possède une forte capacité antioxydante et chélatante du fer. Ces données confortent les observations précédentes issues des tests DPPH et ABTS+, confirmant le potentiel antioxydant remarquable de cet extrait.



**Figure 42** : Courbe d'étalonnage du sulfate ferreux heptahydraté (FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O).

### I.7.1.3. Discussion

*Passiflora edulis* communément appelé fruit de la passion, est une espèce à croûte violette et à saveur douce, largement cultivée et considérée comme l'un des fruits les plus économiques en Thaïlande. Sa production a notamment été développée dans la région de Chiang Rai, où a été installée la deuxième usine royale de transformation alimentaire. Les activités de production se sont principalement orientées vers la préparation de jus prêts à boire et de concentrés, générant ainsi des résidus composés des graines du fruit.

La valorisation des propriétés antioxydantes de ces graines de fruit de la passion représente un véritable défi, permettant à la fois de minimiser l'impact environnemental et d'obtenir des suppléments antioxydants à faible coût, potentiellement utilisables dans des applications cosmétiques [de Oliveira, A. C 2009 ; Schieber, A et al., 2001].

Concernant les résultats obtenus dans la présente étude, il convient de souligner la diversité des protocoles d'extraction décrits dans la littérature, rendant difficile la comparaison directe des données. Certains auteurs ont en effet montré que des ajustements des paramètres du processus d'extraction permettaient d'augmenter significativement les teneurs en composés phénoliques [de Santana et al., 2017].

À titre d'exemple, les travaux de [Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M. 2013] ont révélé que l'extrait de graines de fruit de la passion, obtenu à partir des résidus de production de jus par une extraction au méthanol sous reflux suivie d'une partition liquide-liquide, a montré une activité antioxydante différentielle en fonction de la polarité des fractions. Ainsi, la fraction la plus active s'est avérée être la fraction EtOAc, avec une valeur d'IC50 pour le test DPPH de  $2,7 \pm 0,2$ , indiquant un potentiel antioxydant particulièrement élevé pour cette fraction.

Ces résultats soulignent l'importance du processus d'extraction et de fractionnement dans l'optimisation de la récupération des composés antioxydants présents dans les graines de fruit de la passion. Le choix judicieux des solvants et des étapes de purification peut en effet permettre d'isoler de manière ciblée les fractions les plus riches en molécules antioxydantes, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives d'utilisation de ces résidus pour des applications valorisantes.

L'analyse qualitative et quantitative des extraits acétoniques a révélé des teneurs élevées en composés phénoliques et flavonoïdes, contribuant ainsi de manière significative au potentiel antioxydant de ces extraits. Cet effet antiradicalaire notable a pu être mis en évidence à travers les résultats des tests de piégeage des radicaux libres DPPH, FRAP et ABTS.

Lors de ces analyses, le radical DPPH, de couleur violette, et le radical ABTS, de couleur verte, ont vu leur absorption diminuer de manière marquée suite à l'ajout des extraits de graines de *Passiflora edulis*, se traduisant par un virage colorimétrique vers le jaune. Cette disparition progressive de la coloration atteste de la capacité des composés présents dans les extraits à neutraliser efficacement ces espèces radicalaires.

À partir de ces résultats, il a été possible de quantifier le pourcentage d'activité antioxydante et de piégeage des radicaux libres, démontrant ainsi le potentiel élevé des extraits de graines de fruit de la passion en tant que sources naturelles d'antioxydants.

Le test DPPH repose sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical DPPH, une espèce radicalaire stable contenant un électron célibataire 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 antioxydante, se convertissant ainsi en une forme plus stable de DPPH. Cette réduction se traduit par un virage de la couleur pourpre du DPPH vers une teinte jaune pâle. Plus la capacité de piégeage des radicaux libres d'un composé antioxydant est élevé, plus la solution de DPPH sera réduite, diminuant d'autant l'intensité de la coloration pourpre de l'échantillon.

Comme l'a souligné [Siddhuraju, P., & Becker, K. 2007], ce pouvoir réducteur du *Passiflora edulis* est principalement attribuable à la présence de groupements hydroxyle au sein des composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, qui agissent en tant que donneurs d'électrons. Cette activité réductrice permet de convertir les ions ferriques en ions ferreux, augmentant ainsi la quantité d'ions ferreux et renforçant le pouvoir réducteur global 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.

Les extraits des graines de *Passiflora edulis* ont démontré une relation dose-réponse pour l'ensemble des tests d'activité antioxydante. La réponse DPPH, exprimée par la valeur de CI50, a été calculée à partir de la courbe du pourcentage de récupération et comparée à celle de l'acide ascorbique, révélant une activité antioxydante très élevée pour l'extrait avec une CI50 de 6,12 µg/mL correspondant à un pourcentage de 47,12%. Cette activité remarquable peut être attribuée à la capacité des composés polyphénoliques présents dans l'extrait à céder des atomes d'hydrogène.

Nos résultats sont en phase avec ceux rapportés par [Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M 2013], qui ont indiqué que la fraction acétate d'éthyle présentait l'activité antioxydante la plus puissante (CI50-DPPH =  $2,7 \pm 0,2$   $\mu\text{g/mL}$ ), significativement ( $p < 0,05$ ) supérieure à celle de l'extrait aqueux des graines de *Passiflora edulis* (CI50-DPPH =  $177,8 \pm 1,3$   $\mu\text{g/mL}$ ).

De même, les travaux de [Purohit, S et al., 2021] ont montré que parmi les différents extraits de graines de *Passiflora edulis*, les extraits méthanoliques de YPFR ( $44,05 \pm 1,41$   $\mu\text{g/mL}$ ), YPFS ( $58,42 \pm 4,12$   $\mu\text{g/mL}$ ), PPFRR ( $126,56 \pm 0,53$   $\mu\text{g/mL}$ ) et PPFS ( $108,55 \pm 2,30$   $\mu\text{g/mL}$ ) présentaient la plus forte activité de piégeage des radicaux DPPH, suivis de leurs extraits acétoniques.

Bien que l'ABTS fonctionne selon un mécanisme antioxydant similaire au DPPH, le puissant capteur ABTS•+ doit soit donner un radical anionique, soit deux radicaux neutres, ou encore céder deux électrons pour neutraliser le radical cationique de l'ABTS•+ [Kanlayavattanakul, M., & Lourith, N. 2011]. Les composés phénoliques agissent comme des antioxydants secondaires ou préventifs en chélatant efficacement les ions métalliques sujets à l'oxydation dans les systèmes biologiques. Les groupes hydroxyles en position stratégique du cycle phénolique jouent un rôle crucial dans la chélation des ions métalliques [Craft, B. D et al., 2012].

L'activité antiradicalaire de l'extrait PES a également été évaluée par le test ABTS, permettant de déterminer sa valeur de CI50. L'extrait a montré une réponse élevée, avec une CI50 de  $6,82$   $\mu\text{g/mL}$  et un pourcentage d'inhibition de  $34,18\%$ . Ces résultats corroborent ceux rapportés par [Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M. 2013], qui ont indiqué que la fraction acétate d'éthyle présentait l'activité antioxydante la plus puissante (CI50-ABTS =  $9,0 \pm 0,0$   $\mu\text{g/mL}$ ), significativement ( $p < 0,05$ ) supérieure à celle de l'extrait aqueux des graines de *Passiflora edulis* (CI50-ABTS =  $15,4 \pm 0,0$   $\mu\text{g/mL}$ ).

Nos résultats concordent avec ceux rapportés par Purohit, S, qui a révélé que les extraits méthanoliques des graines de *Passiflora flavicarpa* (YPFS) ( $82,27 \pm 1,65$   $\mu\text{g/mL}$ ) et des graines de *Passiflora edulis* (PPFS) ( $68,24 \pm 3,14$   $\mu\text{g/mL}$ ) présentaient les valeurs de CI50 les plus faibles, traduisant ainsi leur activité antioxydante la plus élevée. Leurs extraits à l'acétone ont également montré une activité antioxydante importante, mais moindre que leurs homologues méthanoliques. En revanche, les extraits à l'acétate d'éthyle et aqueux se sont avérés moins efficaces sur le plan antioxydant [Purohit, S et al., 2021].

Par ailleurs, cette fraction à l'acétate d'éthyle a également présenté le plus fort pouvoir réducteur ferrique (EC 1 mM FeSO<sub>4</sub> = 2 813,9 ± 11,6) ainsi qu'un effet inhibiteur significatif de la tyrosinase (39,9 ± 0,0 % à 1 mg/mL). De plus, le facteur de protection solaire de cet extrait d'EtOAc était comparable à celui de l'acide férulique [Lourith et Kanlayavattanakul, 2013]. Dans le même ordre d'idées, d'autres études ont évalué l'extrait éthanolique des graines de *P. edulis*, concluant que ce sous-produit du jus de fruit de la passion représente une source intéressante de composés bioactifs. En effet, la fraction antioxydante de cet extrait agit comme un agent écran solaire avec une protection efficace contre les rayons UV, en plus de ses propriétés de blanchiment de la peau [Lourith et al., 2017]. Par ailleurs, une activité antioxydante ORAC de 41,67 ± 0,30 mmol ET/g a été rapportée pour un extrait méthanolique des graines de *P. edulis* [Vagula et al., 2019].

Plusieurs études ont rapporté les valeurs de CI50 des extraits de graines de *Passiflora edulis* obtenus avec différents solvants tels que l'éthanol, l'eau et l'acétate d'éthyle. Ainsi, les valeurs de CI50 pour le test DPPH se situaient entre 2,70 × 10<sup>-3</sup> et 0,18 mg de graines par mL, tandis que pour le test ABTS, elles se situaient entre 9,0 et 47,6 µg de graines par mL [dos Reis et al., 2018 ; Lourith et Kanlayavattanakul, 2013 ; Yepes et al., 2021].

Par ailleurs, le pouvoir antioxydant réducteur ferrique des graines de *Passiflora edulis* (PPF) a été déterminé entre 0,13 et 2,81 mg de graines par mL (EC1mM FeSO<sub>4</sub>), et le test ORAC a révélé une activité de 14,2 µmol d'équivalent Trolox par g d'extrait [dos Reis et al., 2018 ; Lourith et Kanlayavattanakul, 2013 ; Yepes et al., 2021].

Des études complémentaires ont également confirmé le potentiel antioxydant de *Passiflora edulis f. edulis purple*, en utilisant différentes méthodes d'extraction et de solvants sur d'autres parties de la plante. Ainsi, les valeurs de CI50 pour le test DPPH étaient de 32,93 µg d'extrait par mL et de 69,8 mg de pelure par mL, respectivement pour les extraits à l'eau chaude et à l'éthanol [Domínguez-Rodríguez et al., 2019 ; dos Reis et al., 2018].

Une étude comparative a montré que les extraits de pelures de *Passiflora edulis f. edulis purple* (PPF) obtenus par extraction à l'eau chaude sous pression présentaient une activité antioxydante DPPH plus élevée que ceux de *Passiflora ligularis* et de *Passiflora edulis f. flavicarpa*, avec des valeurs de CI50 respectives de 298,6 et 718,9 µg d'extrait par mL. Cependant, cette activité demeurait inférieure à celle des extraits de *Passiflora mollissima*, pour lesquels la valeur de CI50 était de 10,6 mg d'extrait par mL [Domínguez-Rodríguez et al., 2019].

Cependant, lorsque des extraits éthanoliques ont été utilisés, l'activité antioxydante mesurée par le test DPPH s'est avérée la plus faible pour les extraits de pelures de *Passiflora edulis f. edulis purple* (PPF), avec une valeur de CI50 de 69,8 mg de pelure par mL, contre 16,9 mg de pelure par mL pour *P. edulis f. flavicarpa* et 24,5 mg de pelure par mL pour *Passiflora caerulea* [dos Reis et al., 2018].

De plus, un extrait optimisé de PPF, contenant 5,77 mg de glucoside de cyanidine-3-O par gramme de pelure sèche, a révélé une capacité antioxydante mesurée par les tests DPPH et FRAP (pouvoir antioxydant réducteur ferrique) de respectivement 4,90 et 5,29  $\mu\text{mol}$  d'équivalent Trolox par gramme d'extrait. Ces valeurs dépassaient celles rapportées pour l'huile d'avoine, les vins blancs et les vins rouges [Herrera-Ramirez et al., 2020].

Dans la même étude, le test ABTS (dosage des cations radicalaires 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) a également montré une activité antioxydante plus faible pour l'extrait éthanolique de pelures de PPF, avec une valeur de CI50 de 93,7 mg de pelure par mL, comparativement à 22,2 mg de pelure par mL pour *P. edulis f. flavicarpa* et 29,5 mg de pelure par mL pour *Passiflora caerulea* [dos Reis et al., 2018].

Selon Fonseca et al. (2022), le manque de standardisation des méthodes utilisées pour évaluer le potentiel antioxydant, ainsi que les diverses conditions d'extraction appliquées, rendent difficile la comparaison des résultats entre les différentes fractions de *Passiflora edulis f. edulis purple* (PPF). Compte tenu de leur teneur plus élevée en composés phénoliques totaux (CPT), on s'attendrait à ce que l'activité antioxydante des pelures soit supérieure à celle de la pulpe et des graines. Cependant, les essais *in vitro* ne confirment pas cette hypothèse. Bien qu'une corrélation entre les CPT et la capacité antioxydante soit fréquemment observée, d'autres composés tels que les caroténoïdes ou les stérols, présents dans le PPF, peuvent également influencer cette activité biologique.

Les graines de *Passiflora edulis* sont en effet riches en antioxydants, notamment en polyphénols. Plusieurs études ont rapporté que l'extrait de graines présentait une forte activité antioxydante, mesurée par des tests tels que le DPPH, l'ABTS, la capacité de réduction ferrique, la capacité d'absorption des radicaux oxygénés et le test au  $\beta$ -carotène [de Santana et al., 2017 ; Lourith et Kanlayavattanakul, 2013 ; Yepes et al., 2021]. Santana et al, ont extrait les composants des graines de *Passiflora edulis* dans diverses conditions et ont étudié la corrélation entre leur teneur et l'activité antioxydante dans chaque condition.

Les travaux de **De Santana et al. (2017)** ont montré une corrélation positive entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante des extraits de *Passiflora edulis*, indiquant que les polyphénols sont un composant majeur responsable de cette activité. En comparant l'activité antioxydante de l'extrait de graines de *P. edulis* avec d'autres espèces de *Passiflora*, les valeurs de CI50 obtenues par le test DPPH étaient de 2,7 à 132,6 µg/mL pour *P. edulis*, 3,2 µg/mL pour *P. tripartita*, 73,9 µg/mL pour *P. ligularis* et 372,2 µg/mL pour *P. pinnatistipula* [**de Santana et al., 2017 ; Loizzo et al., 2019 ; Lourith et Kanlayavattanakul, 2013 ; Yepes et al., 2021**]. Pour le test ABTS, les CI50 étaient de 9,0 µg/mL pour *P. edulis*, 96,2 µg/mL pour *P. tripartita*, 23,9 µg/mL pour *P. ligularis* et > 1000 µg/mL pour *P. pinnatistipula*. Ces résultats suggèrent que l'activité antioxydante de *P. edulis* est supérieure ou au moins équivalente à celle des autres espèces de *Passiflora* étudiées.

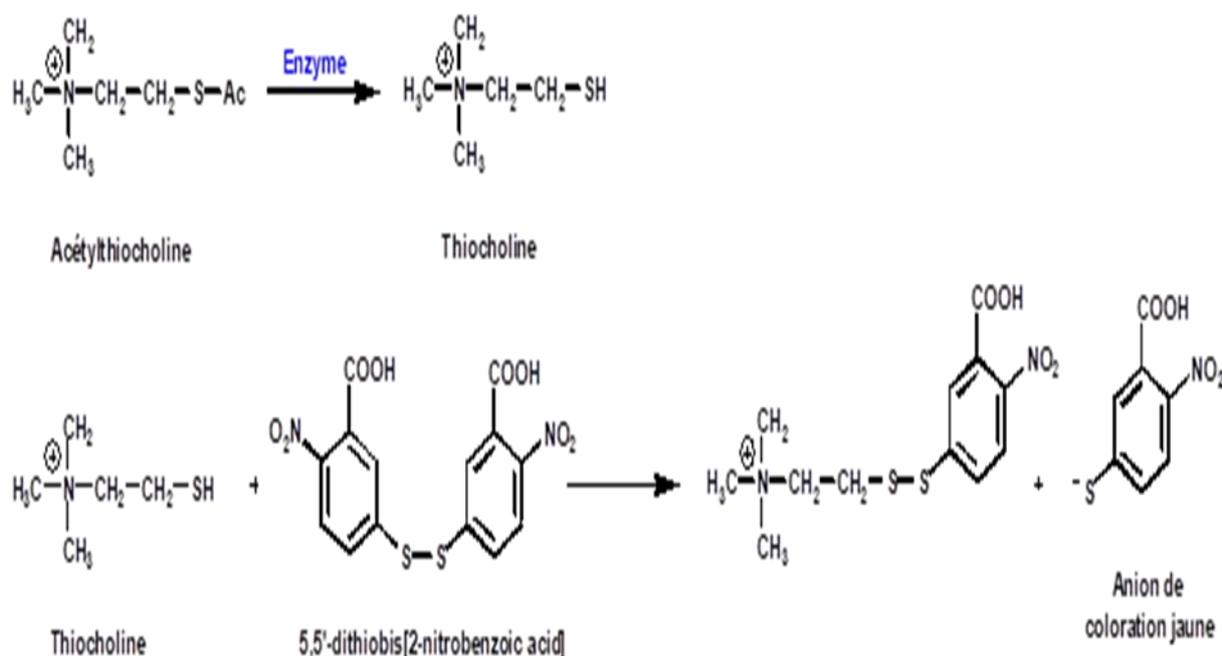
Les graines de *P. edulis* contiennent une quantité substantielle de picéatannol, un polyphénol reconnu pour ses propriétés antioxydantes [**Sano et al., 2011 ; Wen et al., 2018**]. Ce composé est donc considéré comme le principal responsable de l'activité antioxydante observée dans les extraits de graines. Dans un modèle de rat soumis à un stress oxydatif induit par la streptozotocine, l'administration d'extraits éthanoliques de la peau et des graines de *P. edulis* a exercé un effet protecteur sur le cœur, le foie et les reins en augmentant les niveaux de superoxyde dismutase et en diminuant les taux de substances réactives à l'acide 2-thiobarbiturique [**Kandandapani et al., 2015**]. Des efforts ont également été entrepris pour microencapsuler les extraits d'écorces et de graines de *P. edulis* afin de préserver et d'améliorer leur activité antioxydante *in vivo* [**Taborda et al., 2021**]. Les extraits microencapsulés ont conservé jusqu'à 60% de leur activité antioxydante initiale après le processus de digestion [**Taborda et al., 2021**]. Une autre étude a démontré que l'encapsulation de l'extrait de graines de *P. edulis* dans de l'amidon de riz acylé permettait également de maintenir l'activité antioxydante [**Yepes et al., 2021**]. La technologie des microcapsules semble donc être une approche efficace pour transporter ces extraits dans l'organisme tout en préservant leurs propriétés bénéfiques ou en les ciblant spécifiquement.

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

### ❖ Principe

L'activité anticholinestérasique a été évaluée selon un protocole inspiré de la méthode d'Ellman, avec quelques légères modifications. Ce test repose sur la capacité de l'acétylcholinestérase à dégrader l'acétylthiocholine, un analogue structural de l'acétylcholine. La thiocholine ainsi libérée réagit alors avec le 5,5'-dithiobisnitrobenzoate (DTNB) pour former un complexe coloré, le 5-thio-2-nitrobenzoate (TNB), présentant une coloration jaune stable à un pH de 7,8 et à température ambiante.

En présence d'un inhibiteur enzymatique, cette réaction est ralentie, permettant ainsi de quantifier l'inhibition de l'activité acétylcholinestérasique. Cette inhibition est généralement exprimée sous la forme de la valeur de CI50, soit la concentration de l'inhibiteur nécessaire pour diminuer l'activité enzymatique de moitié.



**Figure 43 :** Réaction colorimétrique d'Ellman

### ❖ Protocole

En effet, trois solutions tampons ont été préparées afin de mener à bien ces expériences. Le choix judicieux des systèmes tamponnés a permis de maintenir un environnement réactionnel optimal et constant, favorisant ainsi la reproductibilité et la fiabilité des résultats obtenus. L'utilisation de ces solutions tampons a notamment contribué à stabiliser le pH du milieu

réactionnel, garantissant ainsi des conditions expérimentales homogènes et contrôlées tout au long des analyses.

- 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 MgCl<sub>2</sub>.

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) a été mélangé avec 20 µl d'extrait et 25 µl de la solution enzymatique (AChE, 0,28 U/ml). Ce mélange a ensuite été incubé pendant 15 minutes à 37°C. Par la suite, 80 µl de solution d'acétylthiocholine iodée (ATCI, 0,15 mM) et 500 µl de réactif d'Ellman au DTNB (0,3 mM de 5,5'-dithiobisnitrobenzoate) ont été ajoutés. L'ensemble a alors été incubé pendant 30 minutes supplémentaires à 37°C et à l'abri de la lumière. Ces essais ont été répétés en triplicata. La galantamine a été utilisée comme composé de référence dans ces expériences.

La dégradation du substrat a été suivie par spectrophotométrie, en mesurant l'apparition de la coloration jaune caractéristique du complexe formé. Les absorbances ont été relevées à une longueur d'onde de 412 nm.

Le pourcentage d'inhibition de l'acétylcholinestérase a ensuite été déterminé en comparant le taux relatif de réaction des échantillons à celui de l'échantillon contrôle, selon la formule suivante :

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

I% : Le pourcentage d'inhibition

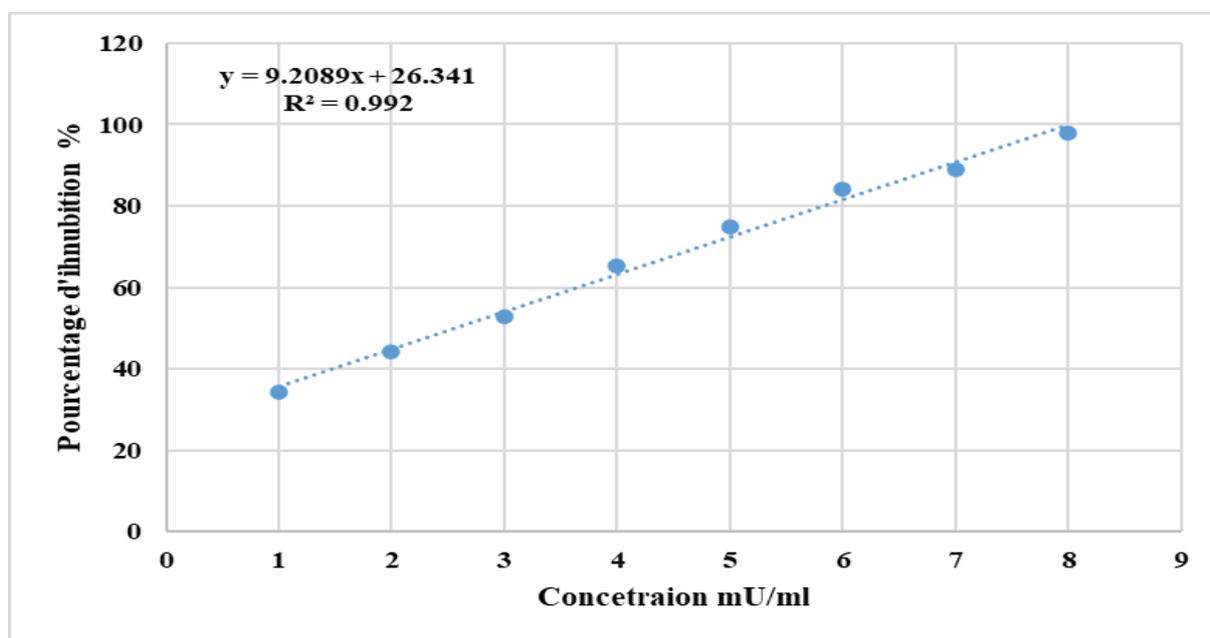
Ac : absorbance de la solution enzymatique en absence de l'extrait.

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

### I.7.2.1. Résultats

Les résultats ont révélé que la fraction acétonique des graines de *Passiflora edulis* possédait une capacité d'inhibition de l'activité acétylcholinestérasique, atteignant un pourcentage de 60,92 % à différentes concentrations testées. La valeur de CI50, soit la concentration nécessaire pour inhiber la moitié de l'activité enzymatique, a été estimée à 4,48 µg/ml pour cet extrait.

À titre de comparaison, la galantamine, utilisée comme composé de référence, a présenté une valeur de CI50 de 2,56 µg/ml. Cette dernière valeur souligne l'efficacité relative de la fraction acétonique de *Passiflora edulis* en tant qu'inhibiteur de l'acétylcholinestérase, bien qu'inférieure à celle de la galantamine. (**Fig. 44**)



**Figure 44** : pourcentage d'inhibition de l'acétylcholinestérase de galanthamine

### **I.7.2.2. Discussion**

L'étiologie de la maladie d'Alzheimer est étroitement liée à une déficience en un neurotransmetteur essentiel, l'acétylcholine (ACh). Ce dernier joue un rôle primordial dans la communication entre les neurones du cerveau [Pisani, L et al., 2019] et sa carence participe grandement à la progression de cette pathologie neurodégénérative.

L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme cérébrale qui décompose l'ACh en métabolites inactifs, la choline et l'acétate. Une activité accrue de cette enzyme peut donc entraîner une diminution significative des taux d'ACh, contribuant ainsi au développement de la maladie d'Alzheimer [Chiroma, S. M et al., 2019].

S'appuyant sur l'hypothèse cholinergique de la maladie d'Alzheimer, des médicaments ont été développés dans le but de restaurer les niveaux adéquats d'acétylcholine (ACh). Ces traitements, qualifiés d'inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChE), agissent en limitant l'action de cette enzyme, responsable de la dégradation de l'ACh [Giacobini, E 2000].

Grâce à cette approche, il est ainsi possible de contrecarrer la carence en ce neurotransmetteur essentiel, jouant un rôle clé dans les processus de communication neuronale altérés au cours de la maladie d'Alzheimer.

L'acétylcholinestérase (AChE) est largement considérée comme une cible thérapeutique de choix pour le développement de médicaments contre la maladie d'Alzheimer [Zhou et al., 2021]. En effet, cette enzyme joue un rôle central dans la pathogenèse de cette affection neurodégénérative, étant donné que la maladie d'Alzheimer se caractérise par une déficience en acétylcholine, un neurotransmetteur essentiel à la communication neuronale [Sahibzada, M. U. K et al., 2022]. Par conséquent, les stratégies visant à inhiber l'action de l'AChE constituent une approche prometteuse pour restaurer les niveaux appropriés d'acétylcholine et ainsi contrer les effets délétères de cette carence sur les fonctions cognitives.

En dépit du fait qu'ils ne permettent pas une guérison complète de la maladie d'Alzheimer, les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChE) demeurent la pierre angulaire du traitement de cette affection neurodégénérative [Pisani, L et al., 2019].

Bien qu'ils ne s'attaquent pas aux causes fondamentales de la pathologie, ces médicaments jouent un rôle essentiel dans la prise en charge palliative des patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Grâce à leur capacité à moduler les taux de neurotransmetteur acétylcholine, ils

contribuent à améliorer de manière significative les symptômes cognitifs et comportementaux associés à cette maladie complexe.

Dans une étude récente, **Dos Santos et al. (2021)** ont révélé que l'enrichissement d'un stilbène, le picéatannol, dans l'extrait des graines de *Passiflora edulis*, entraînait une diminution significative de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE). Cette observation suggère que la structure moléculaire particulière de ce composé lui permettrait d'entrer en compétition avec le substrat naturel de l'enzyme, l'acétylcholine, au niveau des sites anioniques et périphériques du site actif. Ce mécanisme d'action potentiel pourrait expliquer les effets inhibiteurs de ce stilbène sur l'AChE, une enzyme clé dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer.

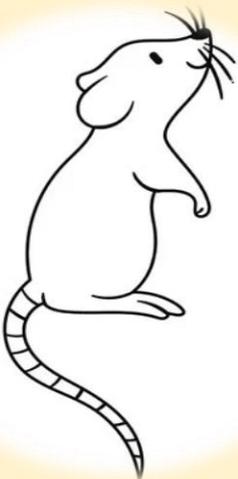
Outre le picéatannol, d'autres composés présents dans l'extrait de *Passiflora edulis* pourraient également avoir contribué aux effets inhibiteurs observés sur l'acétylcholinestérase (AChE) [**Dos Santos, L. C et al., 2021**]. En effet, la composition complexe de cet extrait végétal laisse supposer que plusieurs molécules bioactives pourraient agir de manière synergique pour moduler l'activité de cette enzyme clé dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer. Ainsi, l'enrichissement de cet extrait en picéatannol ne représenterait qu'une partie de l'explication de ses propriétés inhibitrices de l'AChE, d'autres principes actifs présents pouvant également jouer un rôle crucial dans ce mécanisme d'action.

