



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la vie
Département de Science de la Matière

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la matière
Filière: Chimie
Spécialité : Chimie Pharmaceutique
Réf. :

Présentée et soutenue par :

SAKHRAOUI Nadjah

Le : Dimanche 19 Juin 2022

La passiflore (*Passiflora Caerulea*) investigation pharmacologique, phytochimique et biologique

Jury :

Dr. LARAOUI Habiba	M.C.B	Université Med Khider de Biskra	Président
Dr. ALMI Imane	M.C.B	Université Med Khider de Biskra	Examineur
Dr. FETTAH Asma	M.C.B	Université Med Khider de Biskra	Encadreur
Dr. KAROUNE Samira	M.C.A	Centre de recherche CRASTRA- Biskra	Co-encadreur

Année universitaire : 2021 / 2022





Dédicace

Tout d'abord je tiens à remercier le Dieu tout puissant.

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents ; l'homme de ma vie mon père Mohamed Bachir qui est toujours une source intarissable d'amour et sacrifice ; et bien sur la flamme de mon cœur, la source de mes efforts, ma vie maman Nedjma qui ont su être à mes côtés dans les moments difficiles et sans lesquels je ne serai pas arrivé à ce stade d'étude, fasse dieu que je puisse les honorer.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, tous mes frères : Achour qui est mon idole ; chère Abderezzak, Mounir, mon amour ma sœur Ahlame et n'oubliez pas ma deuxième sœur Marwa.

A tous les enseignants qui m'ont suivie tout au long de mes études surtout mon encadreur Dr. Asma Fettah pour leurs conseils et leur aide pendant la réalisation de ce mémoire.

A mes collègues d'SM et particulièrement mes collègues de chimie pharmaceutique et mes amis.

Remerciements

*En premier lieu, je tien tout d'abord à remercier mon Dieu, pour ma
avoir donné la force et la santé pour accomplir ce travail.*

*Mes plus grands remerciements et ma gratitude vont à mon encadreur
madame Asma Fettah de m'avoir guidé et orienté à réaliser cette étude
durant tout la période du travail.*

*Aussi mon gratitude à l'équipe de centre de recherche scientifique et techniques
sur les régions arides « CRASTRA » : Mme Karoune Samira, Mawahib et
Somaia, Souad, M. Abdelhamid.*

*Toute ma reconnaissance va à l'ensemble des enseignants qui du département
science de la matière qui ont contribué à notre formation avec beaucoup de
dévouement et de compétence.*

*Mon vif remerciement sera également aux membres du jury Dr. Laracui
Habiba et Dr. Ami Imane pour l'intérêt qu'ils ont portés à notre
travail, et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Enfin, mes remerciements vont aussi à toutes les personnes qui, de près ou
loin, m'ont aidé et soutenu pour réaliser ce travail.*



 **Résumé**

Le présent travail a été entrepris dans le but de présenter une description botanique et pharmacologique de passiflore « *Passiflora caerulea* » de famille passifloracées, suivie par une étude phytochimique et par la suite d'évaluer le pouvoir antioxydant et antibactérien des extraits naturels obtenus par deux méthodes d'extraction (soxhlet et macération), issus des fleurs de cette plante.

En effet l'étude qualitative des métabolites secondaires par criblage phytochimique renferme la présence des polyphénols, flavonoïdes, tanins, anthocyanes, stérols, terpènes et alcaloïdes et l'absence des saponosides et comarins.

La quantification par dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés des extraits obtenus, par les méthodes de Folin-Ciocalteu, trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et vanilline respectivement, montre la richesse des fleurs de *P. caerulea* en ces composés. Les résultats obtenus indiquent que la teneur maximale en composés phénoliques est attribuée à l'extrait butanolique suivi par l'extrait aqueux.

Les résultats de l'activité biologique (antioxydant et antibactérienne) appliquée sur les extrais préparés, indique que l'acétate d'éthyle exprime une excellente activité antioxydante par la méthode de piégeage des radical libre DPPH par apport le butylhydroxytoluène BHT « référence », cela signifie que cette traction renferme les composés les plus actifs. Cependant, l'activité antibactérienne révèle un faible pouvoir pour toutes les fractions testées sur les souches pathogène étudiées.

Mots clés: *Passiflora caerulea* – métabolite secondaire - phytochimique - activité antioxydante - activité antibactérienne.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو الوصف النباتي والدوائي لزهرة العاطفة" ازهار باسيفلورا *caerulea*" من عائلة زهرة الالام متبوعاً بدراسة كيميائية نباتية ؛ بالاضافة الى تقدير القوة المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا لمستخلصات هذه الأزهار بطريقتي الاستخلاص و المتمثلتين في النقع و سوكسلي.

في الواقع ، فإن تحديد المستقلبات الثانوية عن طريق الفحص الكيميائي النباتي أثبت وجود البوليفينول , الفلافونويد ، التانين ، الأنثوسيانين ، الستيرويدات والتربينات أيضاً القلويات كما اشارت إلى عدم وجود الصابونوزيدات والكومارين في هذه الأزهار.

يظهر القياس الكمي لجرعة البوليفينول الكلي والفلافونويد الكلي والعفص المكثف على المستخلصات المتحصل عليها ثراء باسيفلورا *caerulea* بالمركبات الفينولية و فلافانويدات والعفص المكثف بواسطة طرق التالية -Folin-Ciocalteu و ثلاثي كلوريد الالمنيوم و فانيلين على التوالي . كما تشير النتائج التي تم الحصول عليها ان اكبر قيمة لهاته المركبات الفينولية تتركز ضمن مستخلص البيتانول يليها مستخلص المائي.

وفقا للنتائج المتحصل عليها من النشاط البيولوجي المضاد للأكسدة والبكتيريا المطبق على المستخلصات هذه الأزهار ، فإن مستخلص اثيل الاسيتات يحمل نشاطا مضادا للاكسدة ممتازا بالمقارنة مع بوتيل هيدروكسي تولوين BHT المأخوذ كمرجع و ذلك من خلال كسح الجذور الحرة DPPH . هذا الأخير يدل على انه يحتوي على اكثر المركبات نشاطا , اما بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا فسجل تأثيرا ضعيفا على السلالات المسببة للأمراض.

الكلمات المفتاحية: باسيفلورا *caerulea* - مستقلب ثانوي - فيطو كيميائية - نشاط مضاد للاكسدة- نشاط مضاد للبكتيريا.

 **Abstract**

The purpose of this work is the botanical and pharmacological description followed by the phytochemical study of passionflower "*Passiflora caerulea* flowers" from the Passifloraceae family; also to estimate the antioxidant and antibacterial power of the extracts of *Passiflora caerulea* flowers by two methods of Soxhlet extraction and maceration.

Indeed the determination of secondary metabolites by phytochemical screening contains the presence of several polyphenols, flavonoids, tannins, anthocyanin's, sterols and terpenes also alkaloids and indicates the absence of saponosides and comarins in these flowers.

The quantification by dosage of total polyphenols, total flavonoids and condensed tannins on the extracts obtained by the methods of Folin-Ciocalteu and aluminum trichloride (AlCl₃) shows the richness of the flowers of *P.cearulea* in phenolic compounds and Tannins. The results obtained indicate that the maximum content of phenolic compounds is attributed to the butanol extract followed by the aqueous extract.

Finally for the antioxidant and antibacterial biological activity applied to the prepared extracts, indicates that ethyl acetate expresses an excellent antioxidant activity by the method of free radicals scavenging DPPH by contribution with butylhydroxytoluene BHT "reference" this mean that this traction contains the most active compounds. But for the antibacterial activity it had a low antibacterial power on pathogenic strains.

Key words: *Passiflora caerulea*- secondary metabolite- phytochemical- antioxidant activity– antibacterial activity.

ABREVIATIONS

Abréviations

○ **A :**

- **ADN** Acide Désoxyribose Nucléique
- **ADP** Adénosine Di Phosphate
- **AG** Acide gallique
- **AlCl₃** Chlorure d'aluminium
- **ATP** Adénosine Triphosphate

○ **B :**

- **BHA** Butylhydroxyanisole
- **BHT** Butylhydroxytoluène

○ **C :**

- **CCM** Chromatographie sur couche mince
- **CHCl₃** Chloroforme
- **CH₃OH** Méthanol
- **Cu²⁺** Ions cuivre

○ **D :**

- **D-** Dextrogyre
- **DHHDP** Dérivé de hexahydroxydiphénique
- **DMSO** Diméthyle sulfoxyde
- **DO extrait** Absorbance de la solution d'extrait
- **DO témoin** Absorbance de témoin négatif
- **DPPH** 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

○ **E :**

- **EAG** Acide gallique d'équivalent
- **EQ** Equivalent de Quercetine
- **ERO** Espèces réactives de l'oxygène
- **E. coli** Escherichia coli

○ **F :**

- **FCR** Réactif de Folin-Ciocalteu.
- **FeCl₃** Chlorure de fer (III)

ABREVIATIONS

- **G :**
 - **GABA** Acide gamma-aminobutyrique
 - **Gram +** gram positive
 - **Gram -** gram négative
- **H :**
 - **HCl** Acide chlorhydrique
 - **HHDP** Hexahydroxydiphénique
 - **HMPC** Comité pour les médicaments à base de plantes
« Committee On Herbal Medicinal Products »
 - **HO₂•** Radicaux superoxydes protonnée
 - **H₂O** Eau
 - **H₂O₂** Peroxyde d'hydrogène
 - **HIV** Virus de l'immunodéficience humaine
 - **H₂SO₄** Acide sulfurique
- **I :**
 - **IC₅₀** Concentration inhibitrice médiane
- **K :**
 - **KOH** Hydroxyde de potassium
 - **Kp** Klebsiella pneumoniae
- **L :**
 - **LM** Listeria monocytogenes
- **M :**
 - **+M** Effet mésomère donneur
 - **MAO** Monoaminoxidase
 - **mi** Masse initiale
 - **MgSO₄** Sulfate de magnésium
 - **MH** Milieu Mueller Hinton
 - **mf** Masse final
- **N :**
 - **NaOH** Hydroxyde de sodium
 - **NH₄OH** Ammoniaque
 - **Na₂CO₃** Carbonate de sodium
- **O :**
 - **OH** Fonction hydroxy

ABBREVIATIONS

- **OH•** Radical hydroxyle
- **O₂** Oxygène
- **O₂•** Radicaux superoxydes
- **P :**
- **P.** Passiflora
- **PI** Potentiel d'ionisation
- **Pka** Constante d'équilibre
- **PPO** Polyphénols oxydase
- **PG** Gallate propylée
- **Pseudo** Pseudomonas aeruginosa
- **R :**
- **ROO•** Radical peroxydes
- **S :**
- **SNC** Système Nerveux Centrale
- **SiO₂** Dioxyde de silicium
- **Staph** Staphylococcus faecalis
- **T :**
- **TBHQ** Tétrabutylhydroquinone
- **T+** Témoin positif « Antibiotique »
- **U :**
- **UV** Ultraviolet
- **λ** Longueur d'onde

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Liste des tableaux

<i>CHAPITRE I</i>	
<i>Tableaux n=•1</i>	Genres de la famille passifloracées
<i>Tableaux n=•2</i>	les passiflores botaniques
<i>Tableaux n=•3</i>	Polymorphisme des feuillages
<i>Tableaux n=•4</i>	Caractéristiques de Passiflora Caerulea
<i>Tableaux n=•5</i>	Morphologie de Passiflora Caerulea
<i>Tableaux n=•6</i>	Structures des principaux flavonoïdes issus de Passiflora

<i>CHAPITRE II</i>	
<i>Tableaux n=•7</i>	Les principales classes de composés phénoliques
<i>Tableaux n=•8</i>	Structures de quelques coumarines simples
<i>Tableaux n=•9</i>	Activités biologiques des polyphénols
<i>Tableaux n=•10</i>	famille d'antibiotique.

<i>CHAPITRE IV</i>	
<i>Tableaux n=•11</i>	Résultats de criblage phytochimique du Passiflora caerulea
<i>Tableaux n=•12</i>	Résultats d'extraction par macération
<i>Tableaux n=•13</i>	Résultats d'extraction par soxhlet
<i>Tableaux n=•14</i>	Identification des polyphénols par CCM.
<i>Tableaux n=•15</i>	Teneur de polyphénols totaux de chaque extrait.
<i>Tableaux n=•16</i>	Teneur de flavonoïdes totaux de chaque extrait.
<i>Tableaux n=•17</i>	Teneur de Tanins de chaque extrait.
<i>Tableaux n=•18</i>	Pouvoir d'inhibition PI (%) antioxydant des extraits de P. caerulea pour chaque concentration

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

<i>Tableaux n=•19</i>	Valeurs d'IC50 calculées pour chaque extrait et référence
<i>Tableaux n=•20</i>	Résultats de l'activité antibactérienne de chaque extraits avec les souches de Bacillus Cerrus et Escherichia, Salmonella
<i>Tableaux n=•21</i>	Résultats de l'activité antibactérienne de chaque extraits avec les souches de Klebsiella pneumoniae, Listeria monocytogenes, Pseudomonas, staphylococcus faecalis

✚ Liste des figures

CHAPITRE I	
<i>figure n=•1</i>	Schéma d'une coupe transversale de fleur de Passiflora.
<i>figure n=•2</i>	Répartition du genre Passiflora L.
<i>figure n=•3</i>	Structures des principaux flavonoïdes issus de Passiflora incarnata
<i>figure n=•4</i>	Structures des principaux Alcaloïdes de Passiflora incarnata
<i>figure n=•5</i>	Composition d'une huile essentielle de passiflore incarnata
<i>figure n=•6</i>	Structure des glucides
<i>figure n=•7</i>	Structure des oxycoumarine
<i>figure n=•8</i>	Structure de l'acide linoléique
<i>figure n=•9</i>	Structure de Maltol
<i>figure n=•10</i>	Schéma présente les constituants de fruit de la passion

CHAPITRE II	
<i>figure n=•11</i>	Squelette de base des composés phénolique.
<i>figure n=•12</i>	Classification des polyphénols
<i>figure n=•13</i>	Structure chimique de quelques acides phénoliques