De nombreuses études menées in vivo et in vitro ont souligné le potentiel thérapeutique des plantes médicinales dans le traitement des troubles neurologiques [**Ratheesh et al., 2017 ; Faheem et al., 2022**]. Ces travaux de recherche mettent en évidence les propriétés bénéfiques de certains extraits végétaux, qui pourraient s'avérer prometteurs pour la prise en charge de diverses affections du système nerveux. L'exploration approfondie des molécules bioactives issues de sources naturelles représente ainsi une voie de développement thérapeutique intéressante, notamment dans le domaine des maladies neurodégénératives complexes comme la maladie d'Alzheimer.

Dans le cadre de nos travaux, nous avons observé que la fraction des graines de *Passiflora edulis* exerçait une inhibition significative de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE). Ce résultat suggère que cet extrait végétal pourrait être envisagé comme une alternative prometteuse pour le développement de nouveaux traitements de la maladie d'Alzheimer. En effet, la capacité avérée de cette fraction à moduler l'activité de cette enzyme clé dans la pathogenèse de cette affection neurodégénérative en fait un candidat potentiellement intéressant

pour de futures investigations visant à concevoir des médicaments plus efficaces contre cette pathologie complexe.

*Chapitre II*  
*Etude in vivo*



## **II.1. Matériel animal**

Pour les besoins des expériences réalisées dans le cadre de cette thèse, des souris de la souche NMR, pesant en moyenne  $30 \pm 5$  g, ont été obtenues auprès de l'Institut Pasteur d'Alger. Ces animaux ont été hébergés dans l'animalerie du laboratoire de pharmacognosie et de phytothérapie de l'Université Abdelhamid Ibn Badis, où ils ont bénéficié d'un accès illimité à l'eau et d'un régime alimentaire standard sous forme de granulés, fournis par l'Office National des Aliments de Bétail (O.N.A.B) de Bouzeréa, Alger.

Avant le début de l'expérimentation, les souris ont bénéficié d'une période d'acclimatation de 14 jours dans l'animalerie, dans des conditions contrôlées. Celles-ci comprenaient un cycle nyctéméral de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité, ainsi qu'une température ambiante et un taux d'humidité favorables. Une attention particulière a été portée à la sélection d'animaux de taille et de tranche d'âge appropriées, afin de garantir l'homogénéité de l'échantillon pour toute la durée de l'étude.

## **II.2. Test de toxicité**

### **II.2.1. Principe**

Avant de procéder aux expérimentations, il est essentiel de rassembler toutes les informations disponibles sur l'échantillon à l'étude (substance testée), notamment son identification, sa structure chimique et ses propriétés physico-chimiques. Des essais de toxicité *in vivo* doivent également être réalisés afin d'évaluer le profil toxicologique de cet échantillon. Ces données toxicologiques sont cruciales pour apprécier la pertinence de l'étude et sélectionner la dose initiale et maximale appropriées.

Ces tests de toxicité ont été menés selon les recommandations de l'Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE, 2008). Ils consistent à administrer l'extrait à une gamme de doses, tout en maintenant un volume constant, et à observer individuellement les souris pendant les 30 premières minutes suivant l'administration, puis régulièrement au cours des 24 heures qui suivent, et enfin quotidiennement pendant 14 jours. Les paramètres évalués comprennent toute manifestation de toxicité, telle qu'une augmentation de l'activité, une salivation, des convulsions, un coma ou la mort.

**II.2.2. Protocole**

20 souris de souche NMRI, pesant en moyenne  $28 \pm 3$  g, a été réparti en 4 groupes distincts, comprenant chacun 5 souris.

L'extrait à l'étude a été administré par gavage intragastrique, en une dose unique, à l'aide d'une sonde gastrique. Avant l'administration, les souris ont été mises à jeûne, la nourriture étant supprimée 3 à 4 heures auparavant, tandis que l'accès à l'eau était maintenu. Après cette période de jeûne, les animaux ont été pesés, puis l'extrait leur a été administré, les doses étant calculées en fonction du poids corporel à jeun de chaque souris. Après le gavage, les souris ont pu être maintenues à jeun pendant 1 à 2 heures supplémentaires.

Lot 1 (n=5) : Les souris ont reçu l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à une dose de 100mg/kg ;

Lot 2 (n=5) : Les souris ont reçu l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à une dose de 200 mg/kg.

Lot 3 (n=5) : Les souris ont reçu l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à une dose de 1000mg/kg ;

Lot 4 (n=5) : Les souris ont reçu l'extrait des graines de *Passiflora edulis* à une dose de 2000 mg/kg.

### II.2.3. Résultats

Suite à l'administration unique de différentes concentrations (100, 200, 1000, 2000 mg/kg) de l'extrait acétonique des graines de *Passiflora edulis*, et après 14 jours d'observation, aucun signe de toxicité n'a été constaté. Les résultats sont récapitulés dans le tableau suivant (**Tableau 09**).

**Tableau 9** : Résultats de test de toxicité après 14 jours d'observation

	Extrait acétonique 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 des tests de toxicité réalisés, l'administration de l'extrait de *Passiflora edulis* n'a entraîné aucun signe de toxicité, ce qui permet de retenir les doses utilisées dans nos recherches, que ce soit in vivo ou in vitro. Ces conclusions rejoignent celles de nombreuses études antérieures, qui ont également démontré l'innocuité du fruit de *Passiflora edulis*, exempt d'effets secondaires indésirables.

Comme le soulignent **Devaki et al. [2012]**, la nature non toxique de l'extrait de *Passiflora edulis*, ainsi que l'absence de mortalité observée chez les rats, quelle que soit la voie d'administration et la dose sélectionnée, confirment son parfait profil de sécurité. Par ailleurs, selon les critères de **Clarke et Clarke [1997]**, tout composé ou médicament présentant une DL50 supérieure à 1000 mg/kg peut être considéré comme peu toxique et sûr. Dans ce contexte, le fait que l'extrait de *Passiflora edulis* se soit avéré sans danger jusqu'à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel atteste de son innocuité.

Nos résultats concordent avec ceux d'études antérieures menées par [Zbinden, G., & Flury-Roversi, 1981], [Maluf, E et al., 1991], [Afolayan, A. J., & Yakubu, M. T., 2009], [Cao, S et al., 2022] et [He, X et al., 2020]. Ces travaux ont également conclu que l'administration de l'extrait de *Passiflora edulis* n'entraînait aucune modification majeure des paramètres biochimiques, hématologiques ou des poids d'organes. Ils ont établi que l'ingestion orale de cet extrait, jusqu'à une dose de 2000 mg/kg, était parfaitement sûre, sans effet néfaste sur les fonctions rénales, hépatiques ou médullaires. De même, [Devaki, K et al., 2012] ont confirmé que différentes concentrations (100, 200, 300, 400 mg/kg) de l'extrait de *Passiflora edulis* ne présentaient ni hépatotoxicité ni néphrotoxicité chez les rats et les souris.

Par ailleurs, les travaux de [Anurangi et Shamina, 2018] ont montré que les paramètres hématologiques et le profil comportemental des souris, notamment les taux de globules blancs, globules rouges, hémoglobine, plaquettes, neutrophiles et lymphocytes, n'avaient subi aucune variation anormale suite à l'administration de cet extrait.

Dans leur étude de toxicité aiguë, [Rodríguez, Á. A. J et al., 2021] ont administré l'extrait éthanolique des graines de *Passiflora edulis* à la dose de 2000 mg/kg, sans observer aucun décès ni signe de toxicité chez les animaux. De plus, le gain de poids des groupes traités ne différait pas de celui du groupe témoin. L'examen autopsique n'a par ailleurs révélé aucune altération macroscopique des organes et tissus examinés.

Ces résultats attestent du parfait profil de sécurité de cet extrait de *Passiflora edulis*, même à des doses élevées, confortant ainsi les conclusions des études précédentes sur l'innocuité de cette plante.

Selon la classification de toxicité de la Communauté européenne [Commission des Communautés européennes, 1992], l'extrait des graines de *Passiflora edulis* est considéré comme un produit non classé, car aucun signe de mortalité ou de toxicité n'a été imputé à son administration. D'après ces résultats, nous pouvons donc affirmer que l'extrait évalué n'a pas induit de toxicité significative à la dose limite lors de l'essai de toxicité aiguë.

Ces conclusions offrent des perspectives intéressantes pour explorer davantage les utilisations cliniques potentielles du fruit de la passion. Néanmoins, des études complémentaires plus nombreuses et approfondies seront nécessaires, notamment sur sa biodisponibilité et sa toxicité à long terme chez l'animal et chez l'Homme.

### 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 réparties 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'AlCl<sub>3</sub> (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'AlCl<sub>3</sub> (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'AlCl<sub>3</sub> (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 terme des 90 jours d'expérimentation, les souris ont été soumises à une batterie de tests neurologiques afin d'évaluer les éventuels effets neuroprotecteurs de *Passiflora edulis*. À l'issue de ces évaluations comportementales, les cerveaux des animaux ont été rapidement prélevés, rincés à l'aide d'une solution saline froide et placés dans la glace.

Une fois les évaluations neurologiques achevées, les animaux ont été euthanasiés sous anesthésie. Trois cerveaux de chaque groupe expérimental ont alors été rapidement prélevés,

rincés à l'aide d'une solution saline réfrigérée, puis congelés à  $-80^{\circ}\text{C}$  en vue d'analyses biochimiques ultérieures.

En parallèle, deux autres cerveaux par groupe ont été fixés dans une solution de formaldéhyde à 10%, afin de permettre les examens histologiques.

Cette méthodologie rigoureuse a permis de préserver l'intégrité des échantillons en vue des examens histopathologiques ultérieurs, essentiels pour élucider les mécanismes d'action potentiels de l'extrait de *Passiflora edulis* sur le système nerveux central.

### **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 suit

**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 d'expérimentation, les souris ont été soumises à une batterie de tests comportementaux et cognitifs. Ceux-ci ont notamment évalué leurs capacités locomotrices, de mémorisation spatiale (labyrinthe à 8 bras), ainsi que leurs comportements liés à l'anxiété et à la curiosité (labyrinthe en croix surélevé, test noir/blanc).

À l'issue de ces évaluations neurologiques approfondies, les animaux ont été euthanasiés sous anesthésie. Trois cerveaux de chaque groupe expérimental ont été rapidement prélevés, rincés à l'aide d'une solution saline réfrigérée et congelés à -80°C en vue d'analyses biochimiques ultérieures.

Parallèlement, deux autres cerveaux par groupe ont été fixés dans une solution de formaldéhyde à 10% pour les examens histologiques.

Cette méthodologie rigoureuse a permis de caractériser finement les effets potentiels de l'extrait de *Passiflora edulis* sur les fonctions cognitives et la neuropathologie, grâce à l'intégration complémentaire de données comportementales, biochimiques et histologiques.

## **II.4. Les tests neurologiques**

### **II.4.1. Tests de comportement neurologiques**

L'évaluation comportementale constitue un élément essentiel pour appréhender l'état du système nerveux des animaux. Ces tests comportementaux permettent en effet de caractériser diverses dimensions du fonctionnement neurologique, telles que l'activité locomotrice, les comportements liés à la curiosité (test du trou) ou encore les niveaux d'anxiété [Zerrouki et al., 2012].

Cette analyse approfondie du répertoire comportemental des sujets expérimentaux fournit des informations précieuses sur les éventuels effets de la substance testée sur le système nerveux central.

#### **II.4.1.2. Activité locomotrice**

Ce test comportemental s'inspire de la méthodologie décrite par Hall et collaborateurs chez le rat [Hall et al., 1934]. Il repose sur l'instinct naturel des rongeurs à explorer un environnement inconnu, ce qui permet d'évaluer leur activité locomotrice. Au cours de ce test, le comportement de l'animal est observé pendant 5 minutes, réparties en quatre phases consécutives. L'animal est placé dans une boîte d'expérimentation de 32 x 32 cm<sup>2</sup>, vide et divisée en 16 carrés numérotés. L'activité locomotrice est alors quantifiée par le nombre de carrés visités par la souris. Afin de laisser le temps à l'animal d'explorer ce nouvel environnement, un temps de repos est aménagé entre chacune des quatre phases d'observation [Pittaras, 2011].

Cette méthodologie standardisée permet ainsi d'obtenir des données objectives sur les capacités locomotrices des sujets, reflétant potentiellement l'impact de la substance testée sur le fonctionnement neurologique.

#### **II.4.1.3. Curiosité (test de trous)**

Le test de la planche à trous a été spécifiquement conçu pour évaluer les comportements d'exploration d'un nouvel environnement chez la souris [Boissière et Simon, 1962]. Cette épreuve permet notamment d'étudier l'impact éventuel d'un traitement ou d'une intoxication sur ces comportements naturels. Le dispositif consiste en une plaque de bois de 60 x 45 cm, surélevée à 50 cm du sol et comportant 14 trous de 2 cm de diamètre, espacés de 5 cm. Au cours du test, le nombre de fois où la souris s'immerge dans ces trous est comptabilisé, sur 3 phases successives de 5 minutes chacune, avec une répétition.

Cette méthodologie standardisée offre une mesure objective de l'activité exploratoire des animaux, reflétant potentiellement les effets de la substance testée sur le fonctionnement du système nerveux central.

#### **II.4.1.4. Epreuve d'anxiété**

Dans le cadre de cette étude, deux épreuves complémentaires ont été mises en œuvre :

##### **II.4.1.4.1. Test de Double compartiment noir/blanc**

Le test de transition clair/sombre, ou "light/dark test", est une épreuve largement employée pour évaluer les comportements apparentés à l'anxiété chez les rongeurs. Ce test s'appuie sur leur tendance naturelle à explorer de nouveaux environnements, tout en manifestant une aversion pour les zones fortement éclairées [Crawley et Goodwin, 1980 ; Costall et al., 1989].

Lors de ce test, les souris sont initialement placées dans le compartiment lumineux, puis peuvent évoluer librement entre cette zone et un compartiment obscur. La durée totale passée dans le compartiment sombre est alors mesurée, sur quatre phases consécutives de 5 minutes chacune.

Cette approche standardisée permet d'obtenir une évaluation objective des comportements liés à l'anxiété des animaux, pouvant refléter l'impact éventuel de la substance testée sur le fonctionnement du système nerveux central.

##### **II.4.1.4.2. Labyrinthe en croix surélevée**

Le test du labyrinthe en croix surélevé constitue un outil d'évaluation des comportements liés à l'anxiété et à la prise de risque chez les animaux [Pellow et al., 1986]. Dans ce dispositif, les bras ouverts sont considérés comme plus anxiogènes et dangereux pour les rongeurs, car ils

sont lumineux et non-protégés du vide. Au début de l'épreuve, l'animal est placé au centre du labyrinthe et peut ensuite se déplacer librement pendant 5 minutes, sur quatre phases consécutives. Les mesures effectuées reflètent la tendance de la souris à explorer les zones ouvertes, potentiellement impactée par l'administration d'une substance expérimentale.

Cette approche standardisée permet ainsi d'obtenir une évaluation objective des comportements liés à l'anxiété et à la prise de risque, constituant un indicateur pertinent des effets centraux de la substance testée.

#### **II.4.1.5. Test de Porsolt (test de la nage forcée)**

Le test de Porsolt, également appelé "Forced Swimming Test" (FST), est un modèle comportemental largement utilisé pour prédire l'efficacité potentielle d'un traitement antidépresseur [Porsolt et al., 1977].

Ce test consiste à placer individuellement l'animal dans un bain d'eau tiède à 25°C. Après une phase initiale d'activité soutenue (phase d'adaptation), le rongeur finit par cesser de nager et adopter une posture d'immobilité, traduisant un comportement de désespoir.

L'immobilité de l'animal, définie par une flottaison horizontale avec de faibles mouvements permettant de maintenir la tête hors de l'eau, est alors chronométrée. Cette mesure du temps d'immobilité constitue un indicateur pertinent pour évaluer l'effet potentiel d'un traitement antidépresseur chez le modèle animal.

#### **II.4.2. Tests de mémoire**

##### **II.4.2.1. Le labyrinthe radiaire à huit bras**

Développé par **Wan et al. (1997)**, le labyrinthe radial à 8 bras est un outil largement utilisé dans les laboratoires d'étude du comportement animal. Il permet d'évaluer les capacités de mémoire spatiale, ainsi que la mémoire associée à des signaux motivationnels, tels que la nourriture dans la plupart des cas.

Ce dispositif se compose d'une zone centrale à 8 entrées, chacune donnant accès à un bras de même taille. Les ouvertures peuvent être contrôlées manuellement, permettant de guider les déplacements de l'animal et de mesurer ses performances mnésiques.

Cette approche standardisée constitue ainsi un moyen pertinent d'étudier les processus cognitifs, en lien notamment avec la motivation, chez les modèles animaux de laboratoire.

**II.4.2.1.1. Mémoire spatiale de travail (MST)**

Développé par **Olton (1981)**, le test du labyrinthe radial à 8 bras évalue les capacités de mémoire spatiale de travail chez la souris. Dans cette épreuve, l'animal doit rechercher de la nourriture au bout de chacun des 8 bras du dispositif, en évitant de revisiter les zones déjà explorées.

Lors de la phase d'apprentissage, étalée sur 4 jours, le nombre d'erreurs (visites répétées d'un même bras) est enregistré pour chaque sujet. Le cinquième jour correspond alors au test de mémoire spatiale proprement dit, au cours duquel les performances sont mesurées sur une période de 5 minutes.

Cette approche standardisée permet ainsi d'obtenir une évaluation objective des capacités de mémorisation et de navigation spatiale chez le rongeur, dans un contexte motivé par la recherche alimentaire.

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

Dans cette variante du labyrinthe radial, seuls deux des huit bras sont accessibles pour l'animal. La souris est placée au centre du dispositif, avec les deux voies d'exploration ouvertes simultanément, marquant ainsi le début du test. Au cours de la phase d'apprentissage, étalée sur 4 jours, le temps passé par l'animal dans le bras contenant de la nourriture est chronométré. Enfin, le cinquième jour correspond à l'évaluation de la mémoire spatiale de référence, au cours de laquelle les performances sont mesurées sur une période de 5 minutes.

Cette version simplifiée du labyrinthe radial permet ainsi d'étudier spécifiquement les capacités de mémorisation spatiale chez la souris, dans un contexte motivé par la recherche alimentaire.

**II.4.2.1.3. Distinction de position**

Ce test repose sur l'utilisation alternée de bras appâtés et non appâtés dans un labyrinthe radial à six voies. L'animal est d'abord placé sur la plateforme centrale, avec les six bras ouverts de manière séquentielle : trois contiennent de la nourriture (bras appâtés), les trois autres en sont dépourvus (bras non appâtés).

La phase de test proprement dite consiste alors en l'ouverture simultanée de paires de bras, l'un appâté et l'autre non. Le nombre de visites correctes des zones récompensées est comptabilisé comme indicateur de performance.

Ce protocole, répété sur 4 jours d'apprentissage, permet finalement d'évaluer, le cinquième jour, les capacités de discrimination spatiale de l'animal, au cours d'une session de test de 5 minutes.

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

Le test du labyrinthe aquatique de Morris fait partie des paradigmes les plus couramment utilisés pour évaluer l'apprentissage spatial et la mémoire chez les rongeurs. Développé par Richard Morris au début des années 1980, ce protocole a été décrit en détail par [Zerrouki et al., 2020]. La tâche consiste pour l'animal à localiser une plateforme refuge, invisible au sein d'un bassin rempli d'eau opacifiée par un colorant blanc. Pour y parvenir, le sujet ne peut se fier qu'à des indices spatiaux distaux hétérogènes présents dans la pièce.

Deux variantes sont classiquement employées :

\*En mémoire spatiale de référence (MSR), la plateforme est légèrement immergée, obligeant l'animal à faire appel à une représentation mentale de sa position.

\*En mémoire spatiale de travail (MST), la plateforme est quant à elle visible, permettant à la souris d'adopter une stratégie de guidage plus simple.

Ce test standardisé offre ainsi un moyen robuste d'étudier les capacités d'apprentissage et de navigation spatiale chez les rongeurs.

### **II.5. Etude histologique**

L'examen histopathologique a été réalisé à l'issue de l'expérimentation au sein du laboratoire « Pharmacognosie & Api-phytothérapie » de l'université Abd El Hamid Ibn Badis à Mostaganem, conformément au manuel de techniques d'anatomo-cytopathologie [Marck, 2010].

#### **II.5.1. Fixation**

Les encéphales sont prélevés puis immergés dans une solution de formol à 10% pour fixation.

#### **II.5.2. Macroscopie**

L'examen macroscopique détaillé constitue une étape cruciale de l'analyse des pièces opératoires. Chaque spécimen est ainsi minutieusement examiné, mesuré, pesé et palpé, avant d'être disséqué.

Pour chaque cerveau, des fragments sont prélevés et placés dans des cassettes d'inclusion, préalablement identifiées sur leur pourtour. Cette préparation des échantillons permet ensuite leur traitement en vue de l'analyse histologique.

L'évaluation macroscopique approfondie des pièces chirurgicales revêt une importance majeure, fournissant des informations précieuses sur les caractéristiques morphologiques des

tissus prélevés. Cette étape rigoureuse s'inscrit dans un processus d'étude global visant à caractériser finement les spécimens biologiques collectés

### **II.5.3. Imprégnation (circulation)**

Afin d'obtenir des coupes d'une épaisseur appropriée, il est nécessaire de durcir préalablement les tissus. Cette étape de renforcement mécanique s'appuie sur un processus d'imprégnation par une matière rigide, permettant de substituer l'eau contenue dans les échantillons.

La paraffine, solution hydrophobe chimiquement inactive, est ainsi communément utilisée pour ce procédé de déshydratation et d'inclusion des tissus.

Ce protocole de préparation histologique comporte plusieurs étapes successives à suivre avec rigueur afin d'assurer l'intégrité des spécimens et la qualité des coupes réalisées par la suite.

#### ❖ 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 4µm). 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.

### **II.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 vise à préserver la coupe histologique en la recouvrant délicatement d'une lamelle à l'aide d'une résine synthétique (solution EUKITT). Cela permet de la protéger de la dégradation chimique des colorants, qui s'oxydent au contact de l'air, ainsi que des dommages mécaniques.

La résine synthétique agit comme un liant, fixant fermement la lamelle sur la lame afin d'assurer une conservation optimale de l'échantillon.

**II.5.7. Lecture microscopique**

Les tissus étudiés sont observés au moyen d'un microscope optique, qui utilise la lumière visible, afin d'évaluer certaines formes ou anomalies cellulaires et tissulaires. Cette analyse microscopique est réalisée après une étape de coloration des tissus, laquelle permet de mettre en évidence l'état cellulaire et les différentes structures. La coloration à l'hématoxyline-éosine, en teignant les noyaux en mauve et le cytoplasme en rose clair, facilite grandement cette lecture microscopique.

Ainsi, l'examen photomicroscopique des échantillons colorés offre une vision détaillée de la morphologie cellulaire et tissulaire, révélant des informations précieuses pour l'évaluation des spécimens.

**II.6. Analyse statistique**

Les données expérimentales recueillies ont fait l'objet d'une analyse statistique approfondie, réalisée à l'aide du logiciel XLstat. Les mesures de quantification sont présentées sous la forme de "moyenne  $\pm$  SEM", où "n" désigne le nombre de sujets dans chaque groupe expérimental.

Un seuil de significativité inférieur à 0,01 indique un effet hautement significatif, tandis qu'une valeur comprise entre 0,01 et 0,05 révèle un effet significatif. À l'inverse, une probabilité supérieure à 0,05 suggère que l'effet n'est pas statistiquement significatif.

Cette analyse statistique rigoureuse permet d'évaluer avec précision la robustesse et la fiabilité des résultats obtenus lors des tests effectués, offrant ainsi une base solide pour l'interprétation des observations.

## 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 les propriétés neuroprotectrices de la fraction acétone riche en stilbènes issue des graines de *P. edulis*, des expériences comportementales ont été menées sur des modèles murins présentant des troubles cognitifs induits par l'administration de D-galactose et d'AlCl<sub>3</sub>.

Tous les paramètres comportementaux, tels que l'agressivité, la motricité, la somnolence, les réactions aux stimuli sonores, ainsi que les performances d'apprentissage et d'évasion dans un labyrinthe, ont été soigneusement évalués et rapportés.

Les résultats ont montré que, suite à l'induction par AlCl<sub>3</sub>/D-galactose, tous les groupes ont présenté une faible réactivité aux sons, une diminution de l'activité locomotrice et une sédation remarquable au cours des trois premières semaines (**Tableau 08**). De manière générale, une baisse de l'agressivité a été observée dans les groupes traités par la fraction acétone riche en stilbènes (doses de 100 et 200 mg/kg p.c.) et dans le groupe témoin positif recevant la rivastigmine, et ce, durant les trois premières semaines de l'étude.

L'exposition chronique à l'AlCl<sub>3</sub> a entraîné des altérations significatives dans le groupe pathologique, les souris présentant une lenteur des mouvements, une sédation accrue et une diminution des réactions aux stimuli sonores et de l'agressivité.

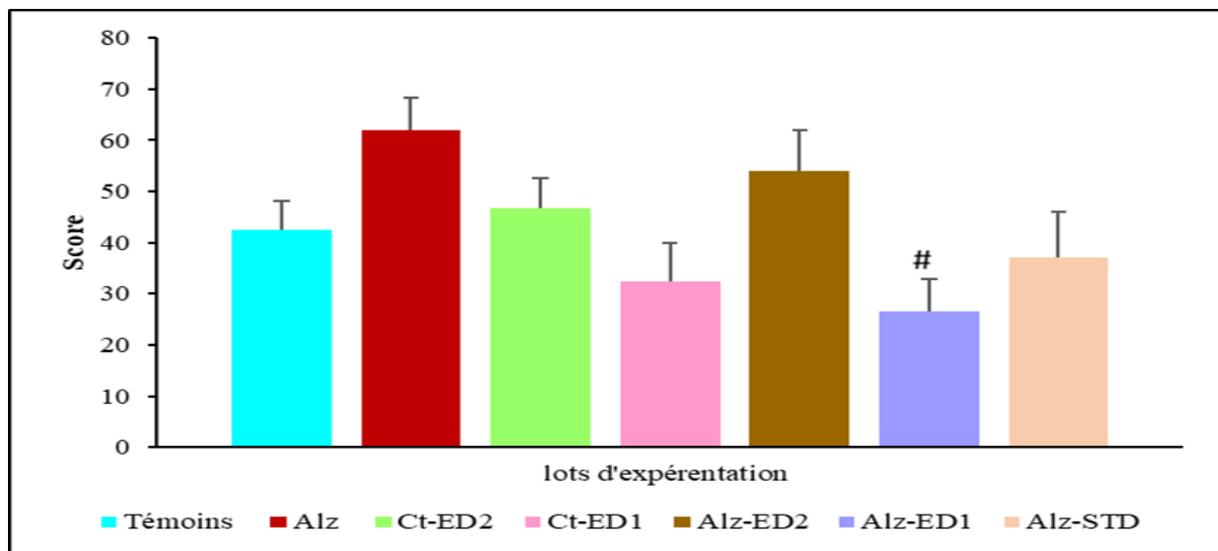
**Tableau 10** : Effets sur le comportement animal de la fraction acétone riche en stilbène des graines de *P. edulis* (PEAS) éliminées de l'huile.

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

### II.7.1.1.1. Activité Locomotrice :

Les données de la figure 45 révèlent que tous les groupes ayant reçu soit l'extrait des graines de *Passiflora edulis*, soit le traitement de référence à la rivastigmine, ainsi que le groupe témoin, ont présenté une hypoactivité marquée en comparaison du groupe Alzheimer, lequel a affiché une hyperactivité significative ( $p \leq 0,01$  par rapport au groupe AlZ-ED1).