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

<i>figure n=•14</i>	Structure de base des flavonoïdes
<i>figure n=•15</i>	Les différentes classes des flavonoïdes.
<i>figure n=•16</i>	Les différentes classes des flavonoïdes.
<i>figure n=•17</i>	Structure générale des anthocyanes
<i>figure n=•18</i>	structure de quinones
<i>figure n=•19</i>	Penta-O-galloyl- D-glucose.
<i>figure n=•20</i>	Structure de l'acide gallique.
<i>figure n=•21</i>	structure de HHDP
<i>figure n=•22</i>	structure de DHHDP
<i>figure n=•23</i>	structure de l'acide chébulique.
<i>figure n=•24</i>	Les flavan-3-ols monomères
<i>figure n=•25</i>	Structure de quelques coumarines complexes.
<i>figure n=•26</i>	Source alimentaires des polyphénols.
<i>figure n=•27</i>	Structure de la vitamine C
<i>figure n=•28</i>	Structure de la vitamine E
<i>figure n=•30</i>	Structure du β -carotène
<i>figure n=•31</i>	Antioxydants de synthèse les plus utilisés.
<i>figure n=•32</i>	Stress oxydant
<i>figure n=•33</i>	Mode d'action de chaque famille d'antibiotique sur bactérie

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

<i>CHAPITRE III</i>	
<i>figure n=•34</i>	fleurs sèche de <i>Passiflora caerulea</i> sèche
<i>figure n=•35</i>	<i>Passiflora caerulea</i> après broyage
<i>figure n=•36</i>	Dessiccation de l'échantillon
<i>figure n=•37</i>	Recherche des composés polyphénols, Stérois insaturés et terpènes dans <i>Passiflora caerulea</i>
<i>figure n=•38</i>	Recherche des Alcaloides dans <i>Passiflora caerulea</i>
<i>figure n=•39</i>	Recherche des Anthocyanes et leuconthocyanes dans <i>Passiflora caerulea</i> .
<i>figure n=•40</i>	Recherche des flavonoïdes dans <i>Passiflora caerulea</i>
<i>figure n=•41</i>	Recherche des tanins, saponosides, Comarins, huiles essentielles dans <i>Passiflora caerulea</i>
<i>figure n=•42</i>	50g de poudre sèche de <i>Passiflora caerulea</i>
<i>figure n=•43</i>	méthanol + eau distillée
<i>figure n=•44</i>	Protocole d'extraction solide liquide par macération
<i>figure n=•45</i>	Protocole d'extraction liq-liq de passiflore par trois solvant « (1) n-Hexane,(2) Acétate d'éthyle,(3) Butanol ».
<i>figure n=•46</i>	Extraction successive par le système Soxhlet.
<i>figure n=•47</i>	CCM de passiflore + système d'élution
<i>figure n=•48</i>	CCM d'extrait de passiflore par hexane
<i>figure n=•49</i>	CCM d'extrait de passiflore par acétate d'éthyle
<i>figure n=•50</i>	CCM d'extrait de passiflore par butanol
<i>figure n=•51</i>	CCM d'extrait de passiflore par eau distillée

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

<i>figure n=•52</i>	Protocole de dosage des phénols totaux
<i>figure n=•53</i>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique à 765 nm.
<i>figure n=•54</i>	Protocole de dosage des flavonoïdes totaux
<i>figure n=•55</i>	Courbe d'étalonnage du quercétine à 440 nm
<i>figure n=•56</i>	Protocole de dosage des Tanins.
<i>figure n=•57</i>	Courbe d'étalonnage du quercétine à 550 nm.
<i>figure n=•58</i>	Eppendorf contient solution mère.
<i>figure n=•59</i>	Protocole de l'activité antioxydant.
<i>figure n=•60</i>	Agitation par vortex.
<i>figure n=•61</i>	eppendorf contient extrait stérile
<i>figure n=•62</i>	Repiquage des espèces bactériennes

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

<i>CHAPITRE IV</i>	
<i>figure n=•63</i>	Détermination de la matière sèche et le taux d'humidité
<i>figure n=•64</i>	Rendement de deux méthodes (soxhlet, macération).
<i>figure n=•65</i>	Teneur des polyphénols totaux des extraits P. caerulea
<i>figure n=•66</i>	Teneur des Flavonoïdes totaux des extraits P. caerulea
<i>figure n=•67</i>	Teneur des tanins totaux des extraits P. caerulea
<i>figure n=•68</i>	histogrammes présentent l'analyse statistique de l'activité antibactérienne pour les extraits des fleurs de P.cearulea dans les souches pathogènes étudiées
<i>figure n=•69</i>	Antibiogramme de l'activité antibactérienne des extraits des fleurs Passiflora

 Sommaire

TABLE DE MATIERE

✓ Résumé	
✓ Liste des abréviations.	
✓ Liste des tableaux et figures.	
✓ Introduction.....	1

CHAPITRE I : GENERALITE SUR LA PLANTE SELECTIONNEE

I.1.Passifloracées.....	4
I.1.1.Présentation de la famille.....	4
I.1.2. Liste des genres de la Famille des Passifloracées.....	4
I.1.3. Les sous genres de famille des Passifloracées	5
I.1.4.Quelques passiflores botaniques	7
I.2.Passiflore	9
I.2.1.Généralité.....	9
I.2.2.Petite histoire de la Passiflore (genre Passiflora).....	9
I.2.3. Description de l'appareil végétatif	10
I.2.4. Phytogéographie des Passiflora	10
I.3. Passiflora caerulea (L).....	12
I.3.1.Classification botanique	12
I.3.2.Description botanique	12
I.4 .Etude phytochimique	15
I.5.Propriétés Thérapeutique	18
I.5.1. Action centrale	18
I.5.2. Actions périphériques	18

I.5.2.1.Sur les muscles.....	18
I.5.2.2.Sur l'appareil cardiovasculaire.....	19
I.5.2.3.Sur l'appareil respiratoire.....	19
I.6.Médicament à base de passiflore.....	20
I.6.1.Comment les médicaments à base de passiflore sont-ils utilisés?	20
I.6.2.Dans quel cas les médicaments à base de passiflore sont-ils utilisés?	20
I.6.3.Quels sont les risques associés à l'utilisation des médicaments à base de passiflore?	21
I.6.4.Exemple sur les médicaments à base de passiflore.....	22

CHAPITRE II : COMPOSES PHENOLIQUES ET ACTIVITE BIOLOGIQUE

Partie 1 : Composés phénoliques

II.1.composés phénoliques.....	26
II.1.1.Définition	26
II.1.2.Classification des composés phénoliques.....	26
II.1.2.1.Les phénols	30
II.1.2.2. Les flavonoïdes	30
II.1.2.2.1.Classification des flavonoïdes.....	31
II.1.2.3. Les anthocyanes.....	33
II.1.2.4 Les quinones	33
II.1.2.5 Les tanins	34
II.1.2.5.1 Tanins hydrolysable	34
II.1.2.5.2 Tanins condensés	35
II.1.2.6 Les coumarines.....	36