Ce constat met en évidence les effets bénéfiques des traitements testés sur l'amélioration des paramètres comportementaux dans ce modèle murin de troubles cognitifs. La fraction issue des graines de *Passiflora edulis* semble ainsi démontrer des propriétés neuroprotectrices prometteuses, tout comme le traitement de référence à la rivastigmine, en normalisant l'activité locomotrice par rapport au groupe souffrant de la pathologie induite. (Fig. 45)

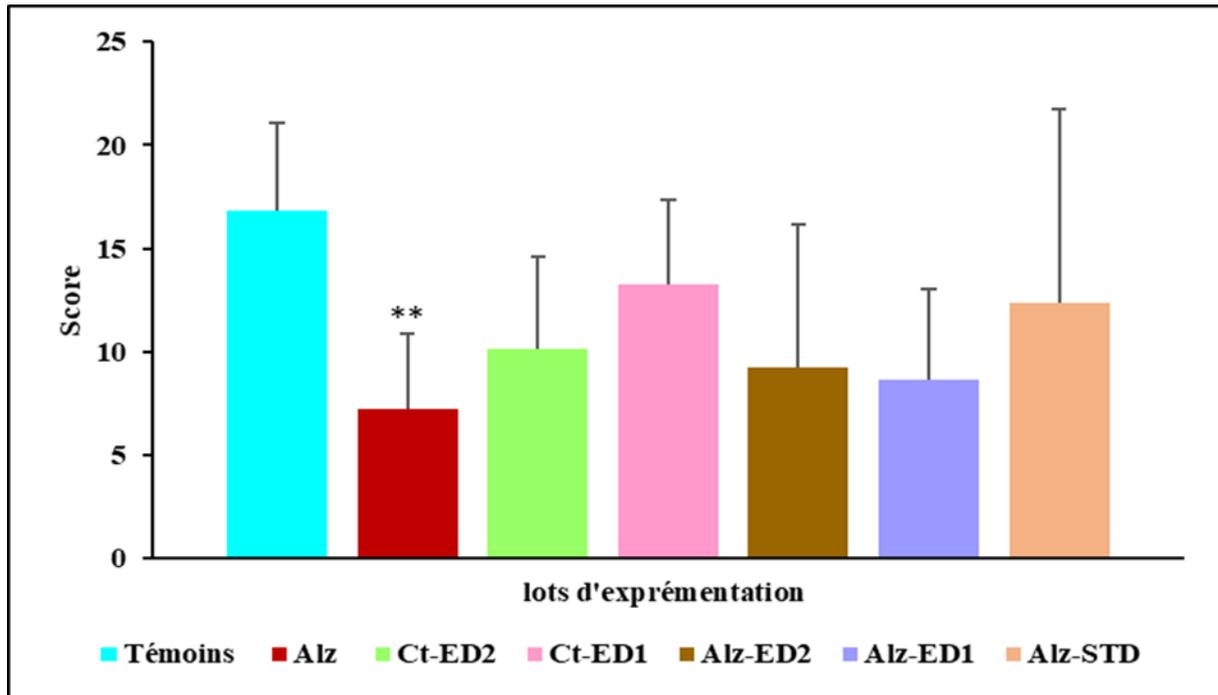


**Figure 45** : Effet de PES sur l'activité locomotrice chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 90 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 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.7.1.1.2. Test de curiosité (test de trous)**

Après 45 jours de traitement suivis de 45 jours d'induction de la maladie d'Alzheimer, les résultats montrent que les souris de tous les groupes expérimentaux présentent une diminution marquée de la curiosité par rapport au groupe témoin, avec une différence hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) comparativement au groupe Alzheimer.

Cependant, les groupes traités avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* et avec la rivastigmine ont conservé une curiosité nettement supérieure à celle du groupe Alzheimer, comme l'illustre la figure 46. Ces observations suggèrent que les traitements testés, qu'il s'agisse de l'extrait végétal ou du médicament de référence, ont permis de préserver partiellement les capacités d'exploration et de curiosité chez ces modèles animaux, comparativement à la détérioration observée dans le groupe présentant la pathologie induite de façon expérimentale. **(Figure 46).**



**Figure 46** : 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<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 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).

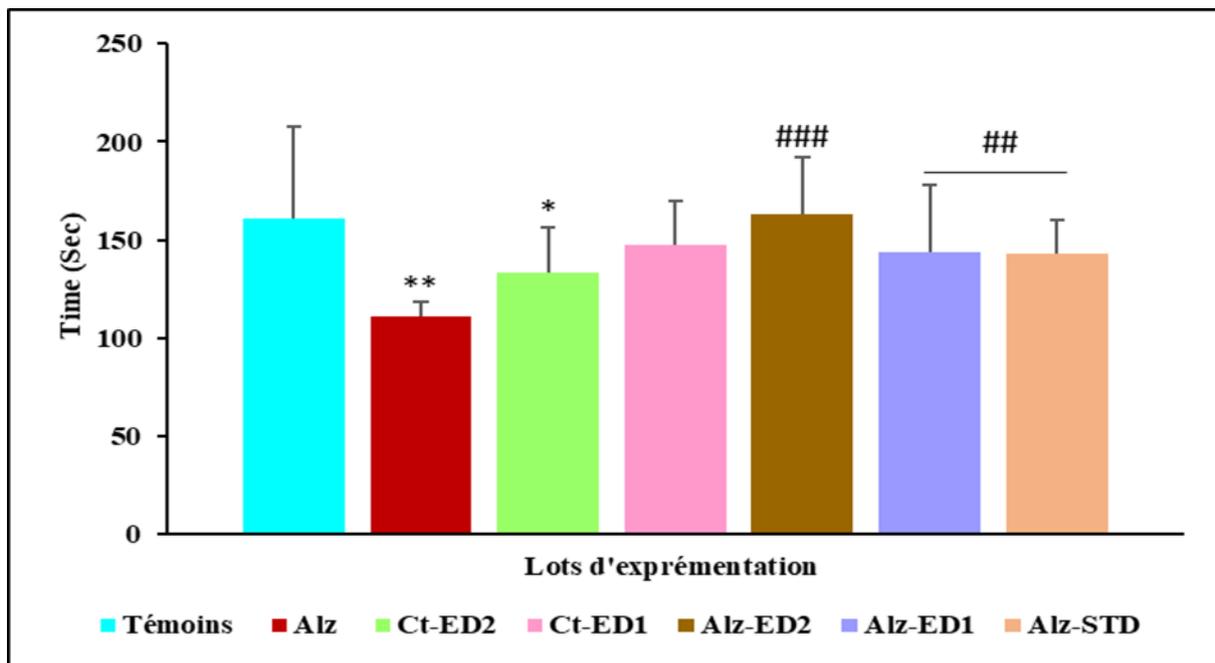
### II.7.1.1.3. Epreuve d'anxiété

#### II.7.1.1.3.1. Double compartiment noir/blanc

D'après les résultats présentés dans la figure 47, le traitement à l'extrait cétone des graines de *Passiflora edulis* induit une augmentation marquée du comportement anxieux, hautement significative pour le groupe ALZ-ED2 ( $p \leq 0,001$ ) et très significative pour les groupes ALZ-ED1 et ALZ-STD ( $p \leq 0,01$ ), en comparaison du groupe Alzheimer.

En revanche, le groupe Alzheimer traité au chlorure d'aluminium et au D-galactose manifeste une préférence très significative ( $p \leq 0,01$ ) pour le compartiment blanc, en comparaison du groupe témoin.

Ces observations suggèrent des effets différentiels des traitements sur les comportements liés à l'anxiété dans ce modèle murin de la maladie d'Alzheimer. L'extrait de *Passiflora edulis* semble exacerber l'anxiété, tandis que le traitement de référence induit une plus grande exploration du compartiment anxiogène, possiblement en lien avec les altérations cognitives induites par le modèle pathologique. (Fig. 47)



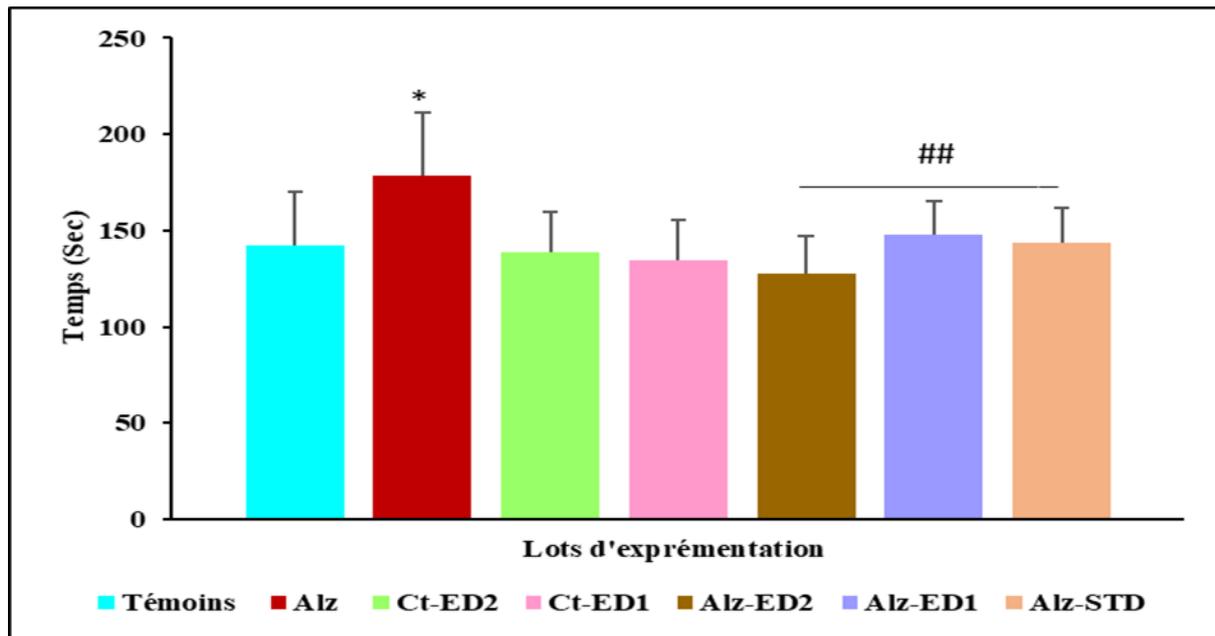
**Figure 47:** Effet de PES sur l'activité de Double compartiment noir/blanc chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 90 jours, CT- ED1 : contrôle témoin traité 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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**

D'après les résultats de ce test, on observe une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) du temps passé dans les bras ouverts (traduisant une prise de risque plus élevée) chez le groupe Alzheimer, en comparaison du groupe témoin et des groupes traités.

À l'inverse, la prise de risque est plus faible chez les groupes ayant reçu l'extrait des graines de *Passiflora edulis* (ALZ-ED1, ALZ-ED2) ainsi que chez ceux traités à la rivastigmine (ALZ-STD), par rapport aux souris du modèle Alzheimer. Cette différence est très significative ( $p \leq 0,01$ ).

Ces observations indiquent que les traitements testés, qu'il s'agisse de la fraction végétale ou du médicament de référence, semblent avoir permis de normaliser les comportements liés à la prise de risque chez ces modèles animaux de la maladie d'Alzheimer, en comparaison de l'hyperactivité observée dans le groupe présentant la pathologie induite de manière expérimentale. **(Fig. 48)**



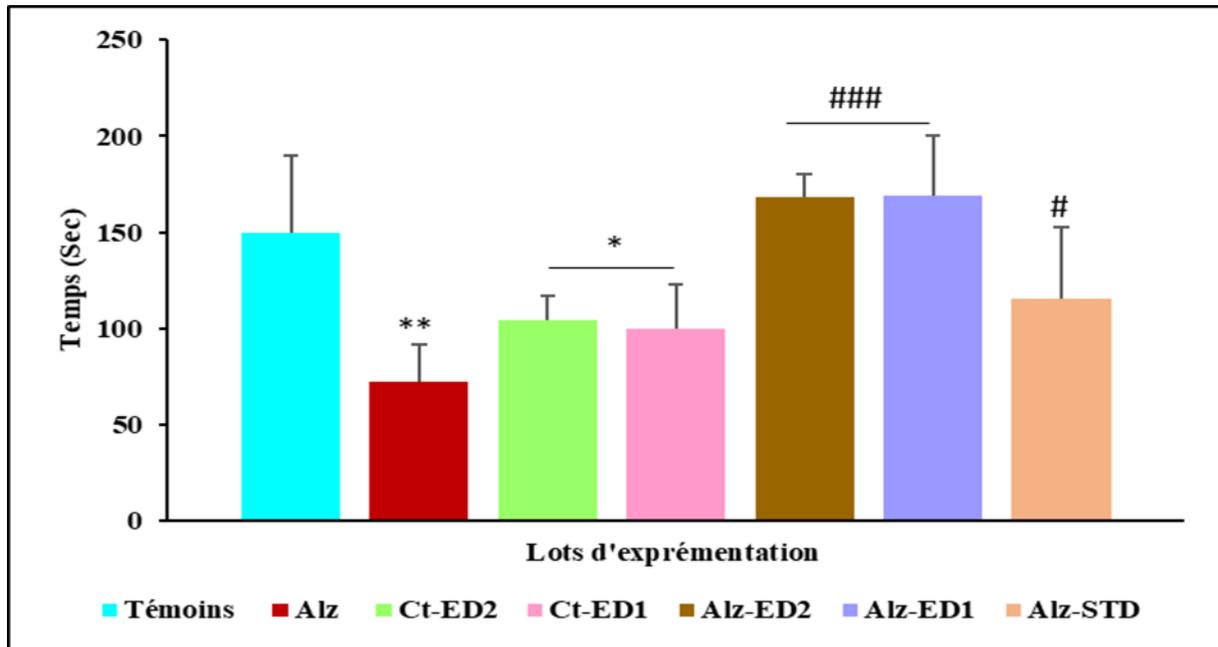
**Figure 48 :** Effet de PES sur l'activité de test de labyrinthe en croix surélevée chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 90 jours , , CT-ED1 : contrôle 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 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.7.1.1.4. Test de Porsolt (test de la nage forcée)

L'évaluation de l'effet anxiolytique de *Passiflora edulis* à l'aide du test de Porsolt révèle que le traitement au chlorure d'aluminium et au D-galactose diminue le temps d'immobilité chez les souris du modèle Alzheimer, indiquant une augmentation des comportements d'anxiété.

À l'inverse, le traitement par l'extrait des graines de *Passiflora edulis* entraîne une hausse très significative ( $p \leq 0,001$ ) du temps d'immobilité, ainsi qu'une augmentation significative ( $p \leq 0,05$ ) par rapport au groupe Alzheimer. Ces résultats suggèrent que l'extrait de *Passiflora edulis* possède des propriétés anxiogènes dans ce modèle murin de la maladie d'Alzheimer, en contraste avec l'effet anxiolytique observé dans le groupe traité avec le modèle pathologique de

référence. Ces observations soulignent les effets différentiels des traitements sur les comportements liés à l'anxiété dans ce contexte expérimental. (Fig. 49)



**Figure 49** : 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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale) pour 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).

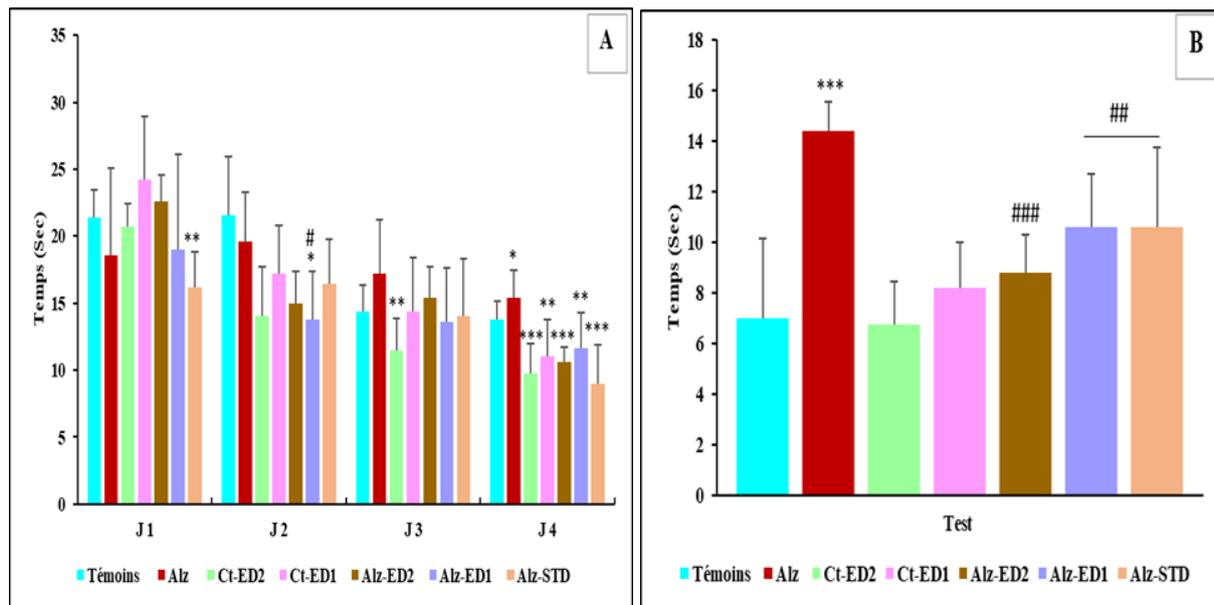
## II.7.1.2. Tests de mémoire

### 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 d'évaluation de la mémoire de travail spatiale ont révélé que le nombre de visites répétées dans le même couloir (soit le nombre d'erreurs) était significativement plus élevé chez les souris du modèle Alzheimer (Alz) avec un score de 15, comparativement aux autres groupes. En effet, les groupes traités par l'extrait de *Passiflora edulis* (Alz-ED2 et Alz-ED1) ainsi que le groupe recevant la rivastigmine (Alz-MST, 1 mg/kg) ont obtenu des scores nettement plus faibles, respectivement de 7, 9 et 11, se rapprochant de celui du groupe témoin.

Ces données indiquent que les traitements testés, qu'il s'agisse de la fraction végétale ou du médicament de référence, ont permis d'améliorer les performances des animaux dans cette tâche évaluant les capacités de mémoire de travail spatiale, en comparaison du groupe présentant le modèle pathologique de la maladie d'Alzheimer. (Fig. 50)

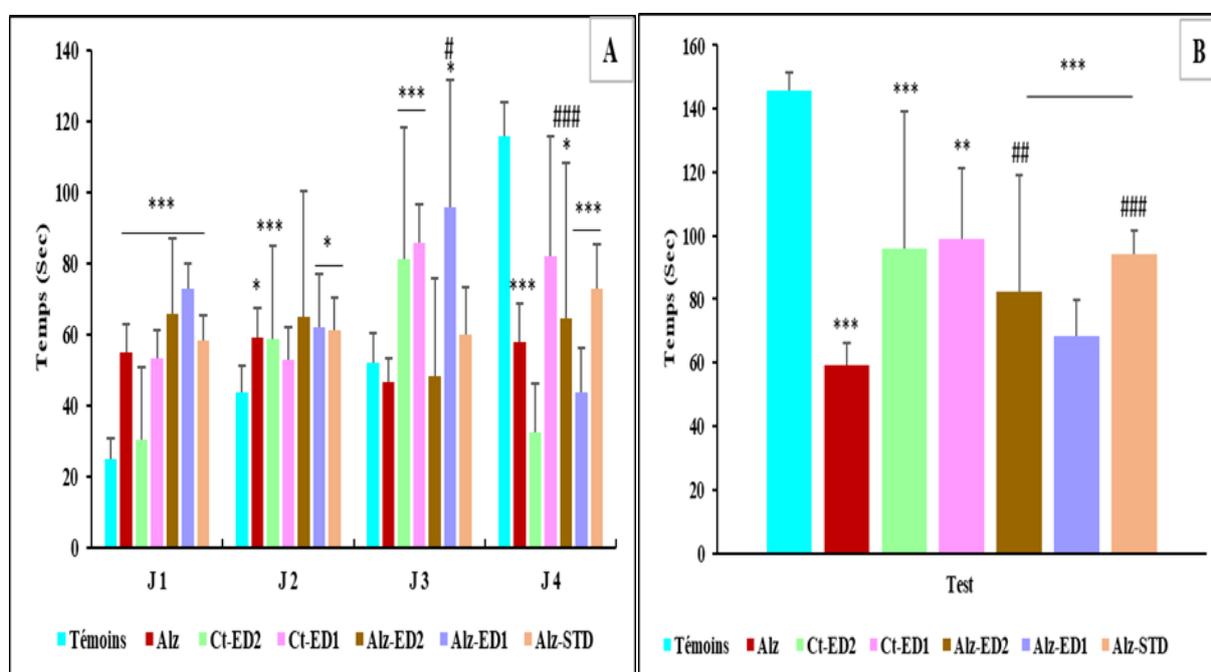


**Figure 50** : l'effet de PES sur la mémoire spatiale de travail (MST). a : Mémoire spatiale de travail (4 jours d'apprentissage) ; b : test de mémoire spatiale de travail (MST) ; C : Contrôle ; Alz : Souris modèle de la maladie d'Alzheimer (administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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 ont passé nettement plus de temps (145 secondes) dans le bras éclairé, comparé aux groupes Alzheimer (Alz), Alz-ED2, Alz-ED1 et Alz-STD, qui y sont restés respectivement 60, 85, 70 et 95 secondes. Cette différence est très significative ( $p \leq 0,001$ ). De plus, le temps de séjour dans le bras éclairé est significativement plus long ( $p \leq 0,001$ ) chez les souris Alzheimer traitées avec Alz-ED2 et Alz-STD, comparé au groupe Alzheimer non traité.

Ces résultats indiquent que les traitements à base d'extrait de *Passiflora edulis* (Alz-ED2) et de rivastigmine (Alz-STD) ont permis d'améliorer les performances de mémoire spatiale de référence chez ces modèles de la maladie d'Alzheimer, en comparaison du groupe présentant la pathologie non traitée. (Fig. 51)

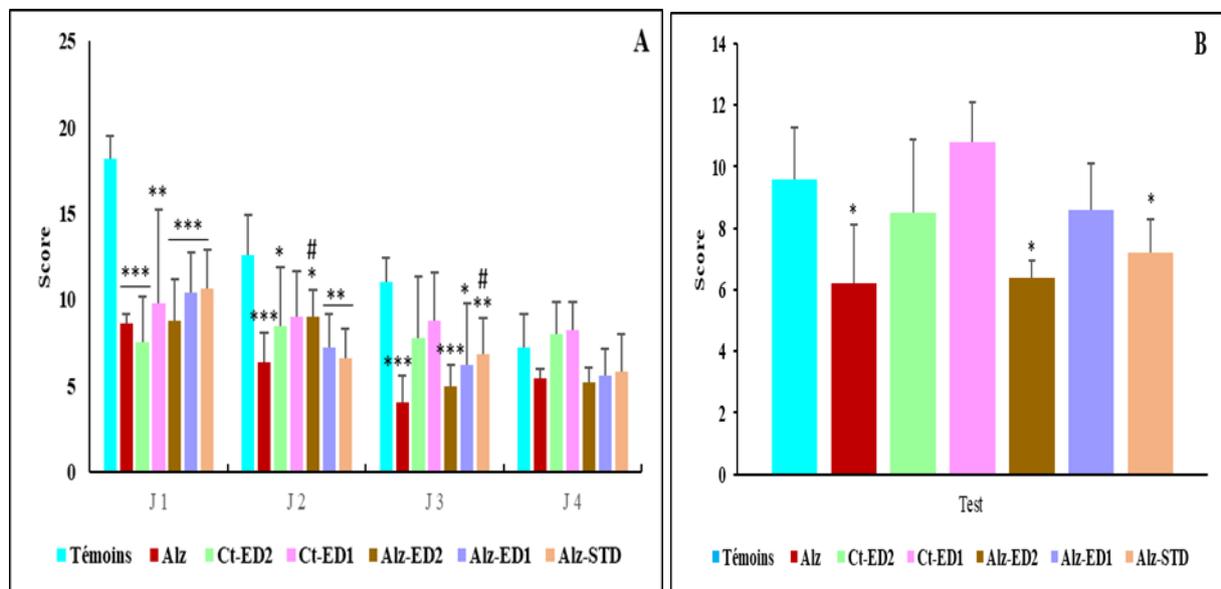


**Figure 51:** l'effet de PES sur la mémoire spatiale de Référence (MSR). a : Mémoire spatiale de référence (4 jours d'apprentissage) ; b : test de mémoire spatiale de référence (MSR) ; C : Contrôle ; Alz : Souris modèle de la maladie d'Alzheimer (administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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.7.1.2.1.3. Distinction de position

Le test d'évaluation de la distinction de position a révélé que les souris du groupe témoin ont effectué un plus grand nombre de visites des bras appâtés, avec un score de 9,5, contre seulement 6 pour les souris du modèle Alzheimer. Cette différence est très significative ( $p \leq 0,001$ ). En revanche, les groupes de souris Alzheimer ayant reçu un traitement, que ce soit avec l'extrait de *Passiflora edulis* (Alz-ED2 et Alz-ED1) ou avec la rivastigmine (Alz-STD), ont affiché des scores de visites des bras appâtés plus élevés, respectivement 8, 8,5 et 7, présentant une différence significative ( $p \leq 0,05$  et  $p \leq 0,001$ ) par rapport au groupe Alzheimer non traité.

Ces résultats indiquent que les traitements testés ont permis d'améliorer les performances des animaux dans cette tâche évaluant les capacités de distinction de position spatiale, par rapport au groupe présentant le modèle pathologique de la maladie d'Alzheimer. (Fig. 52)



**Figure 52** : 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 (AlCl<sub>3</sub>) à 100 mg/kg associée à 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<sub>3</sub> (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).

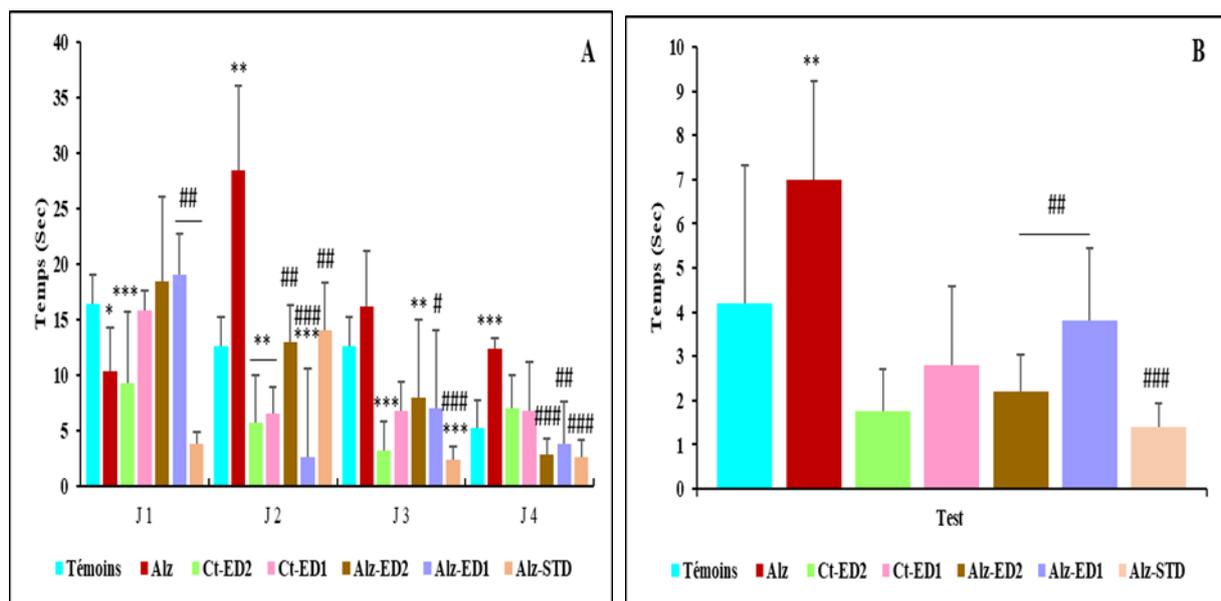
## II.7.1.2.2. Piscine de Morris

### II.7.1.2.2.1. Mémoire spatiale de travail (MST)

Lors de la session test du paradigme de la piscine de Morris évaluant la mémoire spatiale de travail, les souris témoins ont mis 4 secondes en moyenne pour localiser la plateforme visible.

Les souris atteintes de la maladie d'Alzheimer et traitées avec les extraits de *Passiflora edulis* (Alz-ED1 et Alz-ED2) ont, quant à elles, mis respectivement environ 3,5 et 2,5 secondes pour réaliser cette tâche. De manière encore plus remarquable, les souris du groupe recevant la rivastigmine (Alz-STD) n'ont mis que 1,5 seconde, soit un temps significativement plus court ( $p \leq 0,001$ ) que celui du groupe Alzheimer non traité, qui a mis 7,5 secondes.

Ces résultats indiquent que les différents traitements testés, et en particulier la rivastigmine, ont permis d'améliorer de façon notable les performances de mémoire spatiale de travail chez ces modèles animaux de la maladie d'Alzheimer, en comparaison du groupe présentant la pathologie non traitée. (Fig. 53).



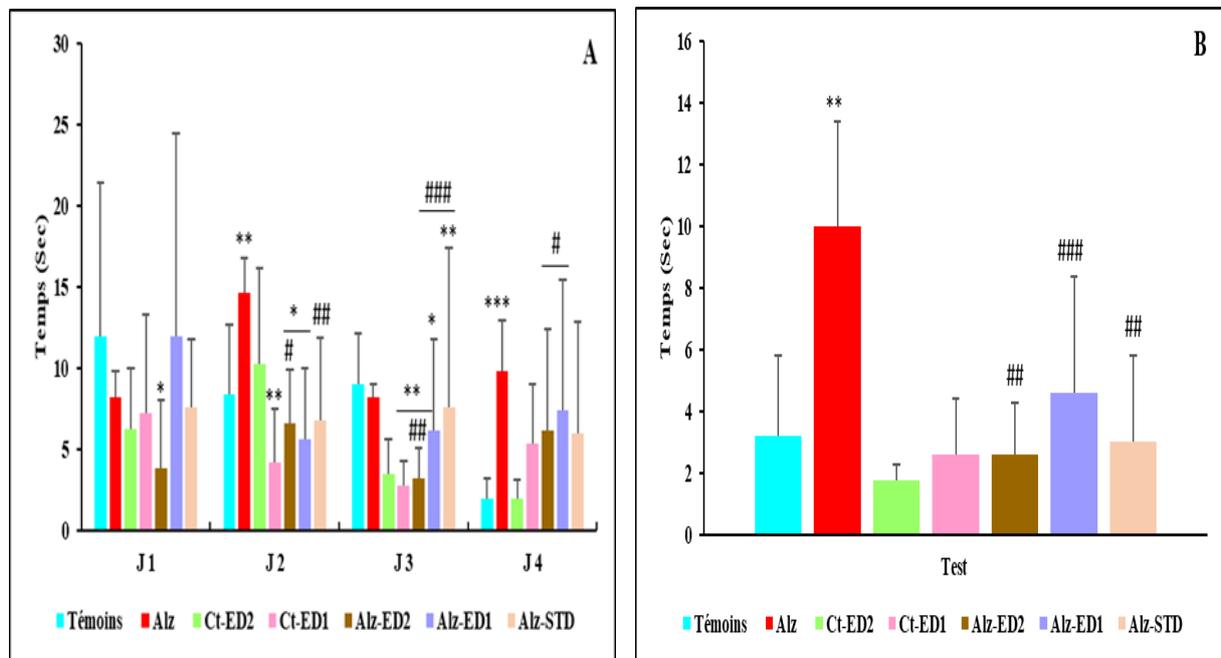
**Figure 53** : l'effet de PES sur la mémoire spatiale de travail (Piscine de Morris). a : Mémoire spatiale de référence (4 jours d'apprentissage) ; b : test de mémoire spatiale de référence (MSR) ; C : Contrôle ; Alz : Souris modèle de la maladie d'Alzheimer (administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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 cinquième jour du test de mémoire spatiale de référence dans la piscine de Morris, les souris présentant le modèle de la maladie d'Alzheimer (groupe Alz) ont mis significativement plus de temps, en moyenne 10 secondes, pour localiser la plateforme invisible, comparé aux autres groupes. En effet, les souris témoins n'ont mis que 3 secondes, tandis que les souris du groupe Alz-ED1, traitées avec l'extrait de *Passiflora edulis*, n'ont mis que 2,5 secondes, une différence très significative ( $p < 0,001$ ).

Ces résultats indiquent que le traitement avec l'extrait de *Passiflora edulis* a permis d'améliorer les performances de mémoire spatiale de référence chez ce modèle animal de la maladie d'Alzheimer, en comparaison du groupe présentant la pathologie non traitée (Alzheimer)

(Fig. 54).



**Figure 54 :** 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<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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).

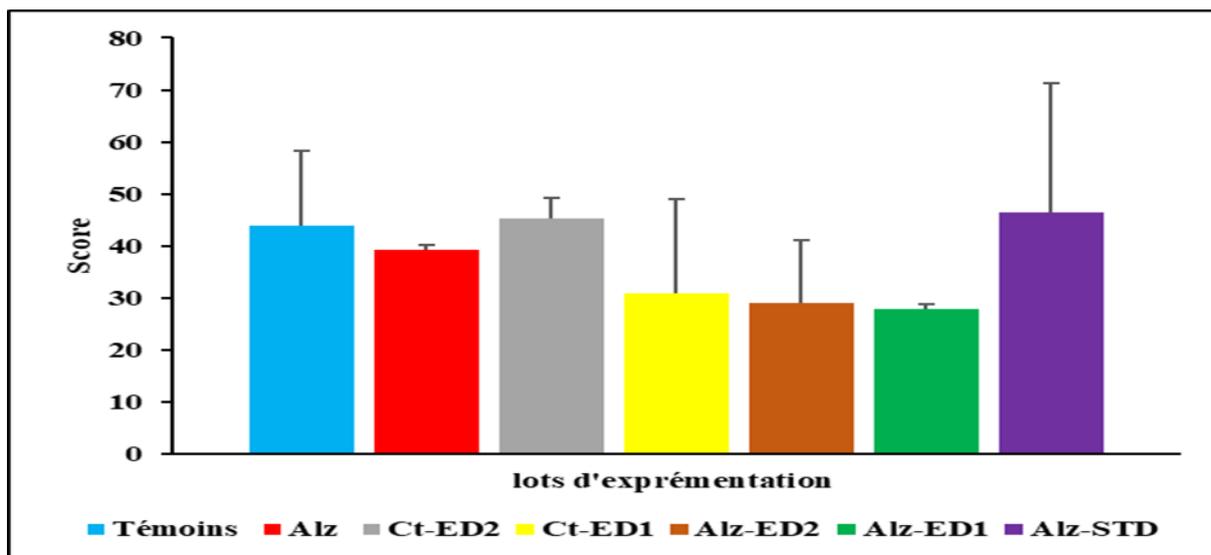
## **II.7.2. Résultats de l'évaluation de l'activité anti-Alzheimer en parallèle de l'extrait des graines de *passiflora edulis***

### **II.7.2.1. Les tests neurologiques de comportement**

#### **II.7.2.1.1. Activité locomotrice**

L'analyse de l'activité locomotrice moyenne sur les quatre phases expérimentales a révélé une hypoactivité chez tous les groupes de souris recevant le traitement combiné de chlorure d'aluminium et de D-galactose pour induire le modèle de la maladie d'Alzheimer, à savoir les groupes Alz, Alz-ED2 et Alz-ED1, comparativement aux souris témoins. Fait intéressant, le groupe Alz-STD, traité avec la rivastigmine, a présenté une hyperactivité locomotrice par rapport aux autres groupes. De plus, les souris des groupes Alz-ED2 et Alz-ED1, traitées respectivement avec les extraits de graines de *Passiflora edulis* aux doses élevée et faible, ont montré une activité locomotrice encore plus réduite que le groupe Alzheimer non traité.

Ces résultats suggèrent que les traitements par les extraits de *Passiflora edulis* ont permis de moduler de manière plus importante l'hypoactivité locomotrice induite par le modèle pathologique de la maladie d'Alzheimer, en comparaison du traitement de référence par la rivastigmine. (Fig. 55)

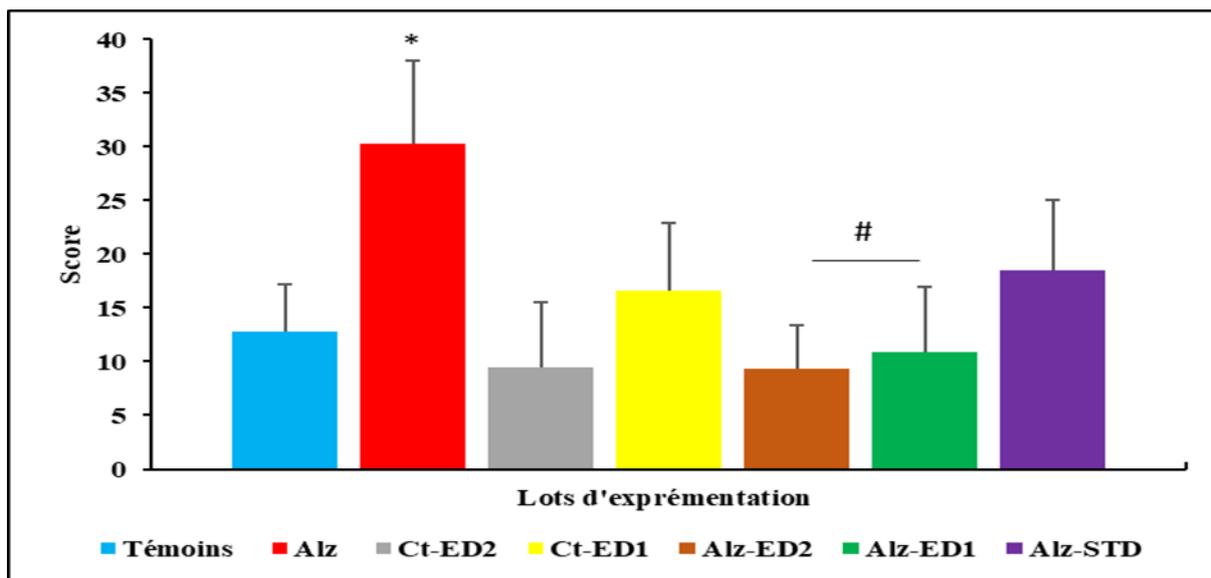


**Figure 55 :** Effet de PES sur l'activité locomotrice chez : souris témoins ; **Alz** : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, **CT-ED1** : contrôle témoin traité avec l'extrait 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 du test de curiosité ont révélé une diminution de la curiosité exploratoire chez tous les groupes expérimentaux par rapport au groupe atteint de la maladie d'Alzheimer. Cette différence est statistiquement significative ( $p \leq 0,05$ ) pour les groupes Alz-ED1 et Alz-ED1, traités avec les extraits de *Passiflora edulis*. À l'inverse, le groupe Alzheimer non traité a présenté une curiosité exploratoire nettement plus élevée, avec un nombre d'immersions de la tête dans les trous significativement supérieur ( $p \leq 0,05$ ) par rapport au groupe témoin.

Ces résultats suggèrent que les traitements par les extraits de *Passiflora edulis* ont permis de moduler de manière plus importante la diminution de la curiosité exploratoire induite par le modèle pathologique de la maladie d'Alzheimer, en comparaison du groupe non traité. (Fig. 56)



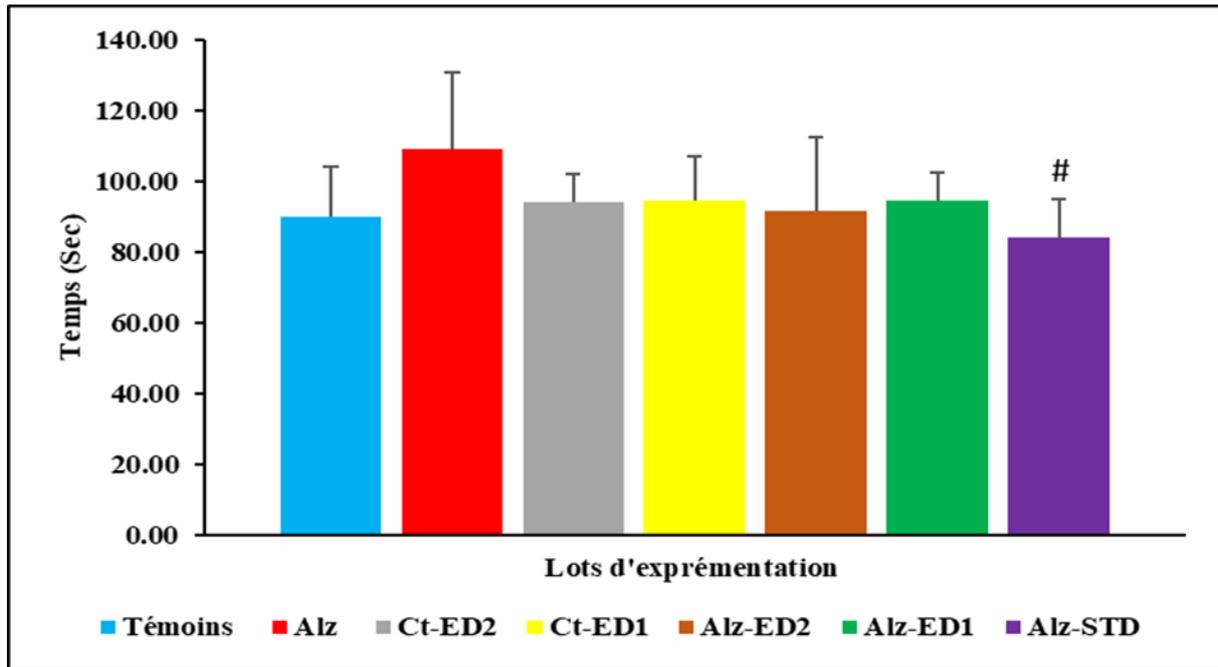
**Figure 56** : Effet de PES sur le test de curiosité chez : souris Témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec l'extrait des 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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.7.2.1.3. Epreuve d'anxiété

#### II.7.2.1.3.1. Double compartiment Noir/Blanc

Dans le test réalisé après 70 jours d'induction du modèle souris de la maladie d'Alzheimer, suivi par un traitement concomitant avec l'extrait de *Passiflora edulis* (EPS) et le donépézile (standard), les résultats ont montré un temps de séjour élevé dans le compartiment clair chez les souris du groupe Alzheimer (Alz) par rapport à tous les autres groupes expérimentaux. De manière intéressante, cette différence s'est avérée statistiquement significative ( $p \leq 0,05$ ) pour le groupe Alz-STD, traité avec le donépézile, en comparaison des autres groupes.

Ces données suggèrent que le traitement par l'extrait de *Passiflora edulis* a permis de moduler de façon plus importante l'augmentation du temps passé dans le compartiment clair, caractéristique du modèle de la maladie d'Alzheimer, par rapport au traitement de référence par le donépézile. (Fig. 57)

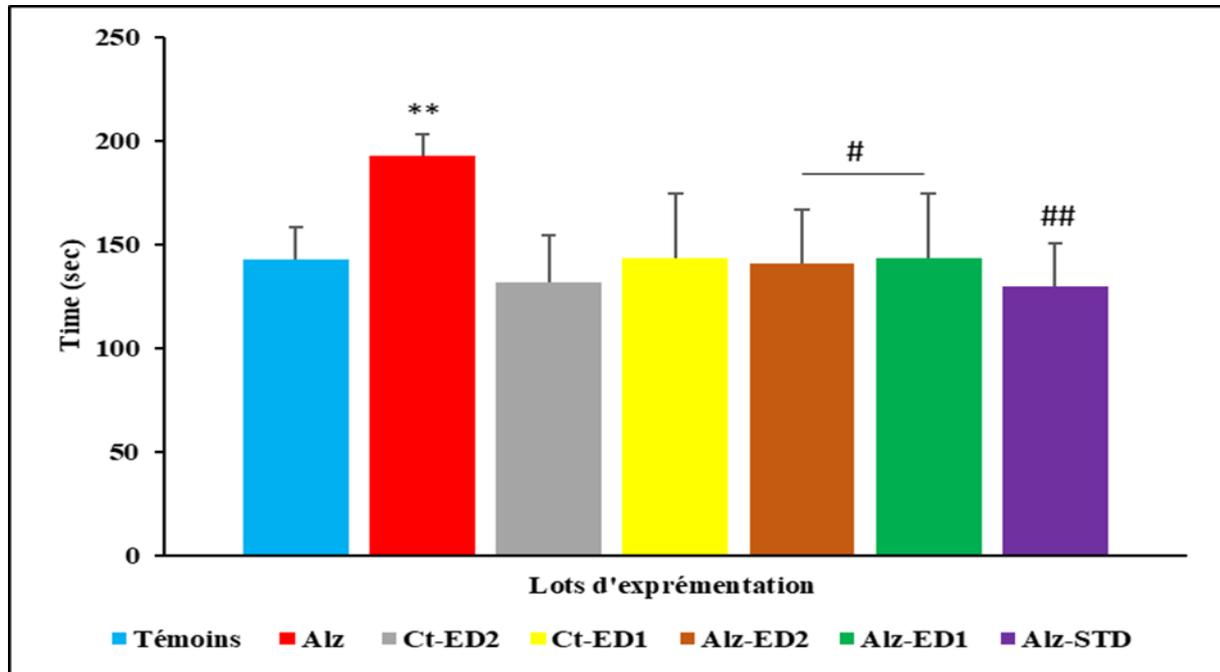


**Figure 57** : Effet de PES sur le test double compartiment Noir/Blanc chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, CT-ED1 : : contrôle témoin traité 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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.7.2.1.3.2. Labyrinthe en croix surélevée

Les résultats du test du labyrinthe en croix surélevé, réalisé à l'issue des 70 jours d'expérimentation, ont montré que la durée de séjour dans les bras ouverts était significativement plus élevée chez les souris du groupe modèle Alzheimer, comparativement à tous les autres groupes expérimentaux. Cette différence était très significative ( $p \leq 0,01$ ) par rapport au groupe témoin. De façon intéressante, les groupes traités avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis* ont présenté des temps de séjour dans les bras protégés presque similaires aux souris témoins, avec même une différence significative ( $p \leq 0,05$  et  $p \leq 0,01$ ) par rapport au groupe Alzheimer non traité.

Ces résultats suggèrent que les traitements par l'extrait de *Passiflora edulis* ont permis de moduler de manière plus importante les déficits comportementaux liés à l'anxiété induits par le modèle de la maladie d'Alzheimer, en comparaison du groupe non traité. (Fig. 58)

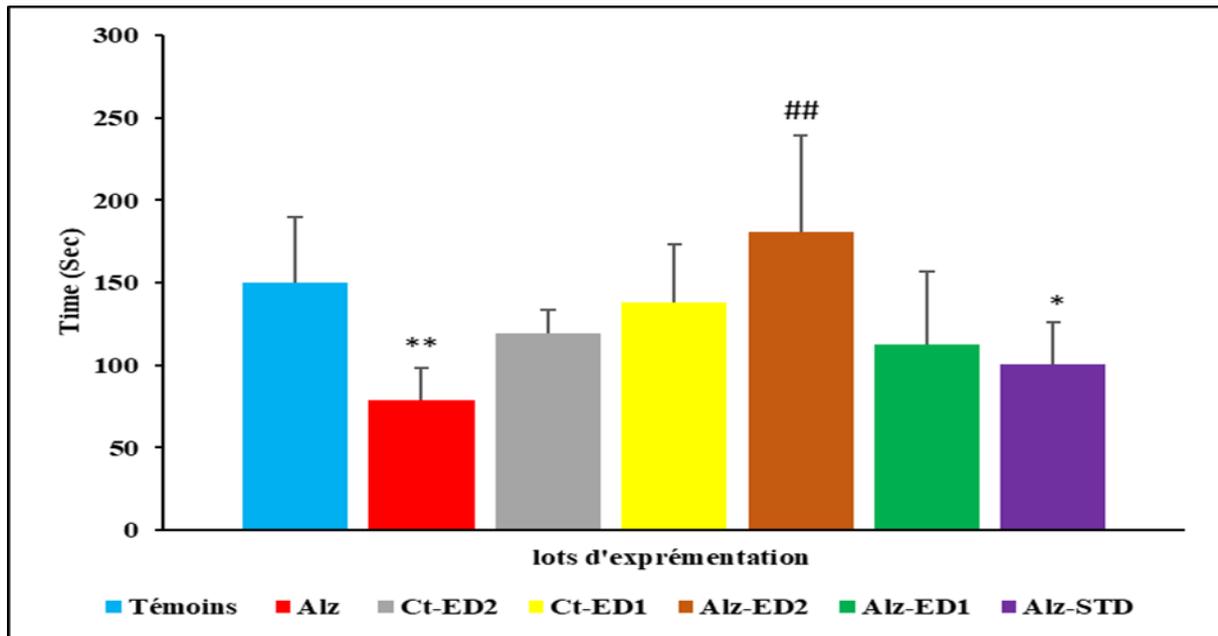


**Figure 58** : Effet de PES sur le test Labyrinthe en croix surélevée chez : souris Témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg) pendant 70 jours, CT-ED1 : contrôle témoin traité avec 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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.7.2.1.4. Test de Persolt (la nage forcée)

Les résultats du test ont révélé que le temps d'immobilité était significativement plus élevé ( $p \leq 0,01$ ) chez les souris traitées avec la dose de 200 mg/kg d'extrait de graines de *Passiflora edulis*, comparé au groupe Alzheimer non traité. À l'inverse, le groupe modèle Alzheimer a présenté un temps d'immobilité plus faible que celui du groupe témoin, avec une différence très significative ( $p \leq 0,01$ ).

Ces données suggèrent que le traitement à forte dose de l'extrait de *Passiflora edulis* a induit une augmentation du temps d'immobilité, pouvant être interprétée comme un effet pro-dépresseur, en comparaison du groupe Alzheimer non traité. En revanche, le modèle pathologique de la maladie d'Alzheimer semble avoir entraîné une diminution du temps d'immobilité, reflétant possiblement un comportement de type anxiolytique, par rapport au groupe témoin. (Fig. 59)



**Figure 59** : 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 (AlCl<sub>3</sub>) 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 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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).

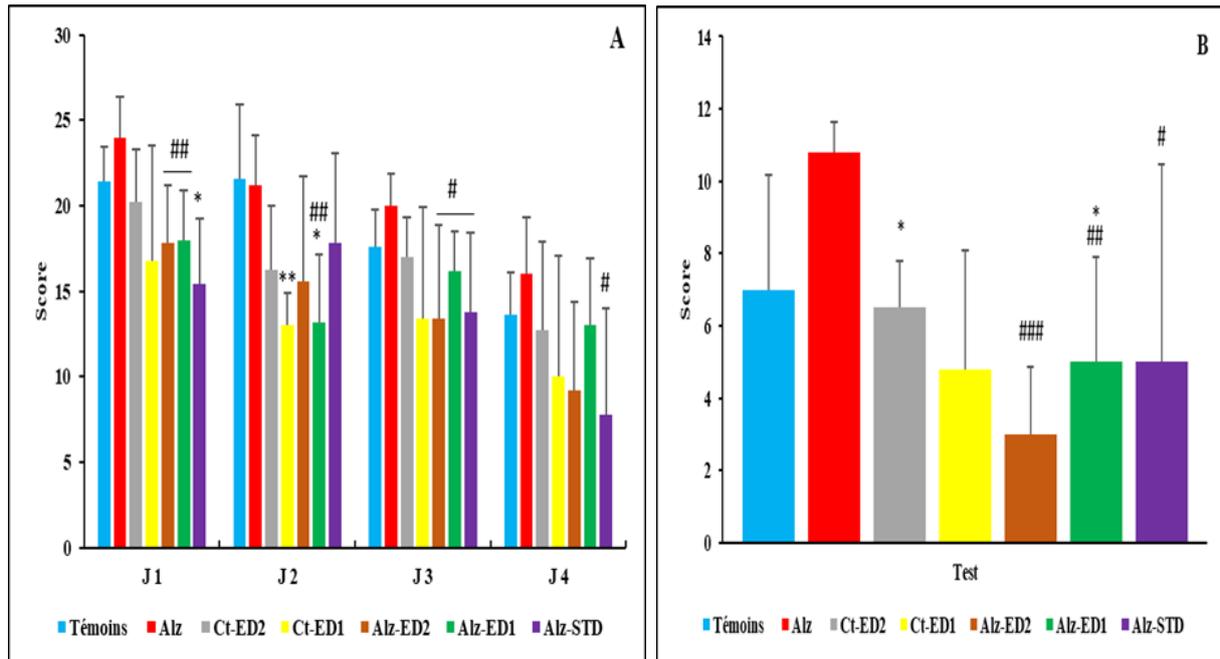
## II.7.2.2. Tests de mémoire

### 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 d'évaluation de la mémoire spatiale de travail ont clairement démontré un score d'erreurs significativement plus faible chez les groupes traités avec les doses de 200 mg/kg (Alz-ED2,  $p \leq 0,001$ ) et 100 mg/kg (Alz-ED1,  $p \leq 0,01$ ) d'extrait de *Passiflora edulis*, ainsi que chez le groupe traité avec le donépézile standard à 1 mg/kg (Alz-STD,  $p \leq 0,05$ ), en comparaison du groupe modèle Alzheimer. En effet, ce dernier groupe a présenté un score très élevé, atteignant 11 erreurs de répétition des bras visités, dénotant des déficits importants de la mémoire spatiale de travail, par rapport à l'ensemble des autres groupes expérimentaux.

Ces résultats suggèrent que les traitements par l'extrait de *Passiflora edulis*, notamment à la dose de 200 mg/kg, ont permis une amélioration significative des performances mnésiques, comparables à celles observées avec le traitement de référence par le donépézile, dans ce modèle animal de la maladie d'Alzheimer. (**Fig. 60**)

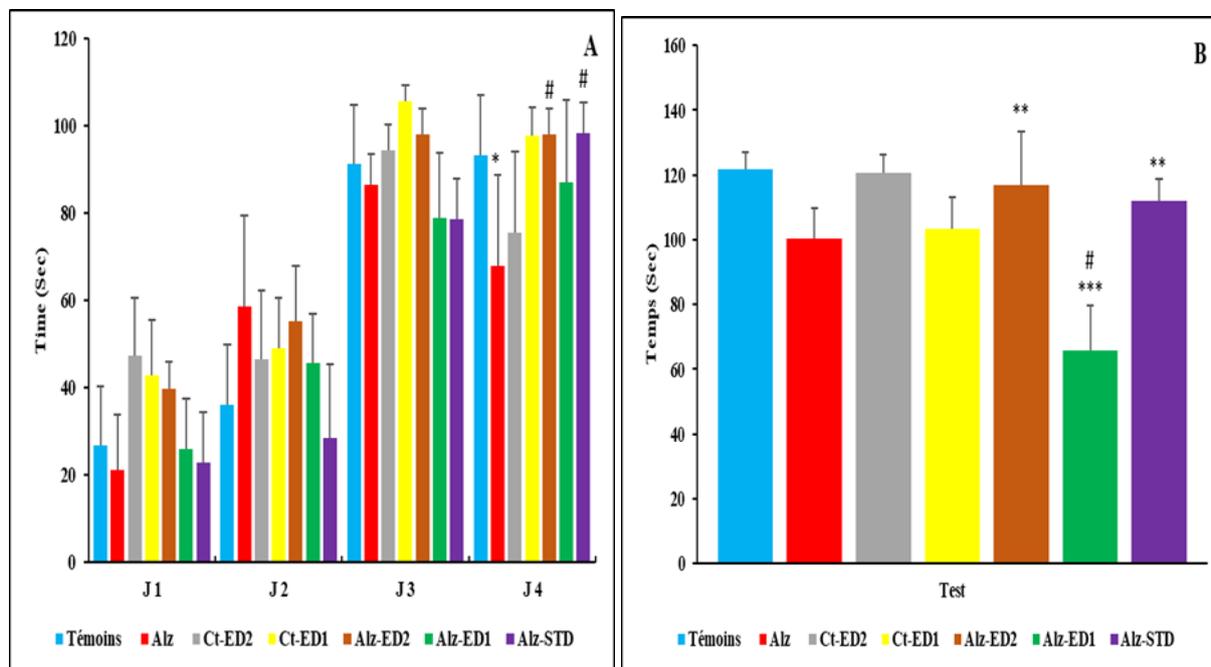


**Figure 60** : Effet de PES sur le test de mémoire spatiale de travail (MSR) : A : représente les 4 jours d'apprentissage , B : représente le jour de test ( 5ème jour ) ; chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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.7.2.2.1.2. Mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR)

Le modèle de souris Alzheimer induit par l'administration de chlorure d'aluminium et de D-galactose a entraîné un déclin de la mémoire de référence spatiale conditionnée, comme en témoigne la diminution du temps passé dans le bras éclairé du labyrinthe. Cependant, le traitement par l'extrait cétogénique des graines de *Passiflora edulis* a permis d'augmenter significativement ( $p \leq 0,05$ ) le temps passé dans le bras éclairé, notamment à la dose de 200 mg/kg, par rapport au groupe modèle Alzheimer non traité.

Ces résultats suggèrent que l'extrait de *Passiflora edulis*, et plus particulièrement à forte dose, a pu exercer des effets bénéfiques sur les déficits de mémoire de référence spatiale induits par le modèle animal de la maladie d'Alzheimer. (Fig. 61)



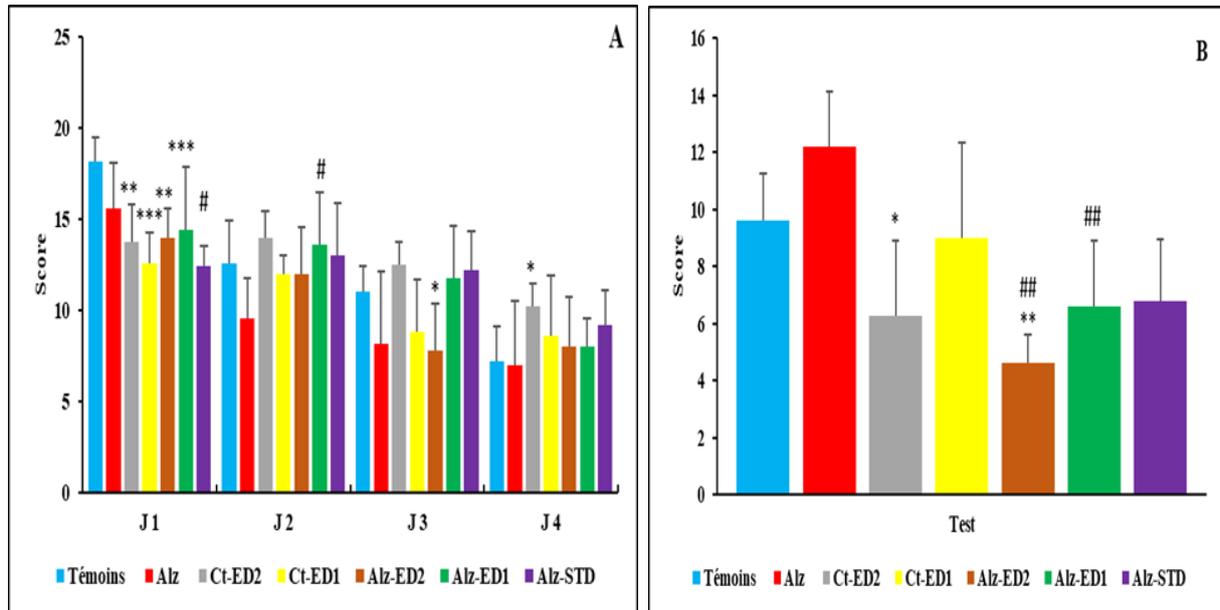
**Figure 61** : Effet de PES sur le test de mémoire spatiale de Référence conditionné (MSR) : A : représente les 4 jours d'apprentissage, B : représente le jour de test ( 5ème jour ) ; chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 :

Les résultats du test de distinction de position ont montré que le score de visite du bras appâté était plus élevé chez le groupe modèle Alzheimer (Alz) par rapport à l'ensemble des autres lots expérimentaux. À l'inverse, les traitements par l'extrait de *Passiflora edulis*, à des doses de 100 et 200 mg/kg, ainsi que par la substance de référence, le donépézile à 1 mg/kg, ont entraîné une diminution significative ( $p \leq 0,01$ ) du score de visite des bras appâtés, comparativement au groupe Alz . Cette baisse du score de visite des bras appâtés, révélatrice d'une amélioration des

performances de discrimination spatiale, était particulièrement prononcée pour les deux doses d'extrait de *Passiflora edulis* testées.