II.1.2.6.1 Les coumarines simples.....	36
II.1.2.6.2 Coumarines complexes.....	37
II.2 Source alimentaires des polyphénols.....	38
II.3 Propriétés des polyphénols.....	39
II.3.1 Propriétés physico-chimique des polyphénols	39
II.3.1.1 Propriété réductrice	39
II.3.1.2 Polarisabilité	39
II.3.1.3 Liaison d'hydrogène	39
II.3.1.4 Nucléophilie.....	40
II.3.1.5 Caractère acides de la fonction phénol	40
II.3.1.6 Formation de complexes avec les métaux	40
II.3.1.7 Formation d'ester et d'éthers-oxydes	40
II.3.1.8 L'oxydation	40
II.3.2 Propriétés pharmacologie	41
Partie 2 : Activité biologique	
II.4 Activité biologique.....	43
II.4.1 Activité antioxydant	43
II.4.1.1 Les antioxydant	43
II.4.1.1.1 Caractéristiques des antioxydants.....	43
II.4.1.1.2 Mode d'action des antioxydants	43
II.4.1.1.3 Sources d'antioxydants	44
II.4.1.2 Le Stress oxydant	46
II.4.1.3 Radicaux libres	47

II.4.1.4 Espèces réactives	47
II.4.1.5 Origines des espèces réactives de l'oxygène	48
II.4.1.6 Maladies liées aux stress oxydatif.....	48
II.4.2 Activité antibactérienne	49
II.4.2.1 Définition	49
II.4.2.2 Les antibiotiques	49
II.4.2.3 Activité antimicrobienne des extraits des plantes.....	51

CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

III.1 Introduction	53
III.2 Préparation de matière végétale	54
III.2.2 Séchage et broyage	54
III.2.3 Détermination du taux d'humidité et de la matière sèche.....	54
III.3 Criblage phytochimique	56
III.3.1 Introduction	56
III.4 Extraction des polyphénols	60
III.4.1 Méthode de macération	60
III.4.1.1 Extraction solide-liquide	60
III.4.1.2 Extraction liquide -liquide	62
III.4.2 Méthode de soxhlet	63
III.4.3 Rendement d'extraction	64
III.5 Technique de séparation	65
III.5.1 Chromatographie sur couche mince CCM	65
III.5.2 Analyse par CCM les extraits obtenus	66

III.6 Quantification des composés phénolique par dosage	68
III.6.1 Dosage des polyphénols totaux	68
III.6.2 Dosage des flavonoïdes totaux	69
III.6.3 Dosage des Tanins condensés	70
III.7 Tests in-vitro de l'activité biologique	72
III.7.1 Activité antioxydant totale	72
III.7.2 Activité antibactérienne	73
III.7.2 Technique de diffusion sur milieu gélosé (Antibiogramme)	73
III.7.3 Analyse statistique	77

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

IV .1 Introduction.....	79
IV .2 Détermination de la matière sèche et le taux d'humidité	80
IV .2.1 les calculs.....	80
IV .3 screening phytochimique.....	81
IV .4 Rendement des extractions.....	84
IV .4.1 Macération	84
IV .4.2 Soxhlet	85
IV .4.3 Comparaison entre les rendements des deux méthodes	85
IV .5 Analyse par CCM des différents extraits obtenus.....	87
IV .6 Analyse quantitative des polyphénols - flavonoïdes - tanins	89
IV .6.1 Dosage des polyphénols totaux	89
IV .6.2 Dosage des flavonoïdes totaux	90
IV .6.3 Dosage des Tanins.....	93

IV .7 Evaluation de l'activité antioxydant95

IV.8 Evaluation de l'activité antibactérienne.....97

✓ Conclusion générale et Perspective103

✓ Références bibliographiques.....106

✓ Annexe et glossaire.....110

Introduction

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques ^[1], des activités biologiques, car elles contiennent des composés polyphénolique l'un des plus importants groupe des « métabolites secondaires » présente dans les plantes: alcaloïdes, Flavonoïdes, hétérosides, quinones, saponosides, tannins... qui agissent directement sur l'organisme.

Depuis l'antiquité, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies.

À ce jour, les plantes jouent à travers le monde un rôle capital dans l'art de guérir. malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments décroît ^[1].



En Algérie, on a longtemps eu recours à la médecine traditionnelle grâce à la richesse et la diversité de sa flore, qui constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques.

La liste des plantes médicinales est très longue mais notre choix porté en particulier de la plante passiflore.

- Passiflore (*Passiflora caerulea* ou passiflore bleue) herbe des origines d'Amérique tropicale utilisée à des fins thérapeutiques ; principalement parce qu'il montre traditionnellement propriétés sédatives, antispasmodiques et antioxydants...;

La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques ; si les plantes sont faciles à utiliser, certaines d'entre elles provoquent également des effets secondaires, Les herbes comme Passiflore (*Passiflora caerulea*) n'ont aucune contre-indication ^[1].

Notre présente étude s'inscrit dans cet objectif et elle a porté sur une description botanique et pharmacologique sur la plante sélectionnée (*Passiflora caerulea*); une étude phytochimique « screening et extraction de quelque métabolites secondaires»,