Ces résultats suggèrent que les traitements, notamment à base d'extrait de cette plante, ont permis de contrecarrer les déficits de mémoire de reconnaissance spatiale observés dans le modèle animal de la maladie d'Alzheimer (**Fig. 62**)

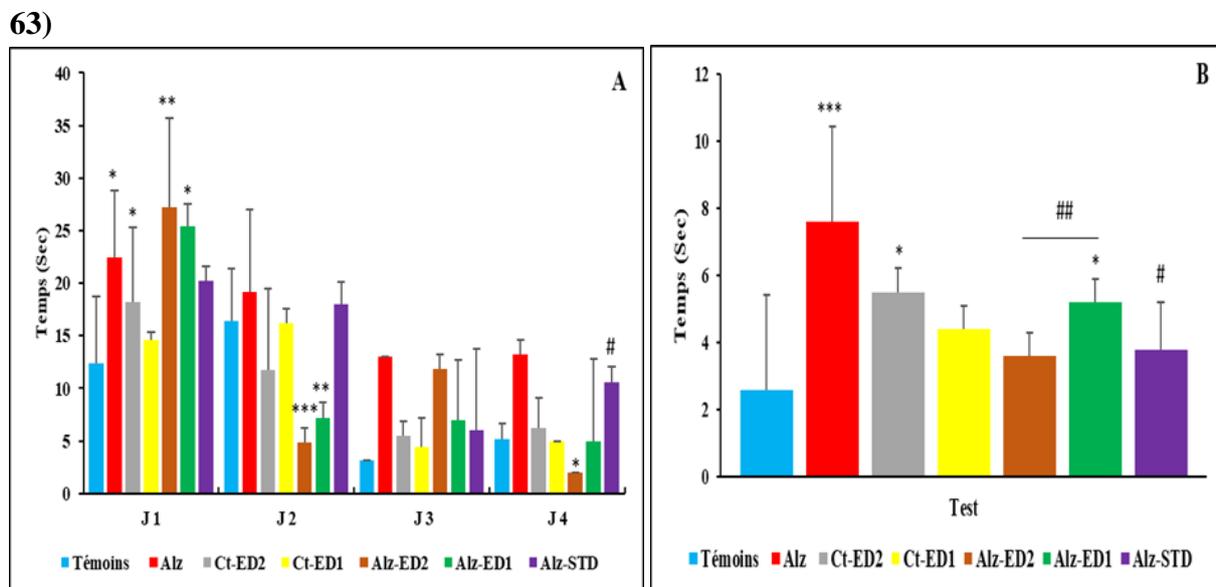


**Figure 62 :** Effet de PES sur le test de distinction de position : A : représente les 4 jours d'apprentissage , B : représente le jour de test ( 5ème jour ) ; chez : souris témoins ; Alz : souris modèle de la maladie d'Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 100 mg/kg 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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)

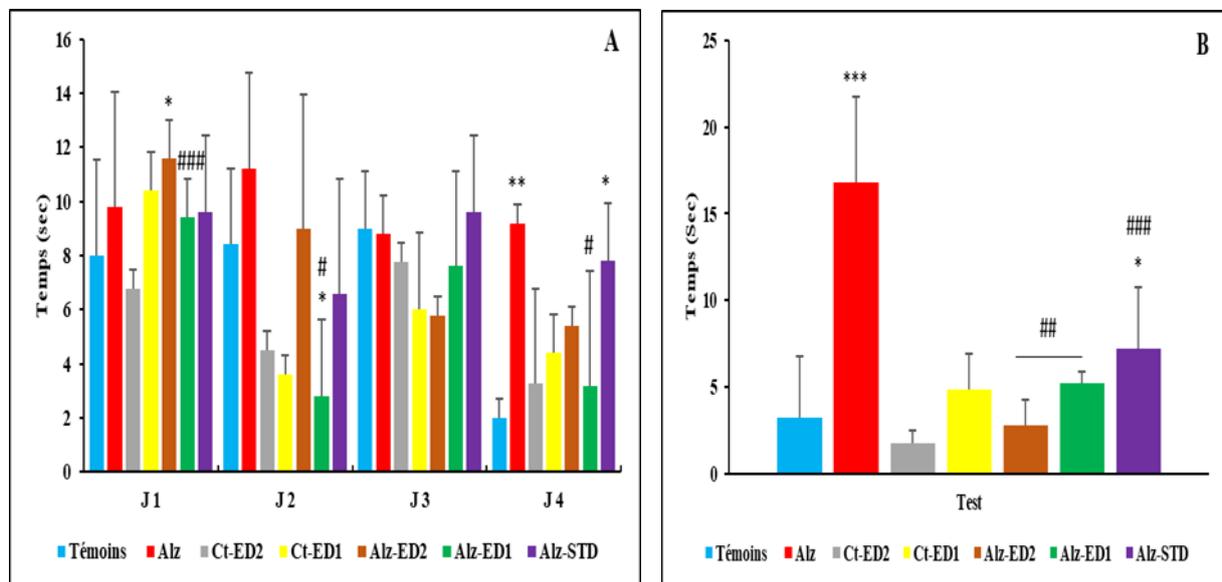
Les résultats présentés dans la figure montrent que le temps mis par les souris du groupe modèle Alzheimer (Alz) pour trouver la plate-forme est significativement ( $p < 0,001$ ) plus long que celui du groupe témoin. Contrairement, les traitements par l'extrait de *Passiflora edulis* (PES), notamment aux doses de 100 mg/kg (Alz-D1) et 200 mg/kg (Alz-D2), ainsi que par la substance de référence, le donépézile (Alz-STD), ont permis de réduire considérablement ce temps de recherche de la plate-forme de manière significative ( $p \leq 0,01$  pour Alz-D1 et Alz-D2 ;  $p \leq 0,05$  pour Alz-STD), par rapport au groupe Alzheimer non traité. Ces résultats indiquent que les traitements, en particulier à base d'extrait de *Passiflora edulis*, ont contribué à atténuer les déficits de mémoire spatiale observés dans ce modèle animal de la maladie d'Alzheimer. (Fig. 63)



**Figure 63** : 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<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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.7.2.2.2.1. Mémoire spatiale de référence conditionnée (MSR)**

Les résultats du test de mémoire spatiale de référence conditionnée révèlent une augmentation hautement significative ( $p < 0,001$ ) du temps mis par les souris du groupe modèle Alzheimer pour localiser la plate-forme cachée, en comparaison avec le groupe témoin. Par contre, une amélioration hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) de cette performance de mémoire spatiale a été observée pour les groupes traités, que ce soit avec l'extrait de *Passiflora edulis* à 200 mg/kg (Alz-D2) ou 100 mg/kg (Alz-D1), ou avec la substance de référence, le donépézile à 1 mg/kg (Alz-STD), par rapport au groupe modèle Alzheimer non traité. Ces résultats indiquent que les traitements, notamment à base d'extrait de *Passiflora edulis*, ont permis de contrecarrer les déficits de mémoire spatiale de référence caractéristiques du modèle souris de la maladie d'Alzheimer. (Fig. 64)



**Figure 64** : 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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 Alzheimer (Alz).

## II.7.2. Les résultats de l'étude histologique

L'étude a procédé à un examen détaillé de différentes régions cérébrales des souris afin d'évaluer les propriétés neuroprotectrices de la fraction riche en stilbénoides extraite des graines de *Passiflora*. L'analyse s'est notamment concentrée sur trois zones spécifiques du cerveau : le cortex cérébral, l'hippocampe et le cervelet.

Cette approche approfondie des structures cérébrales visait à mieux cerner les effets bénéfiques potentiels de ce composé phytochimique issu de la passion sur la préservation du tissu nerveux dans ce modèle.

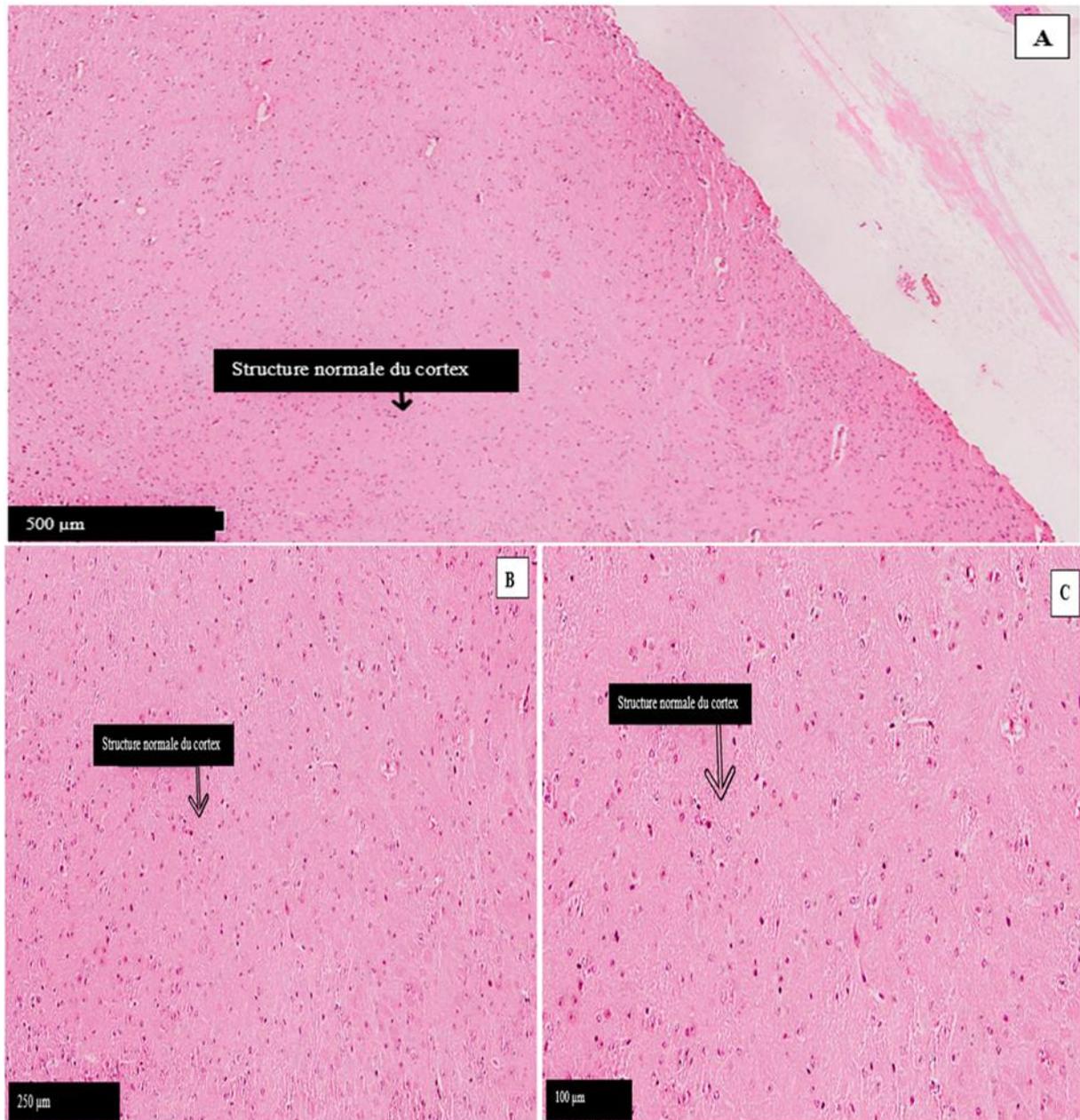
### II.7.2.1. Cortex cérébral

Le cortex cérébral, notamment le lobe frontal plus développé, joue un rôle essentiel dans la motricité et les fonctions cognitives supérieures des souris. Chez le groupe témoin, l'architecture histologique du cortex cérébral présente une morphologie normale (**Fig. 65**).

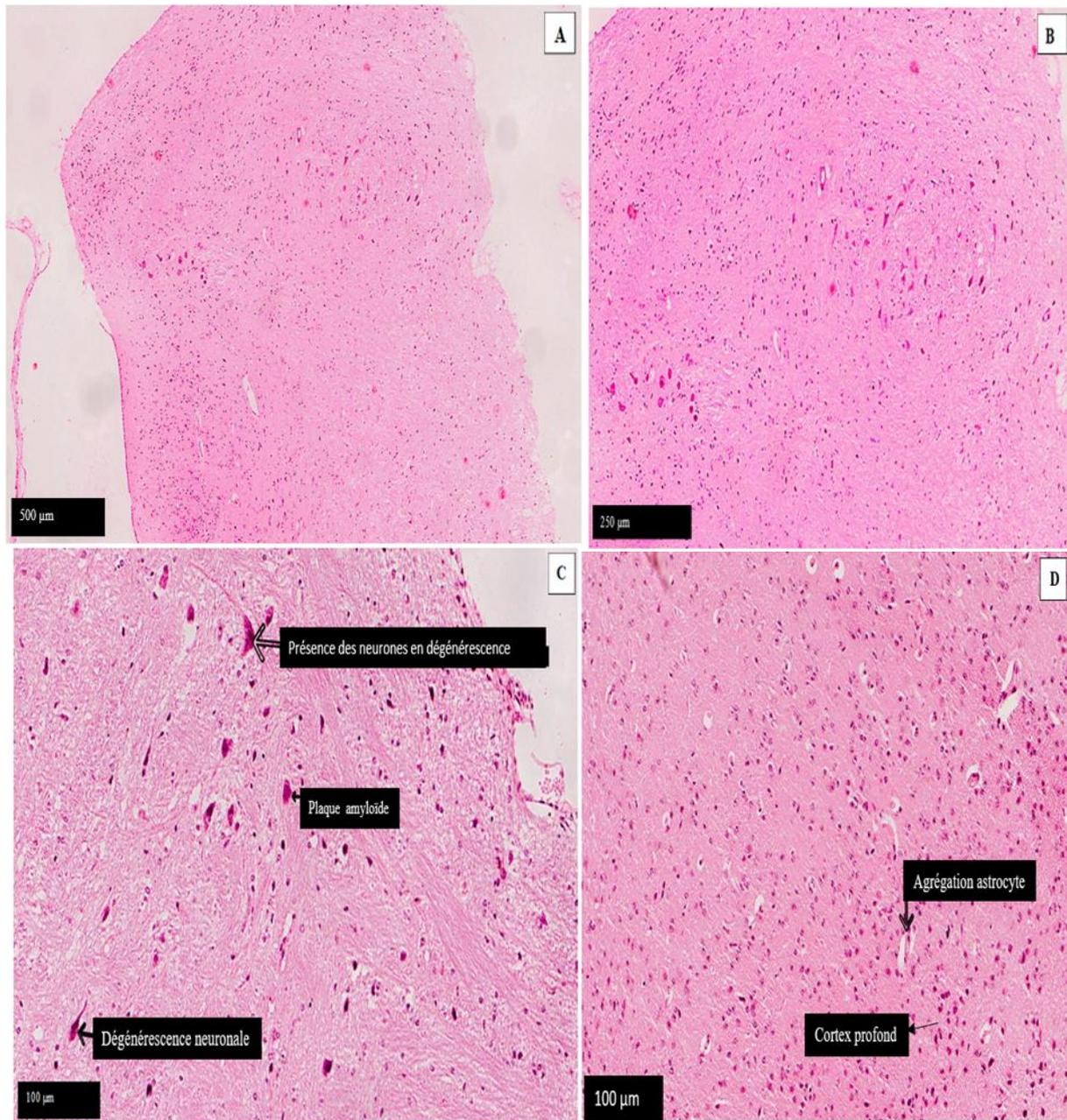
En revanche, le groupe modèle Alzheimer (ALZ) affiche une large gamme d'altérations histologiques. Les cellules pyramidales du cortex cérébral montrent des signes de dégénérescence neuronale avec neuronophagie. On observe également des cellules d'apparence anormale, avec des prolongements en forme de flamme ainsi que des noyaux et des plaques amyloïdes dégénérés (**Fig. 66**).

Chez les souris traitées avec la rivastigmine à 1 mg/kg, le cortex cérébral semble présenter une morphologie plus normale, avec moins de cellules apoptotiques que dans le groupe Alzheimer (**Fig. 67**).

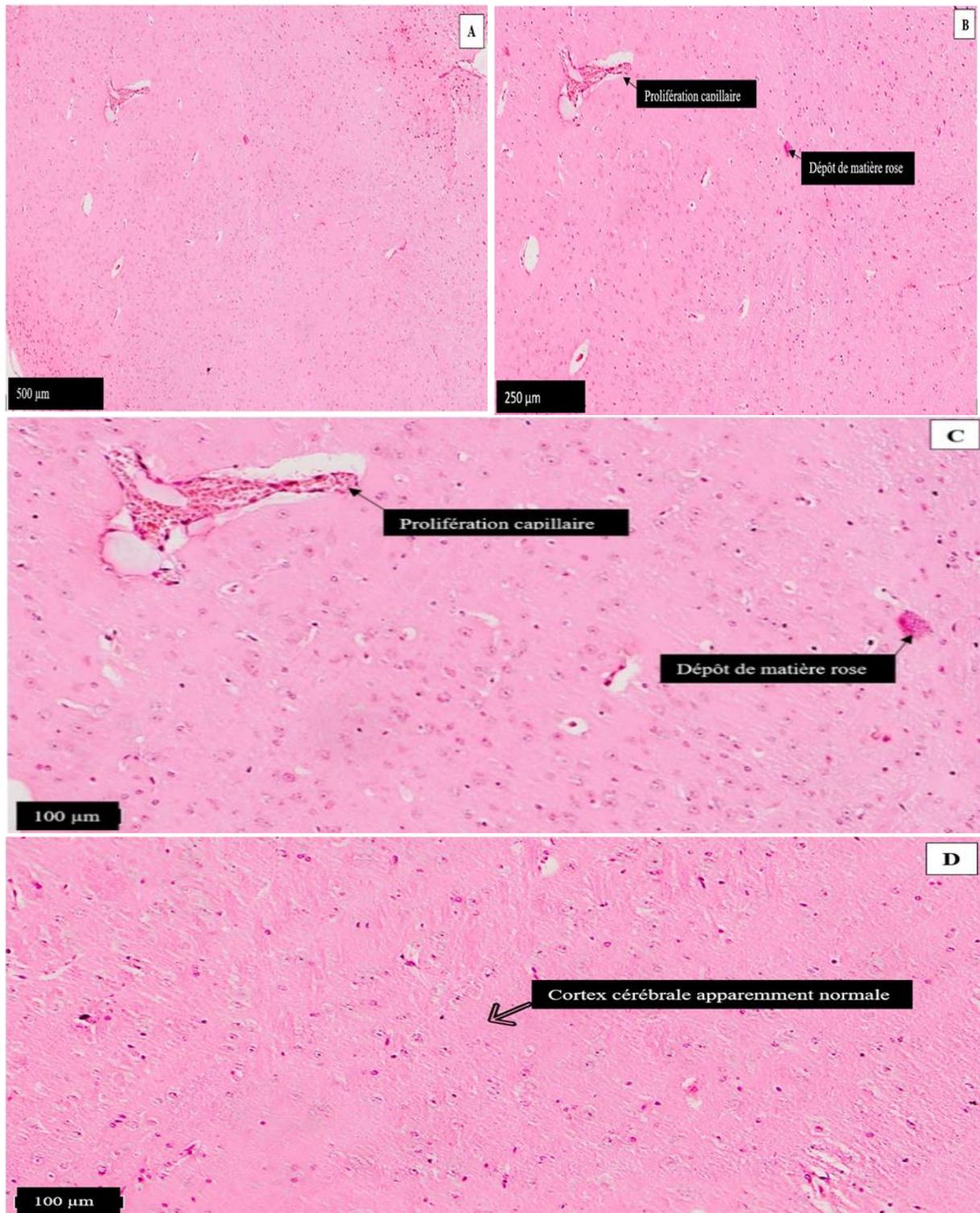
De manière intéressante, l'administration de l'extrait de *Passiflora edulis* (Alz-ED1, Alz-ED2) a eu un effet protecteur contre la neurotoxicité et la pathologie Alzheimer, puisque le cortex cérébral apparaît préservé par rapport au groupe modèle Alzheimer (**Fig. 68, 69**).



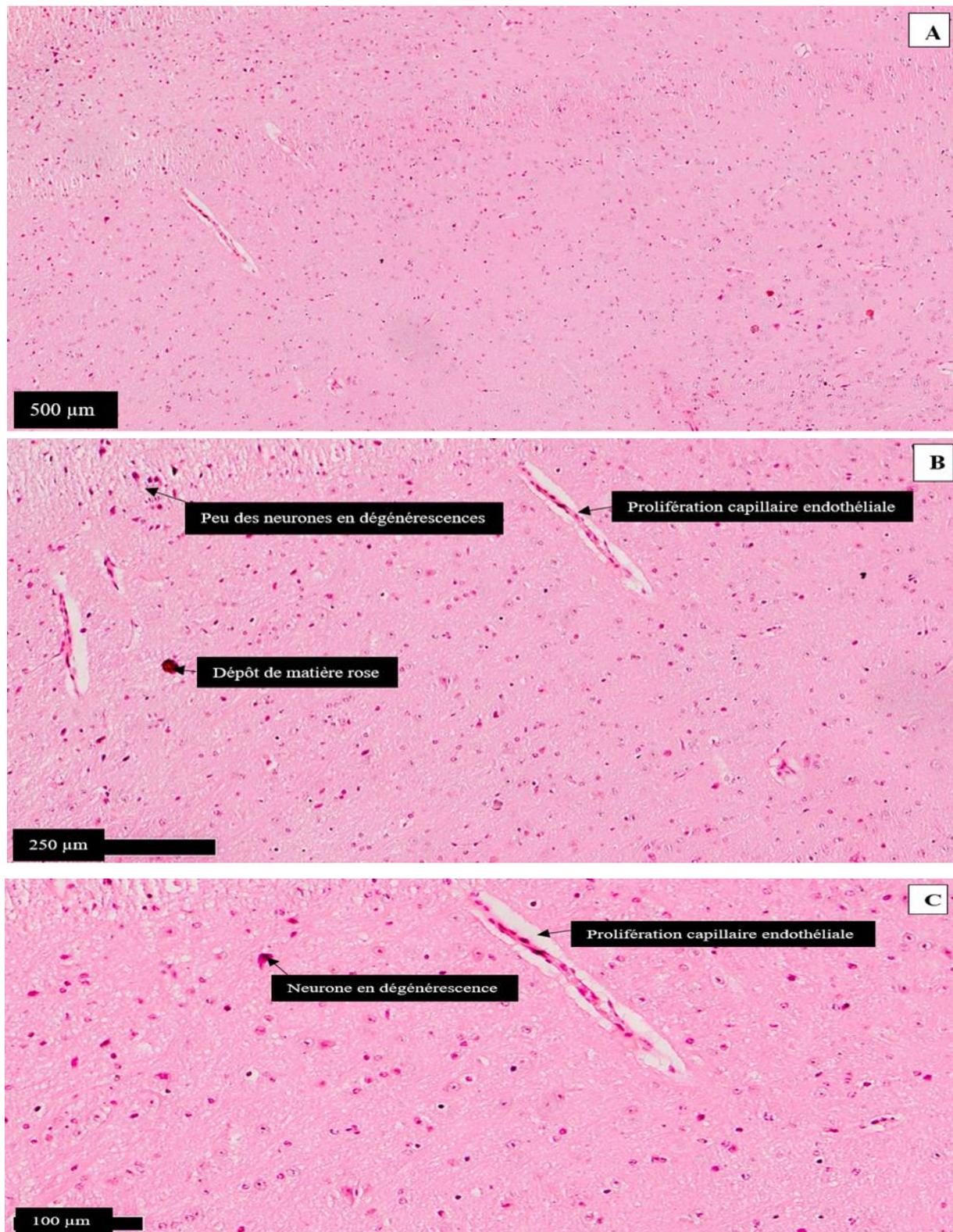
**Figure 65** : photomicrographie du cortex cérébral des souris témoins, à la suite de l'expérience, des sections de cerveau de souris, le cortex cérébral, a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500μm, 250 μm, 100 μm (A, B, C) respectivement.



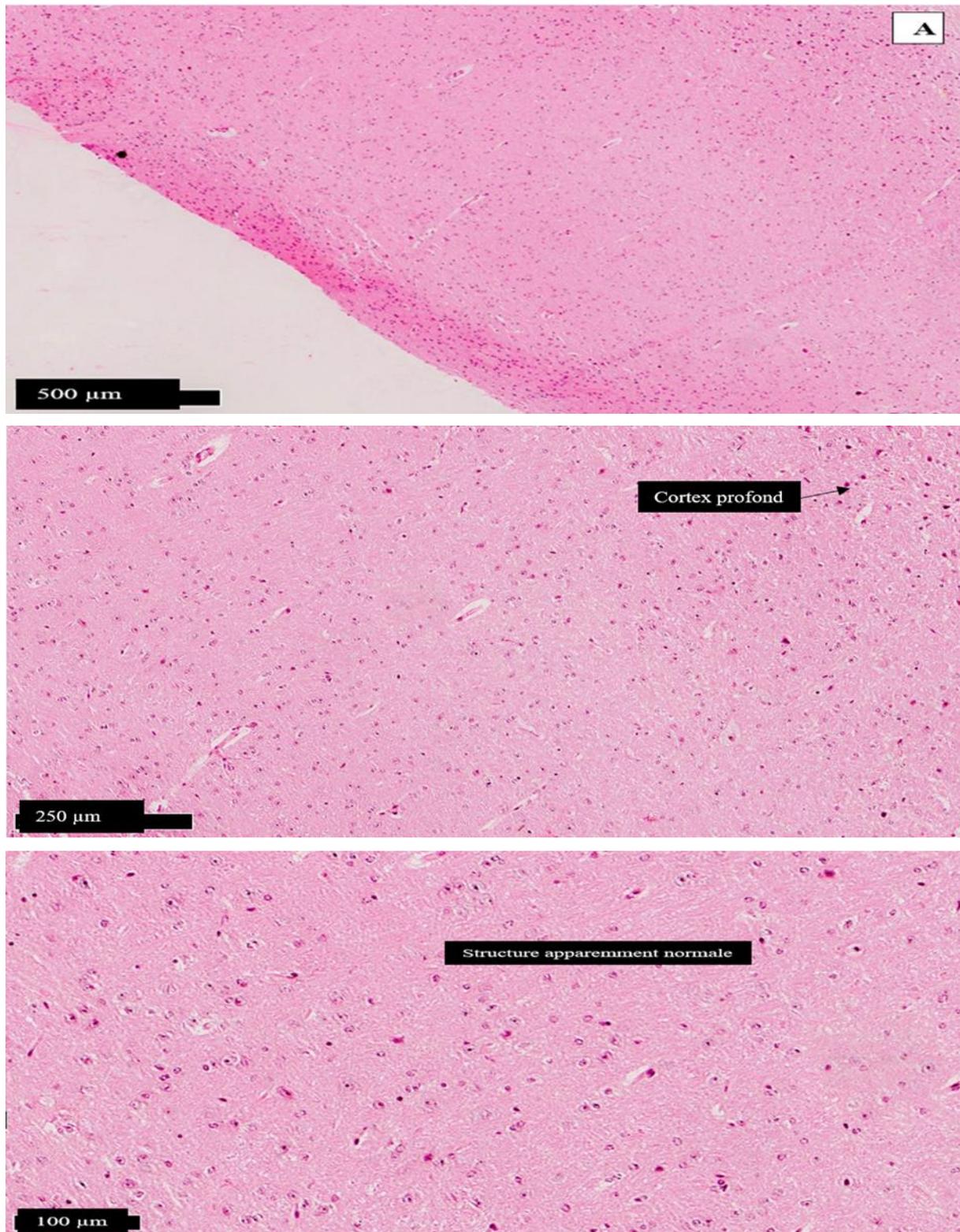
**Figure 66** : photomicrographie du cortex cérébral de souris Alzheimer (ALZ) qu'il a reçus chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg, à la suite de l'expérience, des sections de cerveau de souris, le cortex cérébral, a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500 $\mu$ m, 250  $\mu$ m, 100  $\mu$ m (A, B, C/D) respectivement.