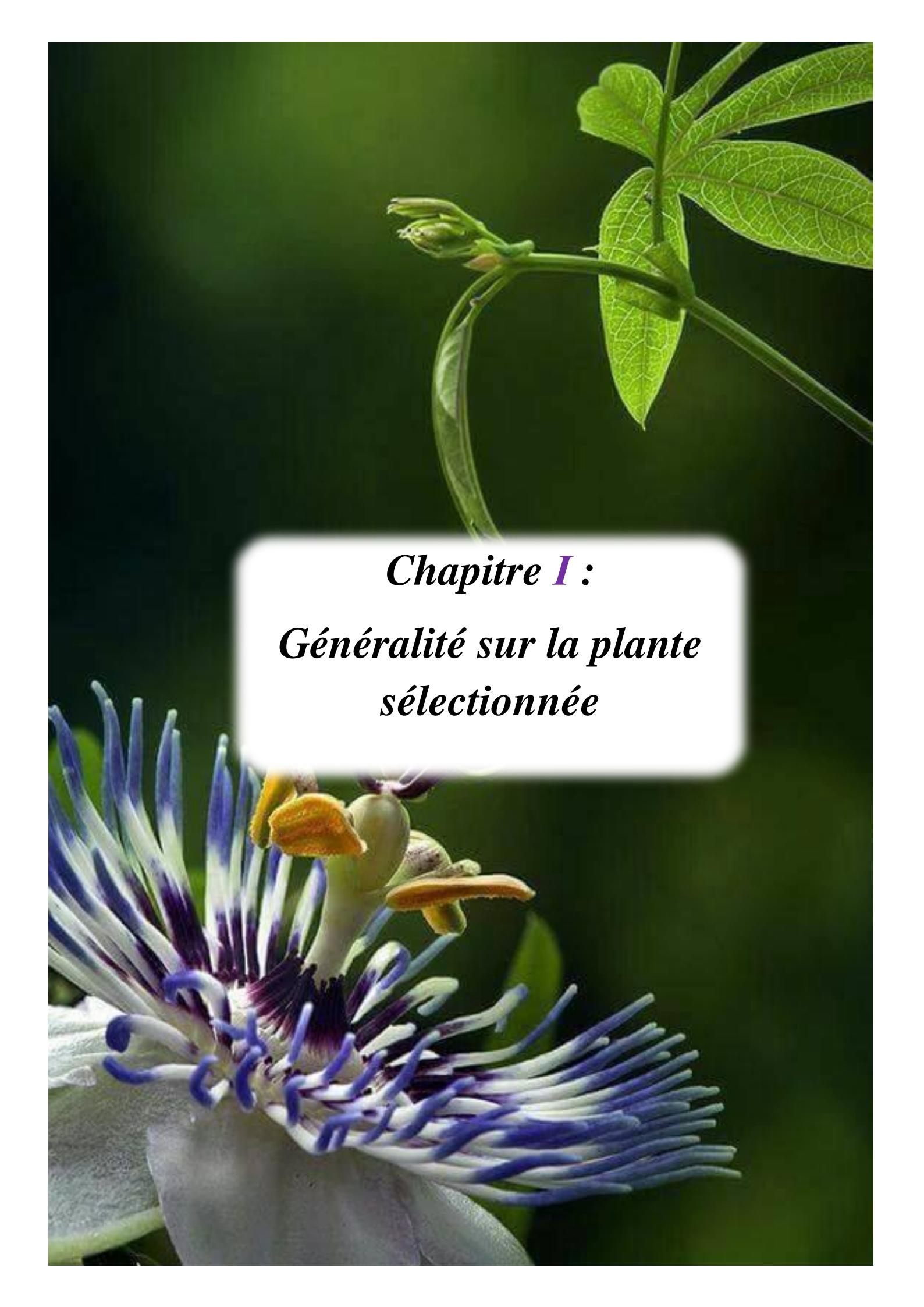
INTRODUCTION

La quantification par dosage de ces métabolites complété par une évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits des fleurs de *Passiflora caerulea*.

Ce manuscrit comporte quatre chapitre ;

- le premier chapitre présente une description botanique et pharmacologique de *Passiflora caerulea*.
- le deuxième chapitre donne un aperçu général sur les métabolites secondaires et l'activité biologique (antioxydante et antibactérienne).
- le troisième chapitre englobe l'ensemble des travaux expérimentaux « méthodes, matériels, analyse... ».
- le dernier chapitre couvre les résultats acquis de chapitre trois (Taux d'humidité, criblage phytochimique, rendement d'extraction par deux méthodes soxhlet et macération, l'analyse CCM, dosage polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés, ainsi que les résultats des activités biologiques).

Et on terminera ce travail par une conclusion générale donnant un récapitulatif sur les principaux résultats obtenus durant ce mémoire.



Chapitre I :
Généralité sur la plante
sélectionnée

I.1.Passifloracées

I.1.1.Présentation de la famille:

Les Passifloracées (Passifloracées) sont une famille de plantes dicotylédones qui comprend plus de 630 espèces réparties en 27 genres réparties dans les tropiques des zones côtières jusqu'à 3800 m d'altitude dans le Páramos andins (Holm-Nielsen et al. 1988)^[2]. La grande majorité des espèces, cependant, sont originaires de l'Amérique et les cultures sont plus particulièrement concentrées en zone tropicale ^[3].

Ce sont en général des lianes vigoureuses, produisant des fruits le plus souvent comestibles dont le poids peut varier de 20g à 3000 g ^[3].

Une des particularités les plus marquantes de cette famille est la fleur forte décorative formée de 5 pétales insérés sur les bords d'un réceptacle en forme de coupe, dont le fond se relève en colonne centrale ; La beauté et l'originalité de cette fleur ont depuis Fort longtemps attiré l'attention des hommes La valeur décorative de la fleur n'est cependant pas le seul intérêt de ce groupe de plantes. Le fruit, presque toujours comestible, peut se révéler, pour certaines variétés, fort agréable au goût ^[3].








Dans 1897, Bullington remarque les propriétés sédatives des extraits de passiflore. En 1904, Stapledon obtient de bons résultats dans le traitement de l'insomnie des neurasthéniques et des hystériques, contre la prostration nerveuse, avec des extraits de passiflore. Ces extraits paraissaient agir chaque fois que l'obstacle au sommeil avait pour cause l'excitation cérébrale, et à la manière d'un sédatif sans effets secondaires fâcheux ^[3].



PASSIFLORACÉE
AFRICAINNE Vu dans
le jardin botanique de
Tzimbazaza à
Madagascar, un
spécimen d'Adenia

I.1.2. Liste des genres de la famille des Passifloracées :

Adenia, Ancistrothyrsus, Androsiphonia, Barteria, Basananthe, Crossostemma, Deidamia, Dilkea, Efulensia, Hollrungia, Mitostemma, Paropsia, Paropsiopsis, Passiflora, Schlechterina, Smeathmannia, Tetrastylis, Tryphostemma, Viridivia, Medusandra, Turner, Malesherbia ^[2].

Genre	Adenia	Androsiphonia	Barteria
Photo			
Medusandra	Passiflora	Turnera	Malesherbia
			

Tableaux n°1: Genres de la famille passifloracées

I.1.3 Les sous genres de famille des Passifloracées :

La classification de 2004 retient désormais quatre sous-genres

- **Astrophea** : réunit 57 espèces de lianes ligneuses, voire plus rarement d'arbrisseaux originaires d'Amérique du Sud et centrale. Les feuilles non lobées, jamais panachées, sont glabres. Accompagnées de bractées réduites, les fleurs blanches, roses, rouges, pourpres ou orange, se parent d'une couronne jaune. Les fruits jaunes ou verdâtres portent des marques rougeâtres. Ces plantes constituent sans doute la forme primitive des passiflores ^[4].
- **Deidamioides** : réunit 13 espèces grimpantes originaires d'Amérique du Sud et centrale, dont les feuilles rarement lobées, portent le plus souvent deux nervures latérales tout près de la base du limbe. Les fleurs blanches ou verdâtres, généralement solitaires, portent une couronne jaune parfois marquée d'orange ^[4].

- **Decaloba** : regroupe 214 espèces d'Amérique du Nord et du Sud, mais aussi d'Asie du Sud-Est et d'Australie. Ce sont des plantes grimpantes aux toutes petites fleurs. Les feuilles communément bilobées ou parfois trilobées, peuvent être panachées et possèdent trois nervures principales ^[4].
- **Passiflora** : renferme 236 espèces uniquement américaines. Ces grimpantes se caractérisent par leurs grandes fleurs d'aspect très variable, accompagnées de bractées bien visibles. Elles sont ornées parfois d'un long tube et d'une couronne filamenteuse assez complexe. Les feuilles, jamais panachées, comptant jusqu'à sept lobes, s'ornent de trois à cinq nervures principales. Ce sous-genre est lui-même divisé en six supersections, dont Taxonia qui regroupe des plantes poussant dans les Andes entre 3 000 et 4 000 m d'altitude ^[4].



Passiflora
aff. organensis.
Sous-genre

Le genre *Passiflora* est considéré comme le plus évolué de la famille, puisque le reste d'entre eux comprend des arbres ou des arbustes dépourvus de vrilles, certains avec des épines et des androcées avec un plus grand nombre d'étamines.