**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 sections de cerveau de souris, le cortex cérébral, a été préparé et coloré avec H&E 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 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 500μm, 250 μm, 100 μm (A, B, C/D) respectivement.



**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 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

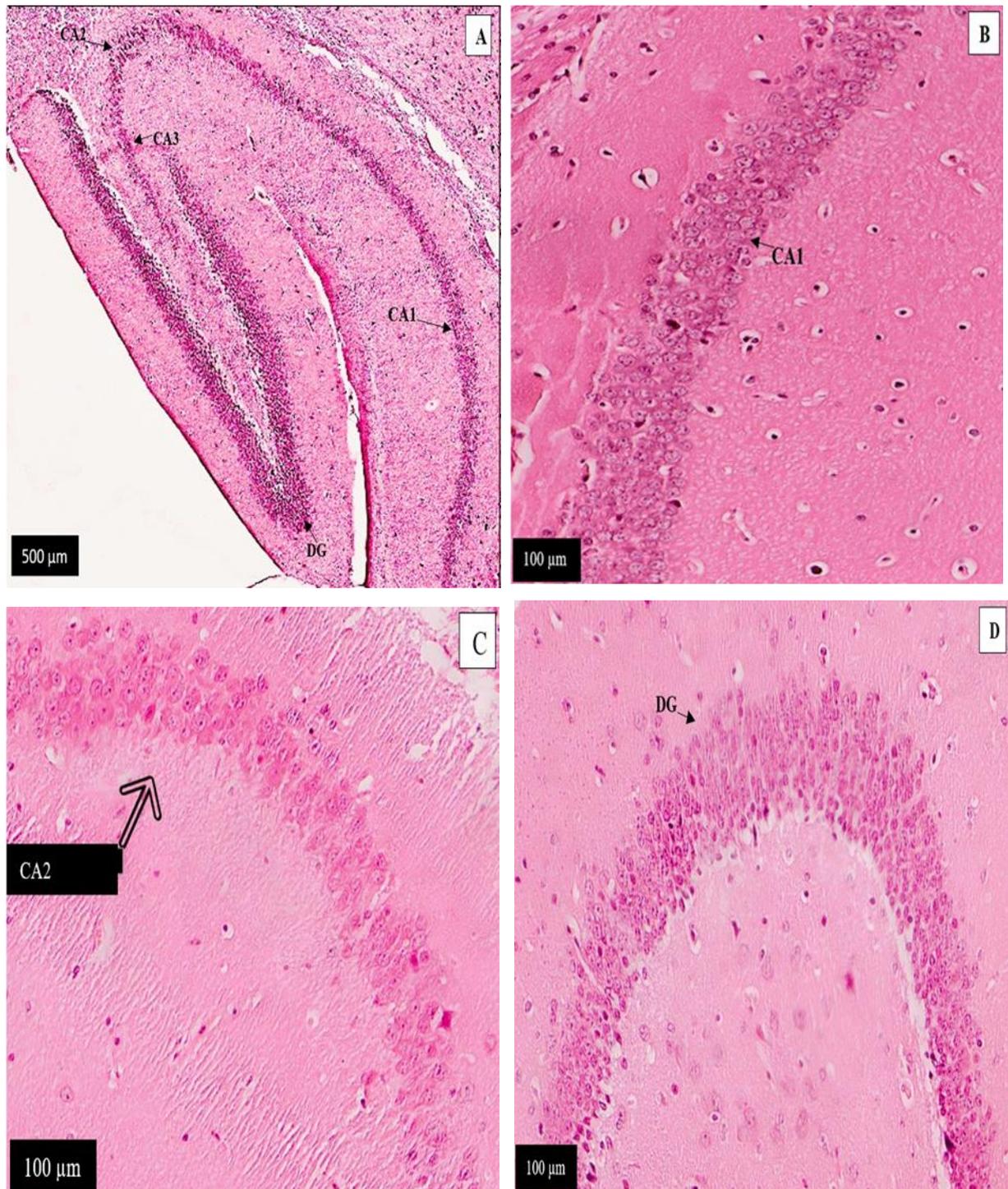
**II.7.2.2. Hippocampe**

L'examen microscopique de la région hippocampique a révélé, chez le groupe exposé de manière prolongée à l'AlCl<sub>3</sub>, une dégénérescence des neurones pyramidaux, un gonflement neuronal, une vacuolisation ainsi que de l'apoptose cellulaire. Le groupe Alzheimer présentait ainsi de nombreuses cellules dégénérées et une diminution de la densité cellulaire.

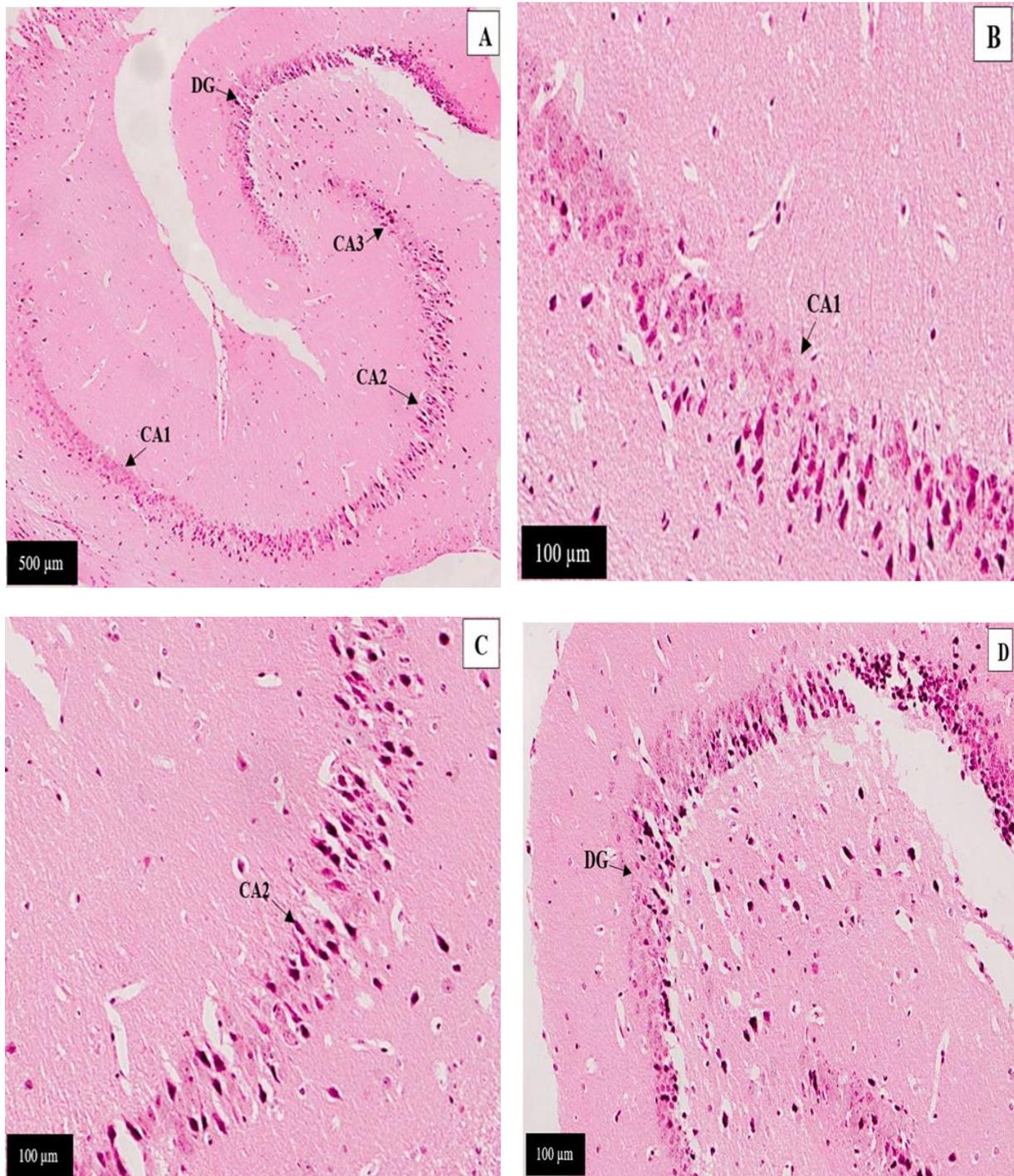
La cytoarchitecture des cellules pyramidales matures apparaissait normale dans le groupe témoin sain (**Fig. 70**).

De manière intéressante, l'administration concomitante d'AlCl<sub>3</sub>/D-galactose et de la fraction riche en stilbénoides a significativement atténué la neurodégénérescence induite par l'AlCl<sub>3</sub> dans la région hippocampique (**Fig. 71**).

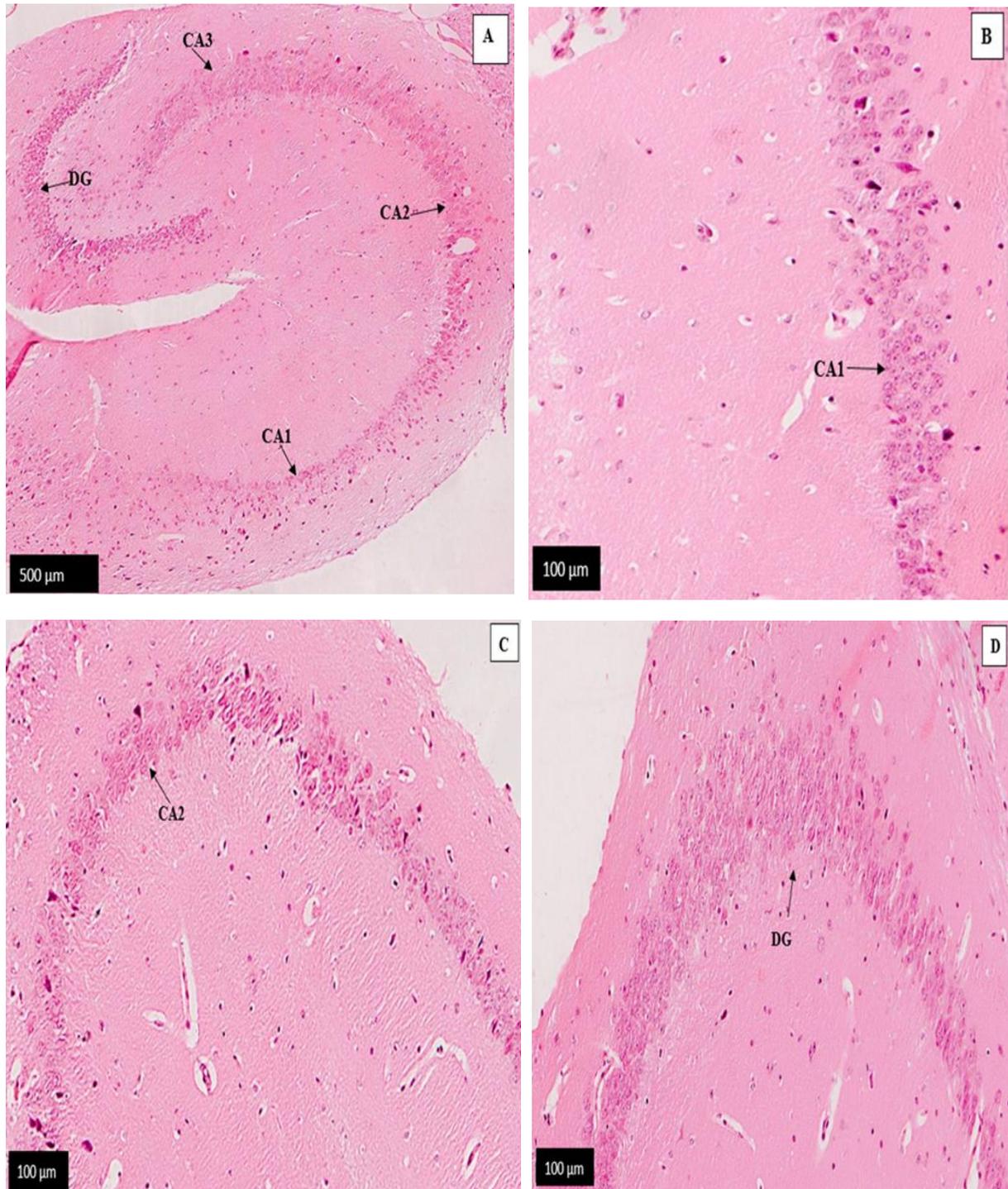
L'évaluation histologique a également montré que l'hippocampe des souris traitées à la rivastigmine semblait préservé. Fait notable, la fraction de *Passiflora edulis* a exercé un effet neuroprotecteur similaire à celui de la rivastigmine, permettant de maintenir l'intégrité de l'hippocampe chez les souris modèles de la maladie d'Alzheimer. (**Fig 72. 73. 74**).



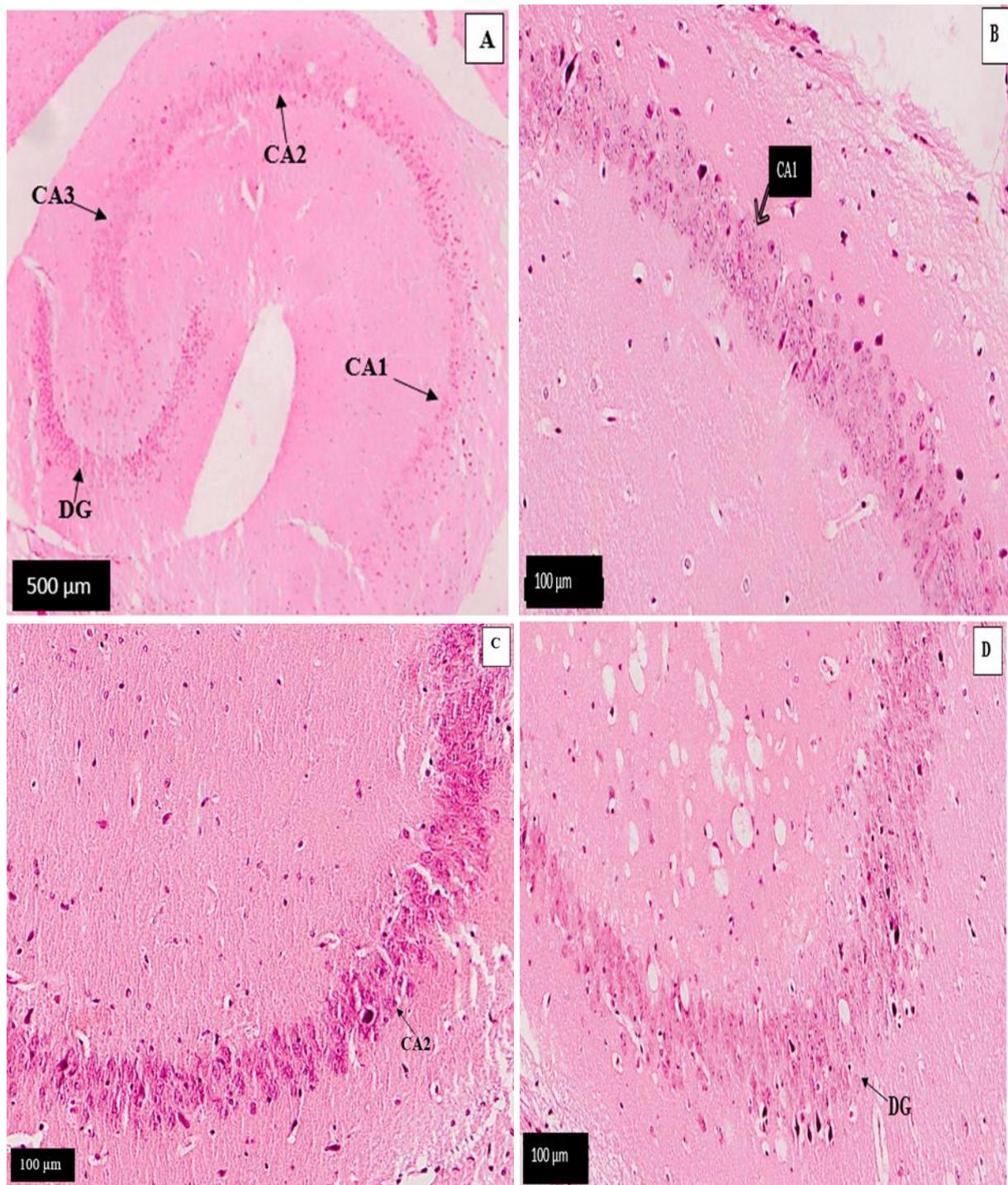
**Figure 70** : photomicrographie de l'hippocampe de souris témoin, à la suite de l'expérience, des sections de cerveau de souris, l'hippocampe, a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500μm, 250 μm, 100 μm (A B, C/D) respectivement.



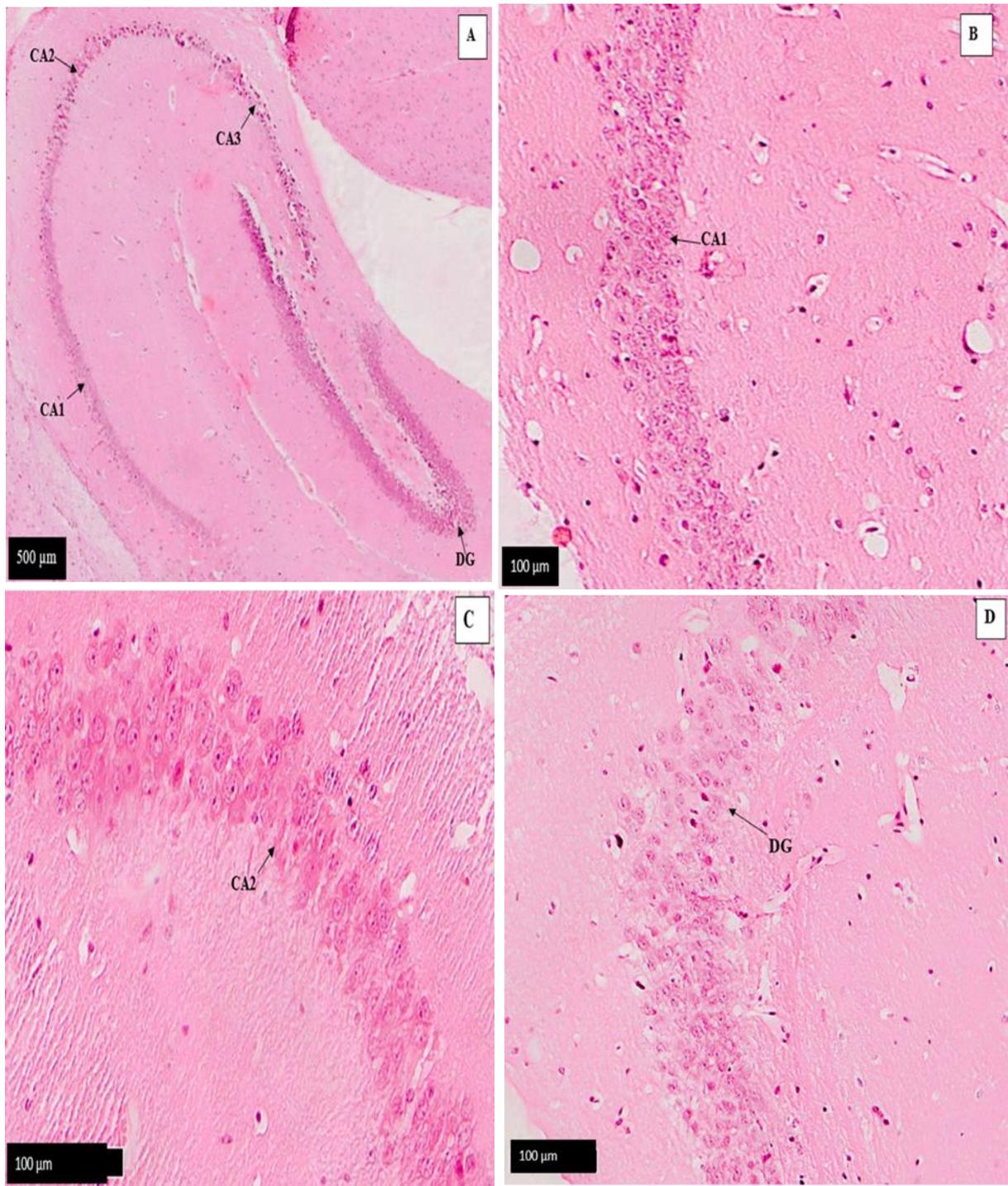
**Figure 71** : photomicrographie du hippocampe de souris Alzheimer (ALZ) qu'il a reçus chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 100 mg/kg associé au D-Galactose à 120 mg/kg , à la suite de l'expérience , des section de cerveau de souris , l'hippocampe a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de 500μm , 250 μm , 100 μm (A , B , C/D) respectivement .



**Figure 72** : 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 73** : 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.



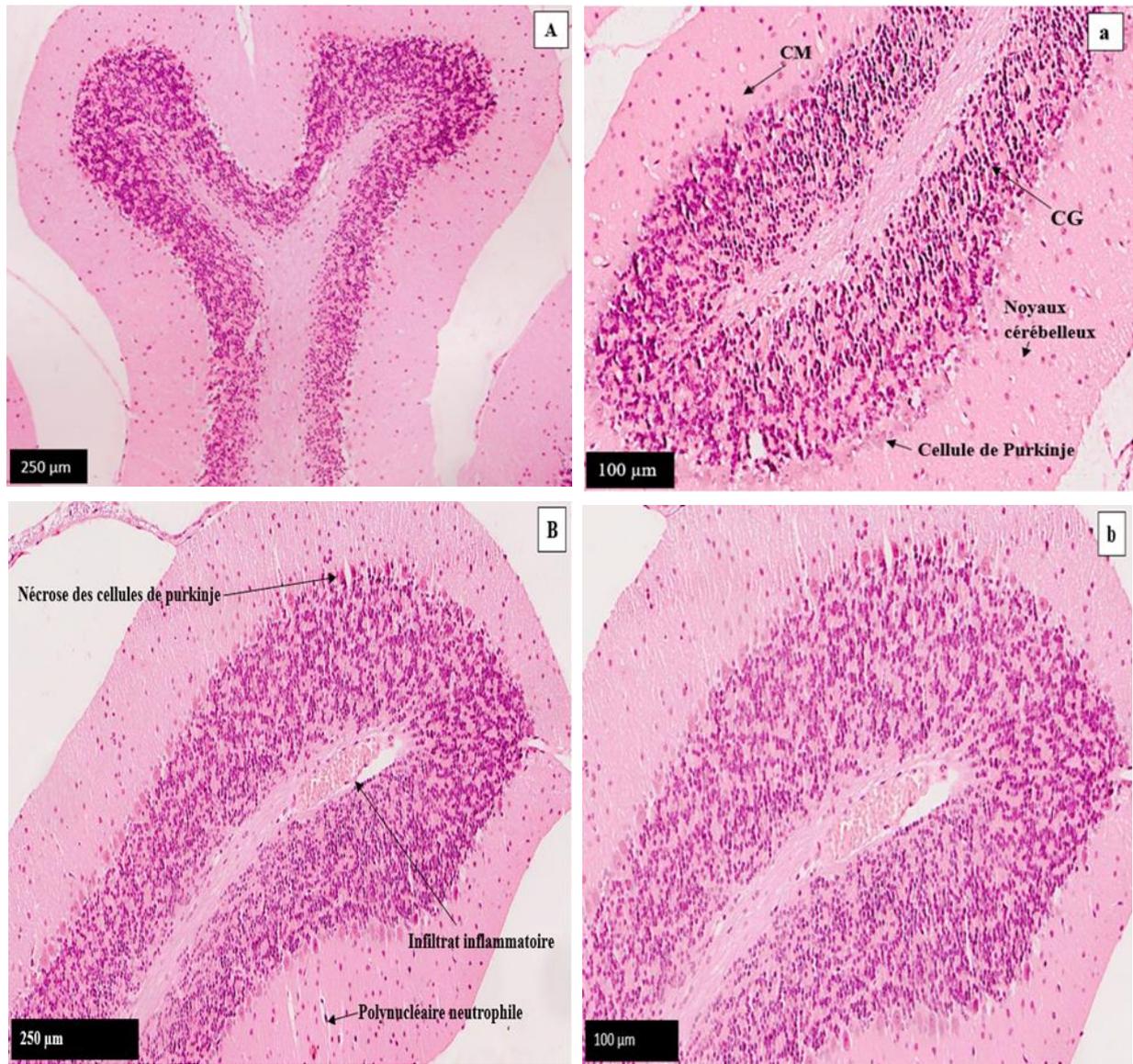
**Figure 74** : photomicrographie de l'hippocampe de souris (ALZ-ED2) modèle Alzheimer traité avec extrait de PE à 200 mg/kg, à la suite de l'expérience, des sections de cerveau de souris, l'hippocampe, a été préparé et coloré avec H&E avant d'être examinées au microscope optique à un grossissement de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

**II.7.2.3. Cervelet**

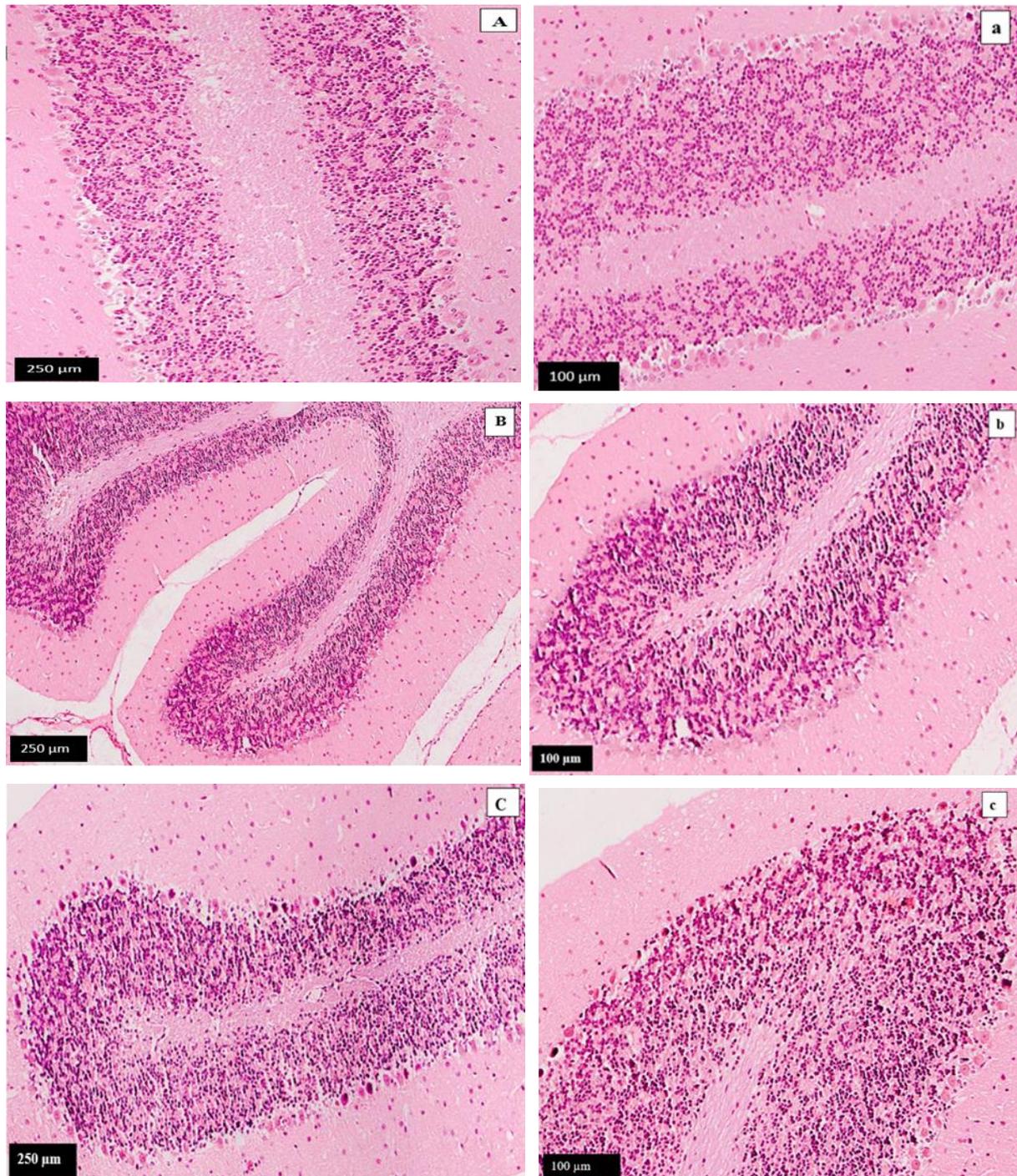
Chez le groupe témoin, l'examen du cervelet a révélé une couche moléculaire présentant une architecture normale (**Fig. 75.A.a**). En revanche, une nécrose fréquente des cellules de Purkinje a été observée dans le cervelet du groupe Alzheimer (**Fig. 75.B.b**).