I.1.4. Quelques passiflores botaniques:


















Nom de Passiflore	<i>Passiflora auriculata</i>	<i>P. conzattiana</i>	<i>Passiflora gilbertiana</i>	<i>Passiflora subpeltata</i>
Leur Photo				
<i>Passiflora coerulea</i> (L.)	<i>Passiflora tarminiana</i>	<i>Passiflora karwinskii</i>	<i>Passiflora citrina</i>	<i>Passiflora morifolia</i>
				
<i>Passiflora coriacea</i>	<i>Passiflora racemosa</i>	<i>Passiflora cyanea</i>	<i>Passiflora miersii</i>	<i>Passiflora aurantia</i>
				
<i>Passiflora 'Wilgen Marieke'</i>	<i>Passiflora garckeii</i>	<i>P. albebilobata</i>		
				

Tableau n°2 Les passiflores botaniques











Passiflora cincinnata	Passiflora organensis	Passiflora apetala	Passiflora trifasciata	Passiflora gracilis
				
Passiflora incarnata (L.)	Passiflora jorullensis	Passiflora kermesina	Passiflora hirtiflora	Passiflora coerulea (L.)
				

Tableau n°3: Polymorphism des feuillages

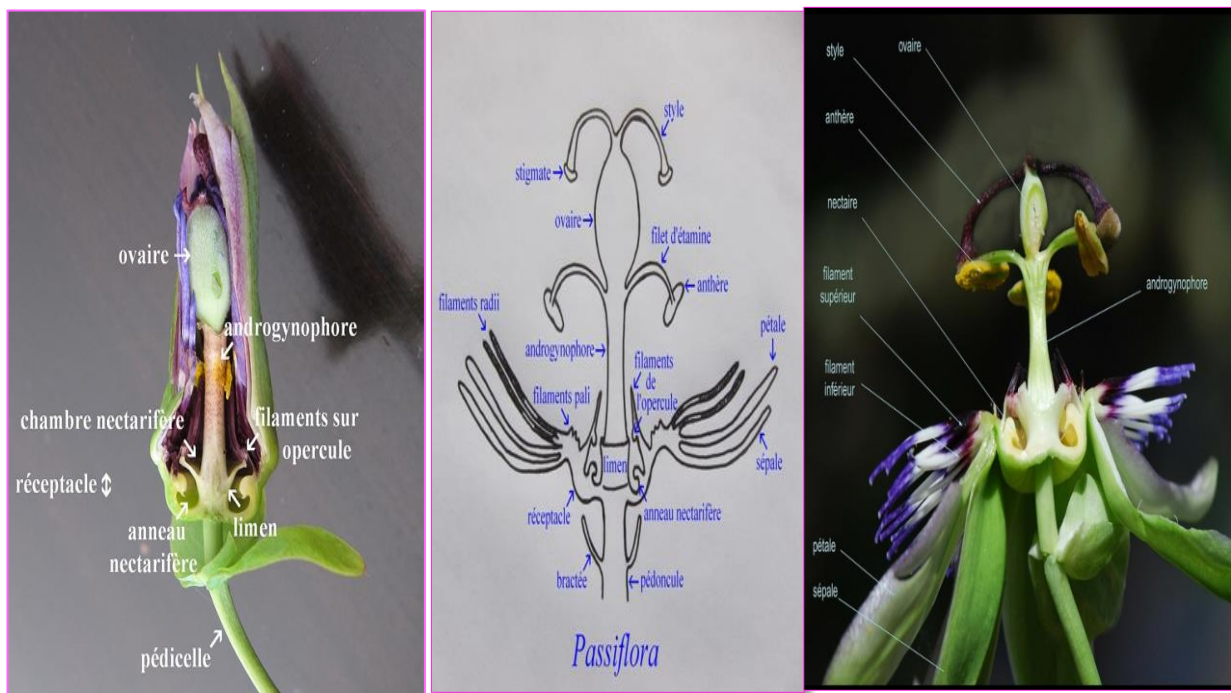


Figure 1 : Schéma d'une coupe transversale de fleur de Passiflora.



I.2.Passiflore

I.2.1.Généralité:

La passiflore est d'une beauté époustouflante. Ses couleurs peuvent être chatoyantes ou douces. Ses étamines et stigmates splendides ressemblent à une sculpture magnifique sur une base frangée formée par les pétales. La plante est dotée d'un abondant feuillage verdoyant et est joliment volubile. Ses vrilles s'agrippent facilement à des fils, à une clôture ou à une pergola. Cette plante grimpante est idéale pour couvrir une petite surface rapidement pour être un véritable plaisir pour les yeux. Un simple pot de passiflore (nom scientifique : *Passiflora*) grimpante décorera joliment une pergola, un piquet, un mur ou un cabanon de façon très naturelle ^[5].

La passiflore aussi appelée fleur de la Passion appartient à la famille des passifloracées, une famille étendue qui comprendrait selon les auteurs entre 600 et plus de 900 espèces dont la grande majorité est originaire de la zone tropicale Américaine et du bassin caribéen.

Plusieurs espèces de passiflores sont utilisées autour du monde pour des objectifs divers : la plus connue est l'espèce *P. edulis* Sims, car son fruit connu sous le nom de fruit de la passion ou maracuja aux Antilles françaises et dans la caraïbe ou encore grenadille, est le plus souvent consommé pour son intérêt alimentaire et en particulier son jus. La passiflore bleue, *P. caerulea* est, elle, cultivée pour une utilisation ornementale. En France, l'espèce *P. incarnata* ou passiflore officinale est utilisée en phytothérapie dans plusieurs spécialités à base de plantes ou homéopathique, pour ses propriétés sédatives ^[6].

I.2.2.Petite histoire de la Passiflore (genre *Passiflora*) :

Les passiflores étaient inconnues des Européens avant la découverte de l'Amérique par les Espagnols. La première mention littéraire d'une passiflore se trouve dans la description de la ville de Cali en Colombie donnée par Pedro Cieza de Leon en 1553 où il mentionne les fruits de grenadille (petites grenades) dans les vergers aux alentours de la ville. Une vingtaine d'années plus tard, on trouve une description plus élaborée des passiflores dans l'ouvrage du médecin botaniste espagnol Nicolas Monardes publié en 1569-1574 ^[2].

I.2.3. Description de l'appareil végétatif :



P. caerulea L

Les passifloracées sont des lianes grimpantes herbacées ou ligneuses. Leur accroche à leur support se fait par le biais de vrilles spiralées à l'aisselle des feuilles.

Les feuilles pétiolées sont alternes, et possèdent de petites stipules généralement caduques.

Le limbe des feuilles est entier parfois à bordures dentées. Chez quelques Passiflora sud-américaines, les feuilles ont développé des excroissances simulant les œufs de certaines espèces d'insectes phytophages. Ce mécanisme de défense encourage les insectes adultes à aller pondre leurs œufs ailleurs, où leur progéniture sera moins en concurrence. Les fleurs sont régulières et généralement bisexuées. Quand elles sont unisexuées, la plante est monoïque c'est à-dire qu'elle ne porte que des fleurs mâles ou des fleurs femelles. La corolle se positionne soit en corolle hypogyne ou périgyne. Le périanthe se compose de 3 à 5 sépales libres et persistants positionnés de façon imbriqués, et de 3 à 5 pétales libres ou soudés à la base. Les 3 à 5 étamines sont opposipétales, libres ou soudées à la base, et souvent portées par un androgynophore. L'ovaire est supère, uniloculaire, contenant 3 à 5 placentas pariétaux et de nombreux ovules anatropes ^[6].

I.2.4. Phytogéographie des Passiflora :

Le genre Passiflora est essentiellement représenté en forêt tropicale d'Amérique; cependant l'aire de distribution du genre s'étendu sur l'Asie du Sud-Est, l'Australie et les îles du Pacifique Ouest ou environ 50 espèces ont été collectées ^[7].

La répartition des passiflores en Amérique tropicale a été peu étudiée ; c'est principalement d'après la monographie de KILLIP (1938), basée sur l'analyse de collections d'herbier de Passifloracées américaines, que la répartition et l'importance de différents groupes taxonomiques ont pu être évaluées ^[7]; cependant une dizaine d'espèces sont originaires du Sud des Etats-Unis. L'aire de répartition du genre en Amérique s'étend entre 30° de latitude nord (Baja Californie, Florida) et environ 30° de latitude sud (Nord-Chili, Nord-Argentine, Uruguay, Paraguay). Sur 450 à 500 espèces de passiflores ^[7].

Zone 2 :

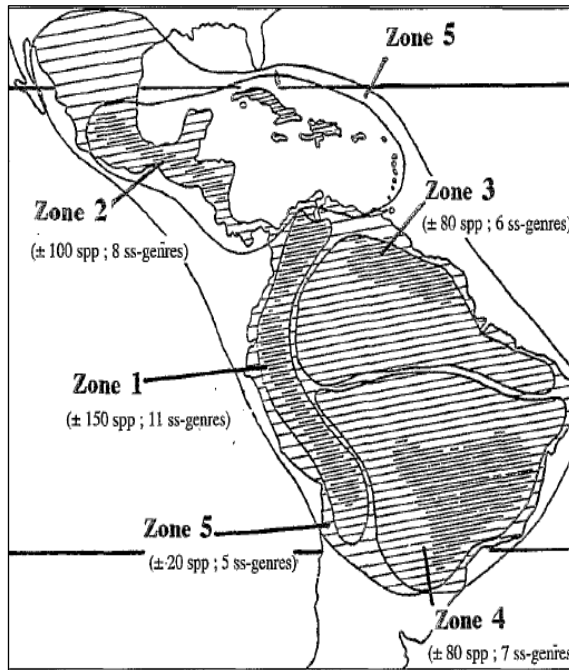
Un centre de diversité, avec une centaine d'espèces collectées appartenant à 8 sous-genres différents, correspond à la forêt de moyenne et basse altitudes d'Amérique centrale et des Antilles.

Zone 5 :

Une vingtaine d'espèces ont une large répartition en Amérique tropicale; elles appartiennent à 5 sous-genres différents (Passiflora, Plectostemma, Distephana, Dysosmia, Tryphostemmatoides).

Zone 1 :

Le plus important centre de diversité, avec 150 espèces collectées appartenant à 11 sous-genres différents, se trouve dans la région andine, en forêt tropicale humide de moyenne altitude des cordillères de Colombie, Venezuela, Equateur et Pérou.



Zone 3 :

Environ 80 espèces se rencontrent sur le bouclier guyanais d'une part.

Zone 4 :

Le bouclier brésilien.

Les aires de répartition, numérotées de 1 à 5 ont été évaluées à partir de la monographie de Killip (1938) sur les Passifloracées américaines.

Figure 2 : Répartition du genre Passiflora L.



HÉLICONIDÉ
POLLINISATEUR
Agraulis vanillae

D'autre part, il est intéressant de constater que les centres de diversité des passiflores renferment les papillons Héliconides, papillons des passiflores, constituant un exemple de coévolution entre insectes et plantes ; les passiflores étant les seules plantes-hôtes pour les larves de ces papillons (GILBERT, 1973) ^[7].

I.3. Passiflora caerulea (L.)



I.3.1. Classification botaniques:

Nom botanique : Passiflora coerulea

Famille : Passifloraceae – Passifloracées

Genre : Passiflora – Passiflores

Classe : Magnoliopsida – Dicotylédone, plantes à fleurs

Ordre : Malpighiales - Malpighiales

I.3.2. Description botanique:

Passiflora caerulea, ou passiflore bleue en français, est une grimpante persistante, à port étroitement érigé et aux larges feuilles vert-foncé, palmées et luisantes. ^[8]

Cette passiflore fleurit de juin à octobre, aux grandes fleurs parfumées bleu-blanc étoilées, à filaments bleu-clair et violets dans le centre ; Ensuite en automne, des fruits ovales jaune-orangé suivront. ^[8]

Passiflora caerulea aime un endroit abrité en plein soleil ou en mi- ombre, orienté de préférence vers le sud ou l'ouest. Cette plante préfère un sol peu humide, bien drainé, est flexible quant au ph, relativement vivace, tolère le vent maritime et la pollution atmosphérique, attire les abeilles et les papillons et produit des fruits jaune-orangé comestibles mais pas tellement délicieux ^[8].

Tableau n=°4 : Caractéristiques de Passiflora Caerulea















Hauteur	 Taille plante 2-5m  Diamètre corolle 60-80 mm
Floraison	Juin, juillet, août, septembre, octobre, floraison d'été, floraison d'automne
Sol	Tous types de sol, acide, calcaire, neutre, bien drainé, légèrement humide, sableux, loameux, argileux, sol crayeux
Couleur des fleurs	Jusqu'à 8 cm de large, fleurs parfumées bleu-blanc en forme d'étoile avec cinq pétales et sépales blancs et des filaments de couleur bleue à violette au centre de la fleur
Attire des papillons	Oui, nectar de bonne qualité
Fréquence de tailler et Période	Taille annuelle (1 ou 2 fois), plante à croissance très rapide Période de taille Dans le printemps ou dans l'été.
Résistance au froid	Rustique jusqu'à -10 °C.

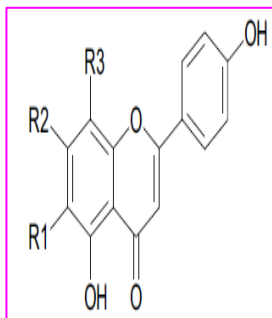
Tableau n°5 : Morphologie de Passiflora Caerulea

 <p><i>Fleur</i></p>	
 <p><i>Feuille</i></p>	
 <p><i>Fruit</i></p>	
 <p><i>Écorce</i></p>	
 <p><i>Port</i></p>	
 <p><i>Rameau</i></p>	

I.4 .Etude phytochimique:

Passiflora caerulea L contient les mêmes composants chimiques que (*Passiflora incarnata*),[9] Lesquels sont les suivants:

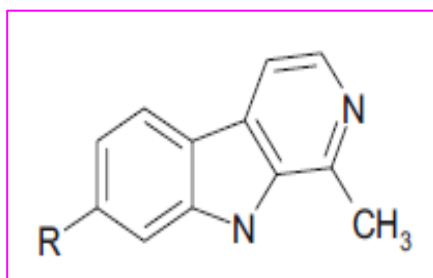
- **Flavonoïdes** : Flavones C-glycosylés (composition variable de 0,15 à 2,5 %) apigénine, lutéoline, quercétol, kaempférol et leurs hétérosides (dont vitexine, hétéroside de l'apigénine, schaftoside, iso-orientine, isovitexine- 2''-O-glucoside...) [9] [10].