Fait notable, aucune altération histologique n'a été détectée dans le cervelet de tous les groupes bénéficiant d'un traitement protecteur (Alz-ED1, Alz-ED2) (**Fig. 76.B.b, C.c**). De même, le cervelet des souris traitées avec 1 mg/kg de rivastigmine (Alz-STD) apparaissait préservé (**Fig. 76.A.a**).

Ces résultats soulignent les effets protecteurs de la rivastigmine ainsi que de la fraction riche en stilbénoides de *Passiflora edulis* sur l'intégrité structurale du cervelet, contrastant avec les lésions neurodégénératives observées dans le groupe Alzheimer non traité.



**Figure 75 :** photomicrographie du cervelet de souris témoin (A, a) ; Alzheimer (ALZ) (B, b) a reçus chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) 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 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  $\mu\text{m}$  , 100  $\mu\text{m}$  .

### II.7.3. Discussion

Dans cette étude, un modèle souris de la maladie d'Alzheimer a été induit par l'administration conjointe de D-galactose et d'AlCl<sub>3</sub>, entraînant des altérations de l'apprentissage et de la mémoire.

Une exposition excessive à l'AlCl<sub>3</sub> peut en effet stimuler la surexpression de la protéine précurseur bêta-amyloïde, aboutissant à un dépôt de plaques bêta-amyloïdes (A $\beta$ ) dans le cerveau, et conduisant ainsi à une neurotoxicité sévère et à des pathologies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer.

Quant au D-galactose (D-gal), c'est un sucre réducteur capable de réagir avec les groupes amines libres des peptides et protéines, produisant ainsi des produits finaux de glycation avancée (AGE). Une administration chronique à faible dose de D-gal chez l'animal peut mimer certains processus naturels du vieillissement, notamment le stress oxydatif, les troubles cognitifs et d'autres altérations [Doungue, H.T et al., 2018]. Ce modèle animal combinant l'AlCl<sub>3</sub> et le D-galactose s'avère donc pertinent pour étudier les mécanismes pathologiques de la maladie d'Alzheimer.

De plus, des études ont montré que l'administration sous-cutanée prolongée de D-galactose chez la souris entraîne une réduction significative de l'activité de l'acétylcholine (ACh) dans le cerveau. Ainsi, le modèle combinant l'AlCl<sub>3</sub> et le D-galactose pour simuler les pathologies de type maladie d'Alzheimer et les troubles cognitifs associés constitue un outil particulièrement pertinent pour évaluer l'efficacité de thérapies anti-Alzheimer.

Il est en effet établi que le chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) contribue à l'étiologie de diverses maladies neurodégénératives en affectant de nombreuses biomolécules liées à la neurotoxicité [Abbas, F et al., 2022 ; Mehrbeheshti, N et al., 2022]. L'AlCl<sub>3</sub> est notamment connu pour accélérer le stress oxydatif, la réticulation et le dépôt d'oligomères A $\beta$ , ainsi que la formation de plaques amyloïdes dans le cortex cérébral et l'hippocampe.

Par conséquent, le modèle de maladie d'Alzheimer induit par l'AlCl<sub>3</sub> chez le rat constitue un outil pertinent pour étudier les effets neuroprotecteurs de divers composés phytochimiques et chimiques contre cette pathologie [Chen, S.X et al., 2022 ; El Bini-Dhouib et al., 2021].

Étant donné la prédominance de l'aluminium dans l'environnement, les activités de la vie courante et l'alimentation, l'exposition à ce métal est pratiquement inévitable [Mesole, S.B et al., 2020 ; Skalny, A.V et al., 2021]. Ce modèle d'étude utilisant l'aluminium permet donc de reproduire fidèlement les effets protecteurs et améliorants de certains composés chimiques contre la maladie d'Alzheimer chez l'homme [Hamdan, A.M.E et al., 2022].

En effet, une exposition chronique à l'aluminium est associée à des altérations comportementales et neuropathologiques. Parmi celles-ci, les déficits d'apprentissage et les troubles des fonctions comportementales sont particulièrement manifestes [Kumar et Gill, 2009].

Ce modèle animal reproduisant les effets neurotoxiques de l'aluminium s'avère donc très pertinent pour étudier les mécanismes d'action et le potentiel thérapeutique de diverses molécules dans la maladie d'Alzheimer.

Dans la présente étude, l'administration chronique de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>, 100 mg/kg) chez la souris a entraîné des troubles comportementaux, comme l'ont révélé les différents tests d'évaluation comportementale réalisés, incluant l'activité locomotrice, la curiosité, le labyrinthe en croix surélevé et le test du compartiment noir/blanc.

Nos travaux se sont ainsi intéressés à l'impact de l'exposition chronique au chlorure d'aluminium sur le comportement, évalué à travers cette batterie de tests chez la souris. Le traitement par phytothérapie s'est avéré prometteur dans la prise en charge de ces troubles neurologiques du comportement.

Plusieurs études ont utilisé le test d'activité locomotrice, qui permet notamment d'évaluer la mémoire de travail à court terme, une fonction dépendante de l'hippocampe [Krauter, Guest et Sarnyai, 2019 ; Hullmann et al., 2017].

Les résultats de ce test, menés après exposition au chlorure d'aluminium, ont mis en évidence une hypoactivité locomotrice chez les souris modèles de la maladie d'Alzheimer par rapport aux témoins. Ces données corroborent les travaux antérieurs [Kumar et al., 2009 ; Golube et al., 1998 ; Kumar et al., 2009], mais contrastent avec celles rapportées par [Amador et al., 2001] qui avaient observé une augmentation de l'activité locomotrice suite à l'administration d'AlCl<sub>3</sub>.

Par ailleurs, [Muzzu, Mitolo, Gava et Schultz, 2018] ont également signalé que les rats traités à l'AlCl<sub>3</sub> ont parcouru des distances beaucoup plus faibles que les autres groupes. Il est bien établi que le cervelet joue un rôle clé dans la locomotion, suggérant que les perturbations locomotrices observées pourraient refléter une atteinte cérébelleuse, en accord avec les travaux de [Hritcu et al., 2014].

La consommation quotidienne d'extrait de graines de *Passiflora edulis* a entraîné une diminution de l'activité locomotrice chez les souris modèles de la maladie d'Alzheimer, et ce, de manière dose-dépendante. En effet, les groupes traités avec les doses de 100 mg/kg (Alz-D1) et 200 mg/kg (Alz-D2) ont présenté une hypoactivité locomotrice par rapport aux souris témoins.

Concernant le test de curiosité, il a été observé que les souris modèles de la maladie d'Alzheimer étaient moins curieuses après 45 jours d'administration de chlorure d'aluminium, ce qui reflète une manifestation d'anxiété comparativement aux souris témoins (T). Ces résultats sont cohérents avec les travaux de [Gadouche et al., 2018] et [Zerrouki et al., 2016], mais contrastent avec ceux rapportés par [Djebli et Rebai, 2008], qui avaient au contraire observé une plus grande exploration (curiosité et dynamisme) chez les souris modèles de la maladie d'Alzheimer par rapport aux témoins. Ces mêmes observations ont également été faites après la période thérapeutique. En effet, les souris modèles de la maladie d'Alzheimer (Alz), ainsi que celles atteintes de la maladie d'Alzheimer et traitées avec l'extrait de graines de *P. edulis* à 100 mg/kg (Alz-D1) et 200 mg/kg (Alz-D2) ou avec du donépézil (Alz-STD), ont manifesté une curiosité moins intense que les souris témoins (T).

Concernant le test du compartiment noir et blanc, il a été constaté qu'après l'induction de la maladie d'Alzheimer, les souris modèles passaient moins de temps dans le compartiment noir que les témoins (différence significative), ce qui concorde avec les travaux de Djebli et Rebai (2008). Cependant, ces résultats sont en contradiction avec ceux de Zerrouki et al. (2016), qui avaient observé que les souris modèles de la maladie d'Alzheimer passaient davantage 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 de 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 induit une action antioxydante, les souris atteintes de la maladie d'Alzheimer et traitées (Alz-D1, Alz-ED2) deviennent plus 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 que les souris modèles de la maladie d'Alzheimer ont passé moins de temps dans le bras protégé par rapport aux témoins (T), après 45 jours d'exposition au chlorure d'aluminium. Plusieurs travaux ont confirmé ces observations : les rats traités avec  $AlCl_3$  ont montré une latence de transfert réduite (pour localiser le bras fermé) dans la session de rétention [Chiroma et al., 2019 ; Ahmad Rather et al., 2019]. Les rats traités avec le médicament classique rivastigmine- $AlCl_3$  ont été capables d'inverser ces déficits.

À l'opposé, 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), qui ont passé plus de temps dans les bras protégés, et significativement supérieure à celle des souris modèles de la maladie d'Alzheimer (Alz). Cependant, les résultats de [Ayres, A. S et al., 2015], ont montré que l'extrait aqueux des fruits de *Passiflora edulis* n'a eu aucun effet significatif sur le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts et la fréquence des entrées dans les bras fermés chez les souris traitées.

D'après les études de [Khalifa et al., 2020 ; Ogunlade et al., 2020], les rats traités à l' $AlCl_3$  ont montré une réduction du nombre d'entrées dans le bras et du pourcentage d'alternance spontanée, bien que ces résultats ne soient pas significatifs. Ces observations sont cohérentes avec une découverte antérieure ayant mis en évidence une diminution du pourcentage d'alternance dynamique chez les rats ayant reçu de l' $AlCl_3$ .

Par ailleurs, plusieurs études se sont penchées sur les effets de *Passiflora edulis* (*P. edulis*) sur l'anxiété, soulevant cependant des résultats controversés. [Petry et al., 2001], [Coleta et al., 2006] et [Barbosa et al., 2008] ont montré que *P. edulis Sims* réduisait l'anxiété chez les souris. Cependant, [Dhawan et al., 2001] ont indiqué que *P. edulis Sims* était dépourvu d'activité anxiolytique. Plus récemment, [Li et al., 2011] a observé que les deux variétés de *P. edulis* permettaient de réduire les comportements d'anxiété.

Afin d'étudier la mémoire des souris, les tests du labyrinthe de Morris et du labyrinthe radial à 8 bras ont été établis. Au cours de ces épreuves, la capacité des souris à s'échapper de la piscine, à retourner dans leur cage ou à trouver de la nourriture dépend de leurs fonctions attentionnelles, d'apprentissage, mnésiques et visuelles [Doungue, H.T et al., 2018].

Les différences de performances observées au cours de ces tests ont ainsi permis d'évaluer les effets neurothérapeutiques des fractions acétoniques riches en stilbènes issues des graines de *Passiflora edulis* (*P. edulis*) sur les fonctions cognitives.

Dans cette étude sur la mémoire, les souris traitées avec AIC13 et D-galactose ont présenté une altération significative ( $p < 0,01$ ) de leur mémoire et de leurs capacités d'apprentissage. Ceci a été associé à la présence de neurones dégénérés dans le cortex cérébral, l'hippocampe et le cervelet, ainsi qu'à des anomalies histo-morphologiques. Ces résultats sont en adéquation avec ceux rapportés par [Chiroma, S.M et al., 2018, 2019], [Zerrouki, Kh et al., 2016], [Gadouche, L et al., 2018] et [Yang, W.N et al., 2013].

De manière intéressante, la fraction acétonique des graines de *P. edulis* (PEAS) a entraîné une réduction très significative du nombre de bras répétés chez les souris des groupes Alz-ED1, Alz-ED2 et rivastigmine (1 mg/kg), comparativement aux souris modèles de la maladie d'Alzheimer (Alz), et ce dans divers tests évaluant la mémoire de travail spatiale et le labyrinthe aquatique de Morris.

Dans le test de mémoire de travail spatiale, les souris traitées avec Alz-ED1 et Alz-ED2 ont commis significativement moins d'erreurs d'entrées répétées dans les bras (scores de 11 et 9 respectivement) comparées aux souris atteintes de 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 et traitées (Alz-ED2, Alz-ED1) sont restées plus longtemps dans le bras éclairé (85 secondes et 70 secondes respectivement) que les souris non traitées souffrant de la maladie d'Alzheimer (Alz) (65 secondes) ( $p \leq 0,001$ ).

Par ailleurs, le score de visite dans le bras appâté lors de l'expérience de distinction de position était inférieur chez les souris modèles de la maladie d'Alzheimer (score de 6) comparé aux souris Alz-STD (score de 9,5). Cependant, ce score était significativement supérieur chez les souris traitées avec la fraction PEAS à 200 mg/kg et 100 mg/kg (Alz-ED2 et Alz-ED1) (scores

de 8 et 8,5 respectivement) par rapport aux souris non traitées atteintes de la maladie d'Alzheimer ( $p \leq 0,001$ ).

Dans les deux tests du labyrinthe aquatique de Morris, à savoir la mémoire spatiale de travail (MST) et la mémoire de référence spatiale conditionnée (SRM), les souris modèles de la maladie d'Alzheimer ont mis beaucoup plus de temps pour localiser la plate-forme que les souris témoins et les souris traitées (Alz-ED2, Alz-STD).

Au cours du test de mémoire spatiale de travail, les souris atteintes de la maladie d'Alzheimer et traitées (Alz-ED1, Alz-ED2 et Alz-STD) ont respectivement mis environ 3,5, 2,5 et 1,5 secondes pour localiser la plate-forme visible (dans le pool de Morris). En revanche, les souris modèles de la maladie d'Alzheimer ont mis 7,5 secondes de plus pour atteindre cette même plate-forme ( $p \leq 0,001$ ).

De même, dans le test de mémoire de référence spatiale conditionnée, les souris modèles de la maladie d'Alzheimer (Alz) ont mis 10 secondes de plus que tous les autres groupes pour terminer le labyrinthe d'eau de Morris, 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) ( $p \leq 0,001$ ).

Les souris traitées avec du PEAS à des doses de 100 mg/kg et 200 mg/kg ont respectivement passé 47 % et 66 % moins de temps que les souris modèles de la maladie d'Alzheimer (Alz) à chercher la plate-forme ou à explorer le bras sombre [Ito, H. T. et al., 2013]. Des études antérieures ont montré que ces souris atteintes de la maladie d'Alzheimer et présentant des déficits cognitifs mettent plus de temps que les souris témoins à localiser la plate-forme ou à naviguer dans le labyrinthe [Mahdi, O. et al., 2021 ; Chiroma, S. M. et al., 2019].

De manière générale, l'administration de PEAS a entraîné une diminution significative du temps et du nombre d'erreurs nécessaires aux souris traitées pour trouver de la nourriture ou un moyen de sortir du labyrinthe, comparé aux souris modèles de la maladie d'Alzheimer (Alz). Ces résultats indiquent que l'apprentissage et la mémoire ont été considérablement améliorés et restaurés chez les souris ayant reçu le traitement au PEAS

L'administration d'ions aluminium a altéré non seulement la mémoire spatiale, mais aussi la mémoire à long terme (mémoire de référence) chez les souris. L'échec cognitif observé chez les souris AlCl<sub>3</sub>/D-Gal, un modèle de la maladie d'Alzheimer, serait la conséquence d'une neurodégénérescence et de modifications dans des régions spécifiques 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, se traduisant par un déficit dans les processus d'apprentissage et d'acquisition. Ces changements sont également le résultat de la dégénérescence neuronale et de la mémoire à long terme dans ce modèle de la maladie d'Alzheimer [Thangarajan, S. et al., 2014].

Les études ont montré que l'administration d'AlCl<sub>3</sub> provoquait un déclin de l'apprentissage spatial et de la mémoire, ainsi que des changements histopathologiques dans le cerveau des rats ou des souris. Cependant, les composés phytochimiques ont démontré des effets bénéfiques : ils ont restauré les activités antioxydantes, bloqué l'activation de l'inflammasome, l'apoptose, l'expression de TLR4, la génération d'amyloïde- $\beta$  et l'hyperphosphorylation de la protéine tau [Hamdan, A. M. E. et al., 2022].

Une cytoarchitecture anormale, avec des neurones en dégénérescence et des dépôts de plaques amyloïdes, a été observée chez les souris traitées avec un mélange de chlorure d'aluminium et de D-galactose. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Yi, S. et al. (2021) et Saba, K. et al. (2017), qui ont conclu à une forte corrélation entre l'AlCl<sub>3</sub> et le développement de la maladie d'Alzheimer. L'AlCl<sub>3</sub> peut en effet traverser la barrière hémato-encéphalique et se déposer dans diverses régions cérébrales, favorisant ainsi la formation d'A $\beta$ , l'agrégation de tau hyperphosphorylé, la peroxydation lipidique et l'altération de l'apprentissage et de la mémoire.

De plus, Doungue et al. (2018) ont étudié les changements histologiques et comportementaux causés par l'exposition à l'AlCl<sub>3</sub> et les effets potentiels d'un traitement à l'EP. Ils ont constaté que l'exposition chronique au chlorure d'aluminium provoquait des modifications morphologiques significatives dans la région CA1 de l'hippocampe, telles 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 neuroprotecteur et atténuait les effets de la maladie d'Alzheimer par rapport au groupe Alzheimer.

Les résultats ont indiqué que la fraction acétone riche en stilbène extraite des graines de *Passiflora edulis* était capable d'améliorer la mémoire et d'inverser les troubles cognitifs, suggérant ainsi son potentiel en tant qu'agent neuroprotecteur contre la neurotoxicité induite par le D-galactose et l' $AlCl_3$ . Cette fraction de *P. edulis* peut améliorer la fonction cognitive de deux manières différentes : en réduisant le stress oxydatif et en inhibant l'activité du cholinestérase [**Hamdan, A. M. E. et al., 2022**].

De plus, nos résultats ont montré que l'administration concomitante de *Passiflora edulis* (PE) et d' $AlCl_3$  pourrait atténuer les changements dégénératifs induits par l'aluminium. Ces résultats sont confirmés par les travaux de **Doungue et al. (2018)**, qui ont montré que le traitement des rats atteints de la maladie d'Alzheimer avec PE a amélioré les changements neurocomportementaux, comme en témoigne l'amélioration de la fonction cérébrale, ainsi que la modulation de l'AChE. Cet effet neuroprotecteur a été confirmé par les changements histologiques et le test du labyrinthe de Morris. Les auteurs ont également suggéré que les flavonoïdes représentent la majeure partie de l'activité antioxydante et de l'effet neuroprotecteur de *Passiflora edulis*.

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

L'étude de **Doungue et al. (2018)** a clairement montré que l'extrait aqueux des fruits de *Passiflora edulis* possède des propriétés anticholinergiques, anti-neuro-inflammatoires, anti-amyloïdogènes et antioxydantes. Cet extrait pourrait donc inverser le dysfonctionnement cognitif induit par l'aluminium, la fonction cognitive ayant été restaurée lors du traitement par *Passiflora edulis* (PE). Cependant, les résultats de cette étude ont montré que l'effet global de l'extrait aqueux était plus important que celui de la seule fraction.

De plus, les résultats de **Cao et al. (2022)** ont montré que le péricarpe de *Passiflora edulis* protège contre les déficits de mémoire et la perte neuronale, et favorise la longévité dans le modèle de la maladie d'Alzheimer induit par le peptide bêta-amyloïde, via la stimulation de la mitophagie. Ces résultats indiquent que *Passiflora edulis* protège contre les déficiences de mémoire et prolonge la durée de vie, en particulier dans le modèle de la maladie d'Alzheimer induit par le peptide bêta-amyloïde.

Le péricarpe de *Passiflora edulis* a également démontré la capacité de restaurer la mémoire et d'augmenter la résilience neuronale dans le contexte de la maladie d'Alzheimer [Cao, S. Q. et al., 2022]. De plus, des études épidémiologiques indiquent que la maladie d'Alzheimer n'altère pas seulement la mémoire, mais raccourcit également la durée de vie des patients [Ping, Y. et al., 2015 ; Alzheimer's Association, 2016].

Ces résultats soulignent le potentiel thérapeutique prometteur de *Passiflora edulis*, et plus particulièrement de son péricarpe, dans la prise en charge de la maladie d'Alzheimer. Non seulement cette plante peut améliorer les déficits cognitifs, mais elle pourrait également contribuer à prolonger l'espérance de vie des patients atteints de cette pathologie neurodégénérative sévère.

## II.8. Dosage de l'acétylcholinestérase *in vivo*

### II.8.1. 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.8.2. 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 ddH<sub>2</sub>O 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.

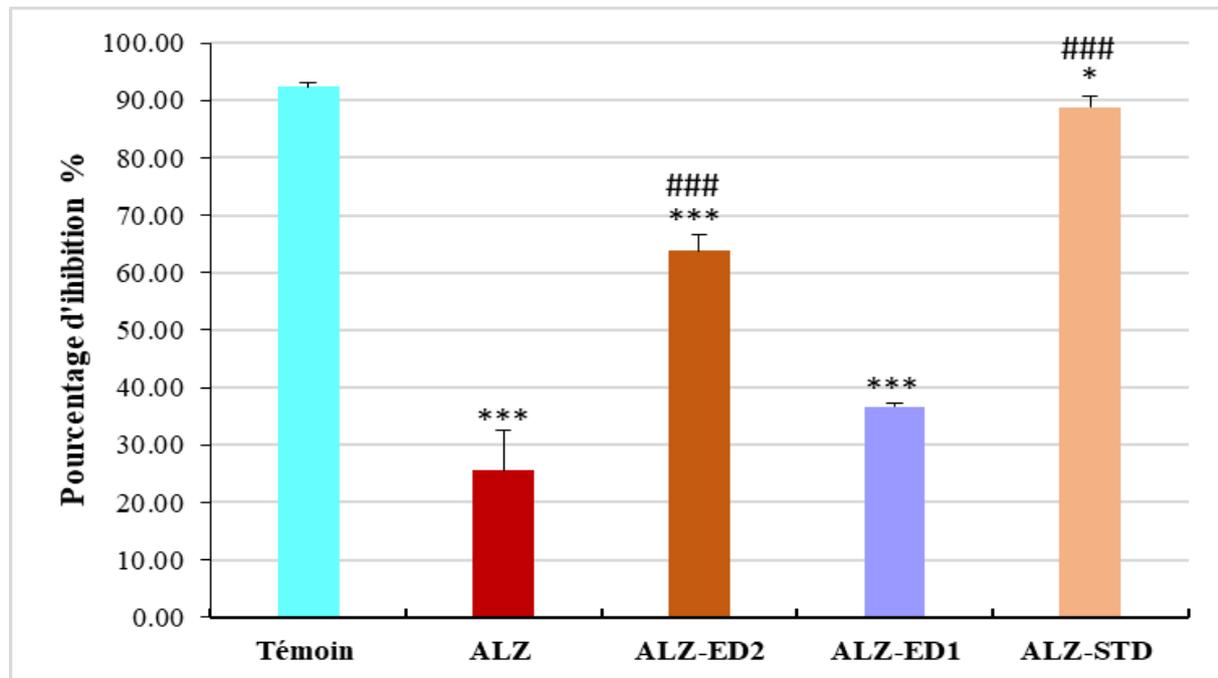
Ae : absorbance de la solution enzymatique en présence de l'extrait.

Les résultats ont été exprimés en CI<sub>50</sub> (%) (Concentration d'extrait requise pour inhiber l'activité de l'AChE dans 50 %).

### II.8.3. Les Résultats

Dans cette étude, les effets de l'extrait des graines de *Passiflora edulis* sur l'inhibition de l'acétylcholinestérase ont été évalués chez des souris femelles de souche NMRI. Les résultats présentés dans la figure 79 montrent un puissant effet inhibiteur de l'acétylcholinestérase dans le groupe traité avec l'extrait de *Passiflora edulis* à la dose de 200 mg/kg, comparable à celui observé dans le groupe traité avec les médicaments de référence, la rivastigmine ou le donépézile, en comparaison au groupe modèle de la maladie d'Alzheimer ( $p \leq 0,001$ ).

Ces données suggèrent que l'extrait de graines de *Passiflora edulis* présente un potentiel thérapeutique intéressant pour le traitement de la maladie d'Alzheimer, en raison de sa capacité à inhiber de manière significative l'activité de l'enzyme acétylcholinestérase, un mécanisme clé dans la pathophysiologie de cette pathologie neurodégénérative.



**Figure 77 :** Activité inhibitrice de l'AChE (%) chez les souris chez : souris témoins ; Alz : souris modèle Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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'AlCl<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale). \*P≤ 0.05, \*\*P≤ 0.01, \*\*\*P≤ 0.001 comparativement aux témoins. #P≤ 0.05, ##P≤ 0.01, ###P≤ 0.01 comparativement Alzheimer (Alz).

De précédentes études sur les traitements anti-Alzheimer ont évalué les niveaux d'acétylcholinestérase (AChE) dans le cerveau, utilisant généralement des rats mâles de souche Wistar albinos comme modèle expérimental [Zhang, Y. et al., 2016 ; Hasanein, P. & Mahtaj, A.K., 2015 ; Mathiyazahan, D.B. et al., 2015]. Les résultats obtenus dans la présente étude ont été corroborés par les travaux récents de **Smilin Bell et al. (2020)**.

Ces effets bénéfiques pourraient être attribués à la teneur élevée en composés phénoliques totaux, ainsi qu'à la concentration en picéatannol présente dans l'extrait étudié. Cette hypothèse est confortée par les observations de **Rege, S.D. et al. (2014)**, qui ont mis en évidence le potentiel thérapeutique du resvératrol, un composé phénolique, dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Ainsi, les propriétés anti-acétylcholinestérasiques de l'extrait de *Passiflora edulis* semblent prometteuses pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques contre cette pathologie neurodégénérative.

Les travaux de **Dos Santos, L.C. et al. (2021)** ont évalué l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase d'une gamme de concentrations en picéatannol, comprise entre 1,67 et 16,67 µg/ml. Leurs résultats ont indiqué une valeur de CI50 de  $10,892 \pm 1,753$  µg de picéatannol/ml, confirmant que ce composé phénolique est un puissant inhibiteur de l'AChE. Ces observations sont en accord avec celles rapportées précédemment par **Santos et al. (2018)**, qui ont comparé l'activité du picéatannol à celle de la galantamine, un inhibiteur de référence de l'AChE, obtenant une CI50 de  $0,89 \pm 0,06$  µg de galantamine/ml.

Ces données soulignent le potentiel thérapeutique du picéatannol, l'un des composés bioactifs majeurs présents dans l'extrait de *Passiflora edulis*, dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Ses propriétés inhibitrices de l'acétylcholinestérase pourraient contribuer à améliorer les déficits cognitifs caractéristiques de cette pathologie neurodégénérative.

Plusieurs résultats soulignent l'importance de développer des procédés de purification efficaces pour isoler les composés bioactifs d'intérêt. À cet égard, les travaux récents de **Dumont, U. et al. (2020)** ont étudié les effets d'une consommation modérée d'alcool (0,5 g/kg/jour) associée à l'administration de deux stilbènes, le resvératrol et le picéatannol, pendant la grossesse et l'allaitement, sur le cerveau du fœtus chez le rat.

Les auteurs ont conclu qu'une dose modérée de 0,15 mg/kg/jour de picéatannol était capable de protéger le cerveau contre certains types de lésions cérébrales. De plus, la consommation de picéatannol a permis une récupération des fonctions cognitives après de telles lésions.

Ces résultats soulignent le potentiel neuroprotecteur du picéatannol, l'un des principaux composés bioactifs présents dans l'extrait de *Passiflora edulis*. Ils renforcent ainsi l'intérêt de développer des procédés de purification optimisés afin d'isoler et de concentrer ce composé phénolique, en vue de futures applications thérapeutiques contre les pathologies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer.

L'analyse structurale et moléculaire joue un rôle essentiel dans la compréhension des mécanismes associés aux maladies, car elle peut révéler comment les interactions moléculaires peuvent être exploitées pour améliorer les traitements.

Dans leurs travaux, **Santos, T.C.D. et al. (2018)** ont conclu que l'enrichissement en stilbène, le picéatannol, dans l'extrait des graines de *Passiflora edulis*, a conduit à une diminution de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE). Ce résultat est potentiellement lié à la capacité de la structure moléculaire du picéatannol à entrer en compétition avec le substrat naturel de l'AChE, l'acétylcholine, au niveau des sites anioniques et périphériques de l'enzyme.

Ces observations soulignent l'importance de l'étude des interactions moléculaires dans le développement de traitements innovants contre les pathologies neurodégénératives, telles que la maladie d'Alzheimer, où une perturbation du système cholinergique joue un rôle clé. La caractérisation structurale du picéatannol et de ses modes d'interaction avec l'AChE pourrait ainsi guider la conception rationnelle de nouveaux inhibiteurs plus sélectifs et efficaces.

**Melo Filho, A. A. et al. (2018)** ont rapporté une inhibition de 96,46% de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) lors de l'application d'un extrait hexanique de *Passiflora foetida* à une concentration de 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 la pulpe et des graines de *Passiflora caerulea* présentait un bon effet inhibiteur de l'AChE, à une dose de 100 mg/kg chez les animaux traités.

L'AChE est l'enzyme marqueur des neurones cholinergiques, responsable de la dégradation de l'acétylcholine, un neurotransmetteur essentiel pour la mémoire à court terme. Nos propres résultats montrent que le traitement à l'aluminium a augmenté l'activité de l'AChE dans le cerveau, avec une faible inhibition enzymatique. Ces observations sont cohérentes avec les

travaux de **Hussien, H.M. et al. (2018)**, **Yuliani, S. et al. (2019)** et **Doungue, H.T. et al. (2018)**.

Ces différentes études soulignent le potentiel inhibiteur de l'AChE des extraits de *Passiflora* ouvrant des perspectives intéressantes pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques contre les troubles neurodégénératifs liés à un dysfonctionnement du système cholinergique.

## **II.9. Immunohistochimie fluorescente par l'anticorps « anti-beta amyloïdes »**

### **II.9.1. 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 rincées 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<sup>er</sup> 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.9.2. Protocole**

Des analyses immunohistochimiques ont été effectuées sur des coupes de tissus inclus en paraffine afin de mettre en évidence la présence des plaques amyloïdes. Cette technique a impliqué l'utilisation d'anticorps spécifiques dirigés contre la protéine bêta-amyloïde ainsi que des anticorps anti-IgG.

Le protocole immunohistochimique se déroule en plusieurs étapes successives :

\*Préparation des coupes histologiques

\*Marquage des antigènes cibles par les anticorps primaires

\*Détection des complexes antigène-anticorps par des anticorps secondaires marqués

\*Révélation du signal immunohistochimique

\*Visualisation et analyse microscopique des marquages

Cette approche permet de localiser et de caractériser avec précision la distribution spatiale des dépôts amyloïdes dans les tissus, fournissant des informations importantes pour la compréhension des mécanismes physiopathologiques impliqués dans les maladies neurodégénératives.

### **II.9.2.1. 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.9.2.2. 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.9.2.3. 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-téraméthylbutyl ) 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.9.2.4. 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.9.2.5. 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.9.2.6. 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 farde 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.10. Immunohistochimie des plaques amyloïdes par la Thio flavine (ThS) :****II.10.1. Principe :**

La Thioflavine S (ThS) est un fluorophore couramment utilisé pour la détection des plaques amyloïdes bêta et des dégénérescences neurofibrillaires dans le cadre de la maladie d'Alzheimer.

En présence d'agrégats protéiques, tels que les peptides bêta-amyloïdes et les protéines Tau, la fluorescence émise par la ThS est nettement renforcée. Cela permet de visualiser ces agrégats avec une coloration verte caractéristique en microscopie à fluorescence.

Cette propriété de la ThS à se lier spécifiquement aux structures fibrillaires amyloïdes en fait un outil de choix pour l'imagerie et la caractérisation des lésions neuropathologiques associées aux maladies neurodégénératives. L'examen microscopique des marquages à la ThS révèle ainsi la distribution spatiale et l'abondance des dépôts amyloïdes et des dégénérescences neurofibrillaires dans les tissus cérébraux affectés.

### **II.10.2. Protocole**

Les coupes histologiques sont déparaffinées par deux bains de toluène [5 min /bain]. Les coupes déparaffinées sont prolongées dans une solution de Thio flavine 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 'eau distillé. Les coupes sont ensuite montées.

### **II.10.3. 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.11. Résultats**

L'évaluation de l'effet de la fraction des graines de *Passiflora edulis* sur la formation et la propagation des plaques amyloïdes a été réalisée par microscopie optique à fluorescence sur des coupes de tissus cérébraux.

Cette analyse a impliqué l'utilisation combinée de deux approches de marquage :

\*L'immunomarquage à l'aide d'anticorps spécifiques dirigés contre la protéine bêta-amyloïde.

\*Le marquage à la Thioflavine S (ThS), un fluorophore qui se lie spécifiquement aux structures fibrillaires amyloïdes.

\*La mise en œuvre de ces deux techniques de détection a permis de visualiser et de caractériser avec précision la distribution et l'abondance des dépôts amyloïdes dans les échantillons de cerveaux étudiés, offrant ainsi une évaluation approfondie de l'impact de la fraction des graines de *Passiflora edulis* sur la pathologie amyloïde.

Cette approche combinant immunohistochimie et marquage à la ThS constitue une méthodologie de choix pour l'étude des lésions neuropathologiques associées aux maladies neurodégénératives

#### **II.11.1. Immunohistochimie fluorescente par l'anticorps « anti-beta amyloïdes »**

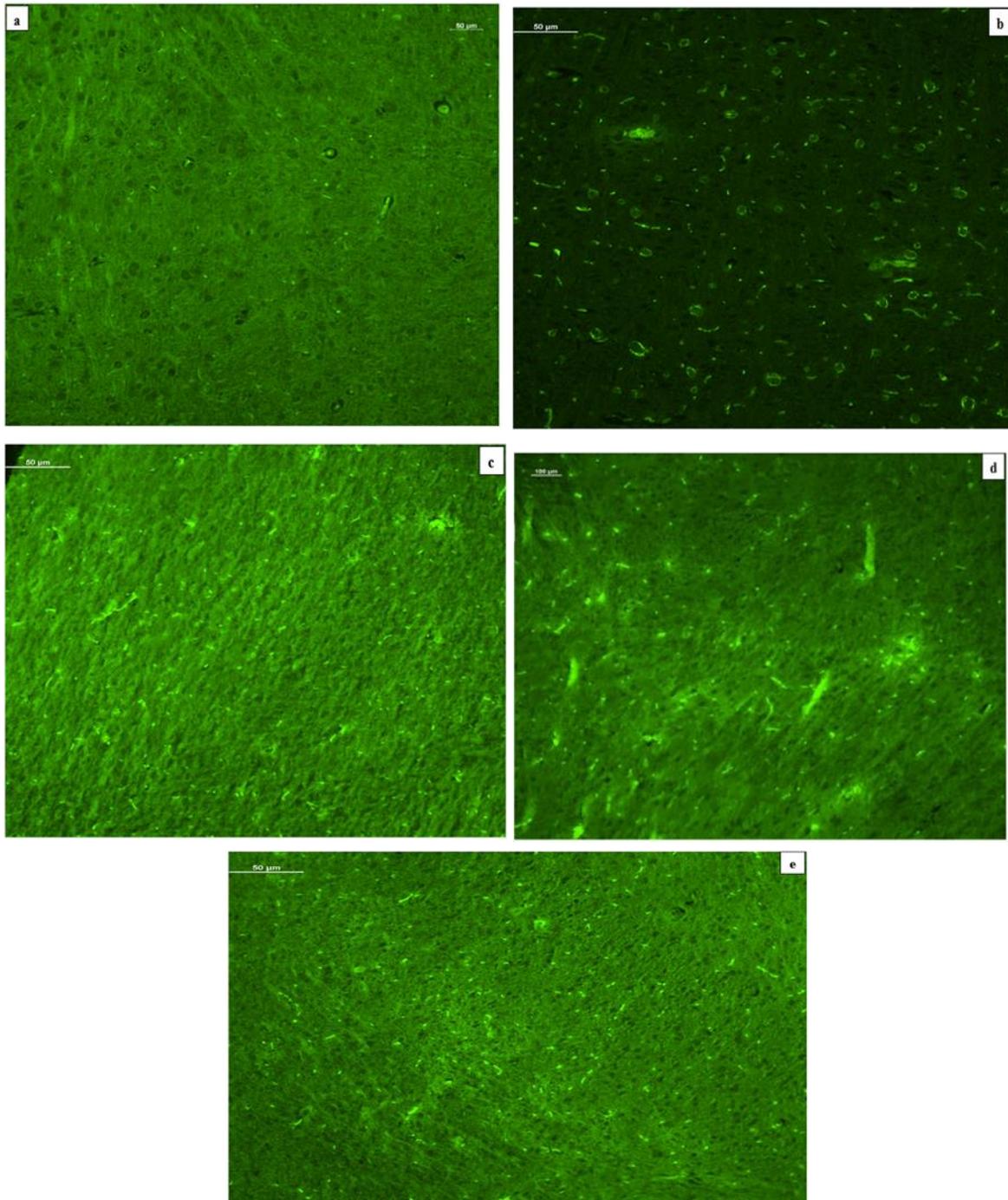
#### **II.11.2. Immunohistochimie des plaques amyloïdes par la Thio flavine (ThS) :**

Chez les souris atteintes de la maladie d'Alzheimer, les dépôts de bêta-amyloïdes et la fluorescence de la Thio flavine-S étaient principalement localisés dans le cortex cérébral (**Fig. 78, 79b**).

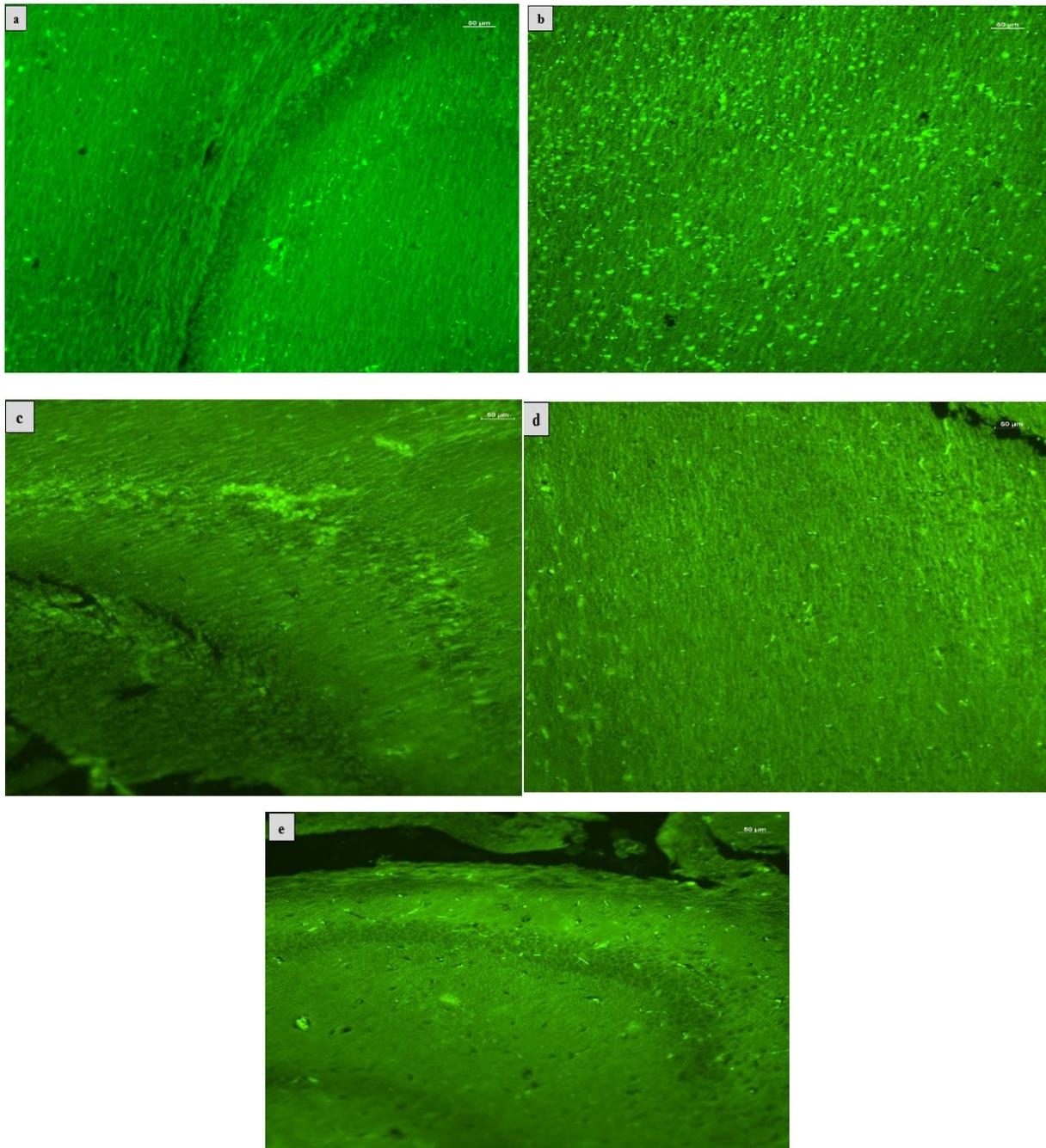
En revanche, chez les souris modèles de la maladie d'Alzheimer traitées avec l'extrait des graines de *Passiflora edulis*, ces plaques apparaissaient de manière plus discrète, avec un marquage ponctué et un signal de fluorescence plus faible (**Fig. 78, 79c, d, e**).

Enfin, presque aucun signe de fluorescence des peptides A $\beta$  ou de la Thio flavine-S n'a été détecté chez les souris témoins (**Fig. 78, 79a**).

Ces observations suggèrent que le traitement avec l'extrait de graines de *Passiflora edulis* a eu un effet bénéfique sur la formation et l'accumulation des lésions amyloïdes dans le modèle murin de la maladie d'Alzheimer, en comparaison avec les souris non traitées présentant une pathologie amyloïde plus sévère.



**Figure 78** : Marquage immunohistochimique du cerveau par anticorps anti-beta amyloïdes chez des souris témoins; Alz: souris modèle Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (100 mg / kg par voie orale combiné au D-galactose à 120 mg/kg par voie intrapéritonéale). Grossissement X10. Barres d'échelle : 50 µm.



**Figure 79 :** Marquage immunohistochimique du cerveau par Tio flavine TSh chez des souris témoins ; Alz : souris modèle Alzheimer (l'administration de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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.12. Discussion

L'agrégation et l'accumulation de peptides amyloïdes-bêta ( $A\beta$ ) sous forme de plaques  $A\beta$  dans le cerveau est une caractéristique pathologique majeure de la maladie d'Alzheimer (MA), à la fois de la forme la plus courante et la plus complexe de la maladie ainsi que de la forme familiale rare (FAD) [Karran & De Strooper, 2022]. Cette pathologie amyloïde joue un rôle central dans la neurodégénérescence et le déclin cognitif observés chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer. La compréhension des mécanismes moléculaires sous-jacents à l'agrégation et à l'accumulation des peptides  $A\beta$  représente donc un enjeu majeur pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques ciblées.

Les peptides amyloïdes-bêta ( $A\beta$ ) sont générés par un processus de protéolyse séquentielle de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP), réalisé par l'action coordonnée des enzymes  $\beta$ -sécrétase et  $\gamma$ -sécrétase [Dickson, 1997 ; Zheng & Koo, 2011].

Ce clivage enzymatique de l'APP conduit à la libération de différentes formes de peptides  $A\beta$ , dont les plus abondantes sont les isoformes  $A\beta_{40}$  et  $A\beta_{42}$ . Ces peptides ont alors tendance à s'agréger et à s'accumuler dans le parenchyme cérébral, formant les dépôts amyloïdes caractéristiques de la neuropathologie de la maladie d'Alzheimer.

Plus récemment, de nouvelles approches thérapeutiques ciblant les peptides amyloïdes-bêta ( $A\beta$ ) ont été étendues aux stades précliniques de la maladie d'Alzheimer [Aisen et al., 2013].

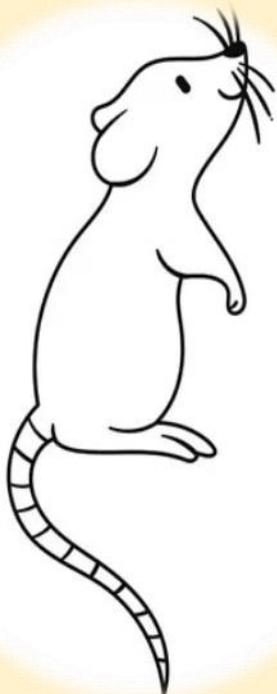
Cette stratégie vise à intervenir à des phases plus précoces de la maladie, avant l'apparition des symptômes cliniques manifestes, dans l'optique d'obtenir de meilleurs résultats thérapeutiques. En effet, le taux de réussite attendu des composés ayant des effets biologiques présumés sur la pathologie amyloïde serait plus élevé lors de ces stades précliniques, comparé aux stades plus avancés de la maladie.

Cette approche s'appuie sur la compréhension que les perturbations de l'homéostasie des peptides  $A\beta$  sont un événement clé dans l'initiation et la progression de la maladie d'Alzheimer. Cibler cette pathologie amyloïde à des phases plus précoces pourrait donc permettre de ralentir, voire de prévenir, le déclin cognitif et la neurodégénérescence observés chez les patients Alzheimer.

Bien que des questions théoriques et conceptuelles aient été soulevées sur l'attrait scientifique du développement de thérapies ciblant les plaques amyloïdes, en raison des échecs passés d'essais cliniques de médicaments contre la maladie d'Alzheimer [**Hampel et al., 2021**], les composés anti-amyloïde-bêta ( $A\beta$ ) continuent d'être étudiés avec des progrès prometteurs.

Plusieurs agents thérapeutiques anti- $A\beta$  sont actuellement à un stade avancé de développement, se rapprochant des étapes d'approbation réglementaire. Cette persistance des efforts de recherche s'appuie sur la compréhension du rôle central joué par la pathologie amyloïde dans l'initiation et la progression de la maladie d'Alzheimer. Malgré les défis rencontrés, le ciblage de cette voie pathogénique reste considéré comme une approche thérapeutique prometteuse pour tenter d'agir sur le déclin cognitif et la neurodégénérescence associés à cette pathologie.

# *Conclusion et perspectives*



Les produits naturels occupent une place prépondérante dans le domaine de la médecine, en répondant aux divers besoins de santé de la population. La communauté scientifique oriente ainsi ses efforts de recherche vers une valorisation appropriée des ressources naturelles, en caractérisant leurs propriétés et effets pharmacologiques.

Parallèlement, on observe l'émergence de pathologies humaines majeures au cours des années récentes, parmi lesquelles figure la maladie d'Alzheimer. Cette affection neurodégénérative s'est progressivement installée comme un enjeu sanitaire préoccupant, suscitant un intérêt croissant pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques, y compris à partir de sources naturelles.

La recherche sur les produits naturels s'avère donc essentielle pour tenter de répondre aux défis posés par ces maladies lourdes, dans une optique d'innovation thérapeutique et d'amélioration des soins de santé.

Dans la présente étude, nous avons mis en évidence l'extraction d'une fraction polyphénolique enrichie en stilbènes à partir de graines de *Passiflora edulis*. Nous avons ensuite évalué le potentiel neuroprotecteur de cette fraction, à la fois par des approches *in silico* et dans un modèle expérimental de la maladie d'Alzheimer induit par l'administration combinée d'aluminium et de D-galactose.

Ces résultats suggèrent que les composés stilbéniques présents dans les graines de *Passiflora edulis* pourraient receler des propriétés bénéfiques dans le contexte de la pathologie d'Alzheimer, ouvrant la voie à de futures investigations approfondies sur le sujet.

L'identification de telles molécules d'origine naturelle, dotées d'un effet neuroprotecteur potentiel, s'inscrit dans une dynamique de recherche visant à explorer de nouvelles pistes thérapeutiques innovantes pour cette maladie neurodégénérative complexe.

Les analyses phytochimiques qualitatives (HPTLC) et quantitatives (dosage des métabolites secondaires) ont révélé que la fraction acétonique à 70% des graines de *Passiflora edulis* (PEAS) présentait des teneurs élevées en composés phénoliques totaux, flavonoïdes et tanins. Les résultats de HPTLC ont également mis en évidence la présence de composés terpéniques, avec l'observation de bandes colorées, tandis que les bandes correspondant aux alcaloïdes étaient quasiment indétectables.

L'analyse HPLC-HR-ESI-MS a permis d'identifier que cette fraction était particulièrement riche en stilbènes polyphénoliques, incluant notamment le trans-picéatannol, le trans-resvératrol, les scirpusines A et B, ainsi que le cassigarol E, en tant que constituants majeurs.

Ces résultats phytochimiques détaillés soulignent le profil polyphénolique remarquable de la fraction acétonique extraite des graines de *Passiflora edulis*, laissant présager un potentiel d'activités biologiques intéressantes à explorer, notamment dans le contexte de pathologies neurodégénératives.

Les analyses *in silico* ont révélé que les deux stilbènes simples, le trans-picéatannol et le trans-resvératrol, inhibaient de manière sélective l'acétylcholinestérase (AChE). De plus, l'étude a mis en évidence que deux dimères de stilbènes, le cassigarol E et la scirpusine A, inhibaient potentiellement à la fois l'AChE et la butyrylcholinestérase (BChE) à des concentrations nanomolaires, surpassant même les niveaux d'inhibition observés avec les composés de référence positifs (donépézil et tacrine).

Compte tenu de ces résultats prometteurs, la fraction polyphénolique dérivée des graines de *Passiflora edulis*, ainsi que ses stilbènes constitutifs, apparaissent comme des candidats particulièrement intéressants pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques visant le traitement de la dysfonction cholinergique, un mécanisme clé dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer.

Ces données *in silico* soulignent le potentiel pharmacologique remarquable de cette source naturelle et ouvrent la voie à des investigations *in vitro* et *in vivo* complémentaires, afin d'explorer plus avant les propriétés neuroprotectrices de ces composés d'origine végétale.

Les résultats ont démontré que l'extrait des graines de *Passiflora edulis* présentait des capacités antioxydantes remarquables. En effet, cet extrait s'est avéré efficace pour neutraliser les radicaux libres, comme en attestent les tests de piégeage du DPPH et de l'ABTS. De plus, l'extrait a également manifesté un fort pouvoir réducteur du fer, évalué par la méthode FRAP.

Ces propriétés antioxydantes substantielles de l'extrait des graines de *Passiflora edulis* sont vraisemblablement attribuables à sa composition riche en composés polyphénoliques, notamment en stilbènes, identifiés précédemment. Cette activité antioxydante pourrait contribuer aux effets neuroprotecteurs potentiels de cet extrait, en luttant contre le stress oxydatif, un mécanisme central dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer.

Ces résultats encourageants soulignent l'intérêt de poursuivre les investigations sur les vertus thérapeutiques de cette fraction issue des graines de *Passiflora edulis*, dans une perspective de développement de nouvelles approches de prise en charge des pathologies neurodégénératives.

Les résultats des tests neuro comportementaux réalisés lors de cette étude ont révélé une amélioration remarquable des performances en termes de comportement, d'apprentissage et de mémoire chez les souris Alzheimer traitées avec la fraction des graines de *Passiflora edulis* (PEAS) aux doses de 100 mg/kg (groupe Alz-D1) et 200 mg/kg (groupe Alz-D2), comparativement aux souris du groupe modèle de la maladie d'Alzheimer.

Sur le plan histologique, l'administration de cette fraction PEAS s'est également traduite par une restauration de l'architecture cérébrale chez ces animaux Alzheimer.

Ces résultats comportementaux et histologiques substantiels soulignent le potentiel neuroprotecteur et neuro réparateur de la fraction polyphénolique dérivée des graines de *Passiflora edulis* dans ce modèle murin de la maladie d'Alzheimer. Ces données ouvrent des perspectives encourageantes quant à l'exploration de cette source naturelle comme approche thérapeutique innovante pour la prise en charge de cette pathologie neurodégénérative.

Les résultats ont révélé que l'extrait des graines de *Passiflora edulis* présentait une activité inhibitrice de l'enzyme acétylcholinestérase particulièrement efficace, surpassant même celle du composé de référence galantamine.

En effet, cette activité inhibitrice de l'AChE s'est avérée hautement significative chez les souris Alzheimer traitées avec l'extrait de *Passiflora edulis* aux doses de 100 mg/kg et 200 mg/kg, tout comme chez les animaux recevant les médicaments de référence, le donépézil et la rivastigmine, comparativement aux souris du groupe modèle de la maladie d'Alzheimer.

Ces données soulignent le potentiel thérapeutique remarquable de cette fraction polyphénolique naturelle issue des graines de *Passiflora edulis*, en raison de sa capacité à moduler l'activité du cholinestérase, un mécanisme clé dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer. Ces résultats encouragent la poursuite des investigations pour évaluer plus avant les propriétés neuroprotectrices de cette source végétale prometteuse.

Les analyses immuno-histochimiques utilisant les marqueurs fluorescents anti-bêta-amyloïde et la thioflavine S ont révélé que la fraction PEAS issue des graines de *Passiflora edulis* exerçait un effet modéré à faible sur la prévention de l'agrégation et de la formation des plaques amyloïdes séniles.

Bien que ces résultats ne démontrent pas un effet majeur de cette fraction polyphénolique sur la réduction des dépôts amyloïdes, caractéristiques neuropathologiques clés de la maladie d'Alzheimer, ils soulignent néanmoins ses propriétés modulatrices sur ce processus pathologique central.

Ces données, combinées aux autres résultats prometteurs obtenus (activités antioxydante et inhibitrice de l'acétylcholinestérase), encouragent la poursuite des investigations pour mieux comprendre les mécanismes d'action complexes mis en jeu par cette fraction végétale dans la prise en charge des troubles neurodégénératifs.

Les résultats obtenus suggèrent que la fraction polyphénolique dérivée des graines de *Passiflora edulis*, ainsi que ses composés stilbéniques, pourraient constituer des candidats thérapeutiques prometteurs pour le développement de nouveaux médicaments ciblant l'acétylcholinestérase (AChE) et la butyrylcholinestérase (BChE).

Ces enzymes cholinergiques jouent un rôle central dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer, de sorte que leur modulation par ces principes actifs naturels issus de *Passiflora edulis* pourrait représenter une approche thérapeutique innovante et intéressante pour la prise en charge de cette affection neurodégénérative.

Les résultats encourageants obtenus jusqu'à présent, notamment en termes d'activités inhibitrices de l'AChE et de la BChE, conjugués aux autres propriétés neuroprotectrices mises en évidence, confortent le potentiel de cette source végétale pour le développement futur de nouvelles options thérapeutiques contre la maladie d'Alzheimer.

Il sera essentiel de développer des technologies de transformation plus performantes, permettant d'extraire de manière plus efficace et à plus grande échelle les composés fonctionnels actifs contenus dans les graines de *Passiflora edulis*.

Une étude approfondie des propriétés physiologiques et des mécanismes d'action de ces différents constituants des graines de *Passiflora edulis* sera également cruciale.

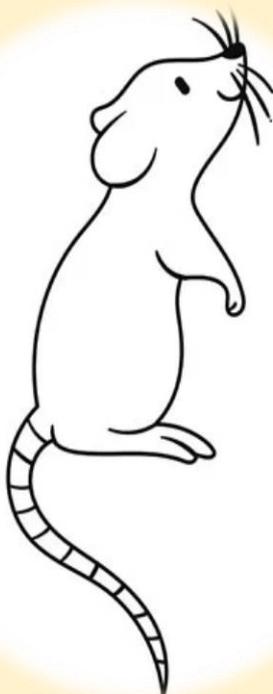
On peut en effet s'attendre à ce que la mise au point de méthodes de valorisation optimisées de ces semences ouvre la voie à de nouvelles applications industrielles prometteuses des graines de *Passiflora edulis*.

Ces avancées technologiques et analytiques devraient ainsi contribuer à une meilleure exploitation du potentiel de cette source végétale riche en principes actifs, tout en permettant de diversifier les débouchés de cette matière première d'origine naturelle.

Compte tenu du rôle central joué par l'inhibition de l'acétylcholinestérase et les propriétés antioxydantes dans la prise en charge de la maladie d'Alzheimer, les résultats actuels démontrant ces activités bénéfiques pour l'extrait des graines de *Passiflora edulis* et ses composés phénoliques, suggèrent que cette source végétale pourrait représenter un choix pertinent pour le développement de compléments alimentaires destinés au traitement de cette pathologie neurodégénérative ou à la protection des tissus cérébraux.

Les effets positifs observés sur ces mécanismes physiopathologiques clés de la maladie d'Alzheimer confèrent à l'extrait de *Passiflora edulis* et à ses composés phénoliques un fort potentiel en tant que candidats prometteurs pour la conception de nouvelles approches nutritionnelles ou thérapeutiques complémentaires visant à améliorer la prise en charge de cette affection complexe.

*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 $\beta$  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. *Alzheimers 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-MS<sup>n</sup> 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 $\beta$  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- $\beta$  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- $\beta$  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 $\beta$ 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 $\beta$ 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 $\beta$ 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=](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](https://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<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> 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  $\beta$ -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., 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.

**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 $\beta$  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 $\beta$  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](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](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- $\beta$  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/ $\beta$ -catenin/gsk3 $\beta$ , 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- $\beta$  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- $\beta$  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  $\alpha$ -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- $\beta$ -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 $\beta$  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  $\beta$ -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  $\beta$ -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  $\alpha$ -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).**  $A\beta 42$  and  $A\beta 40$ : 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., Lakhotia, 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- $\beta$  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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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'AlCl<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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'AlCl<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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'AlCl<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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'AlCl<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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'AlCl<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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'AlCl<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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'AlCl<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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'AlCl<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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'AlCl<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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'AlCl<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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'AlCl<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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 (AlCl<sub>3</sub>) 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<sub>3</sub> (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'AlCl<sub>3</sub> (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<sub>3</sub> (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<sup>er</sup> 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<sup>er</sup> Séminaire national de phytochimie , pharmacognosie et phytothérapie -Batna-2021 .