	R1	R2	R3
Vitexine	H	OH	Glucosyl
Isovitexine	Glucosyl	OH	H
Schaftoside	Glucosyl	OH	α -Larabinopyranosyl
Isoschaftoside	α -Larabinopyranosyl	OH	Glucosyl
Swersitine	Glucosyl	OCH3	H

Fig.3: Structures des principaux flavonoïdes issus de *Passiflora incarnata*

- **Alcaloïdes 0,1 %** : Noyaux (structure β -carboline) pyridino-indoliques de type harmane (ou passiflorine, à 0,03 %), harmine, harmol, harmaline, harmalol [9] [10].



R = H : harmane

R = OCH₃ : harmine

Fig.4 : Structures des principaux Alcaloïdes de *Passiflora incarnata*

- **Huile essentielle** : Carbures terpéniques (limonène, α - pinène, cumène, zizaène, zizanène), carvone, alcools benzylique et phénéthylique, linalol...^{[9] [10]}.

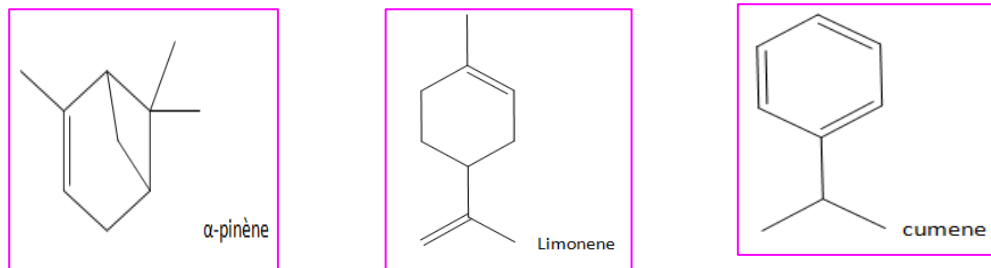


Fig.5 : Composition d'une huile essentielle de passiflore incarnata

- **Glucides** Saccharose, fructose, glucose, raffinose...^[9]

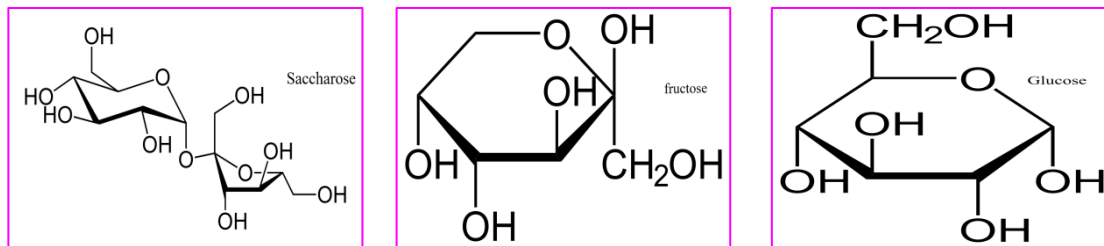


Fig.6 : Structures des glucides

- **l'oxycoumarine** : Umbélliférone et scopolétine.

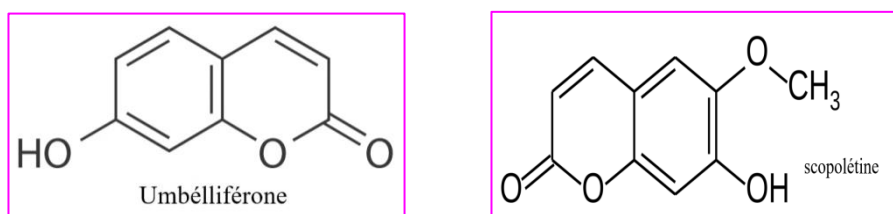


Fig.7 : Structures des oxycoumarine

- **Des stérols** : sitostérine et stigmastérine.^[9]

- Des acides gras : l'acide linolique et l'acide linoléique.

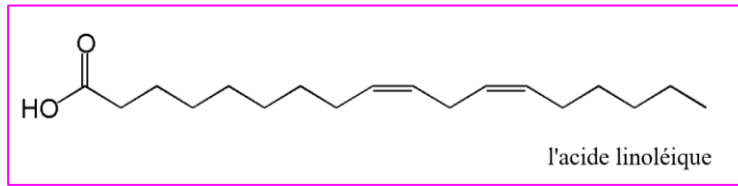


Fig.8 : Structure de l'acide linoléique

- Autres substances : Coumarines, Maltol ou 2-méthyl-3-hydroxypyronne (0,05%)
Hétérosides cyanogènes (gynocardine) ; Acides organiques ^[9].

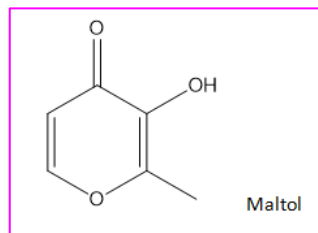


Fig.9 : Structure de Maltol



I.5. Propriétés Thérapeutique

L'usage médical de la plante a seulement été développé dans la seconde partie du XIXe siècle. Il apparaît en 1867 aux États-Unis et en France une trentaine d'années plus tard, pour traiter les désordres nerveux et gastro-intestinaux.

I.5.1. Action centrale :

La passiflore est sédatrice, anticonvulsivante et analgésique

Ces effets sont probablement liés à l'action concomitante des flavonoïdes, des Alcaloïdes et des autres fractions de la plante.

- Les alcaloïdes noyau β -carbonés ont des actions complémentaires sur le SNC (système Nerveux Centrale), avec une inhibition de la MAO (monoaminoxydase), une stimulation de la production de sérotonine ainsi qu'un effet agoniste au niveau des récepteur GABA (acide gamma-aminobutyrique).

La diminution de l'anxiété induite en conséquence permet une augmentation de la motilité et de l'activité exploratrice du sujet pendant les 3 premières heures après sa prise. Elle est suivie dans un deuxième temps par un ralentissement de sorte activité générale une composante sédatrice puis hypnotique, augmentant la durée du sommeil et potentialisant l'effet des somnifères.

Par ailleurs, la passiflore mine la température corporelle, condition favorable à l'entrée dans le Sommeil. Cet effet est renforcé par l'action anticonvulsivante du Maltol^[11].

I.5.2. Actions périphériques :

L'activité périphérique de la passiflore contribue elle aussi à la mise en place d'un sommeil réparateur.

I.5.2.1. Sur les muscles:

La passiflore est un antispasmodique musculaire induisant une augmentation de l'amplitude des contractions, une diminution de leur fréquence et par ailleurs, elle potentialise les effets de la papavérine, et antagoniste la pilocarpine^[11].

I.5.2.2. Sur l'appareil cardiovasculaire:

La passiflore possède également une action « sédatrice » cardiaque. Différentes expériences chez l'animal démontrent une activité bradycardisante, dermatrope (conductibilité) négative et hypotensive par vasodilatation périphérique. *Passiflora incarnata* également une influence sur le tonus sur la résistance capillaire avec activation de la circulation périphérique.

I.5.2.3. Sur l'appareil respiratoire:

La passiflore augmente l'amplitude et la fréquence respiratoire^[11].

Les fruits de la passion, très riches en vitamines, provient surtout de *Passiflora edulis*. *Passiflora incarnata* doit être considérée comme la plus rustique sous nos climats, elle produit des fruits savoureux^[4].

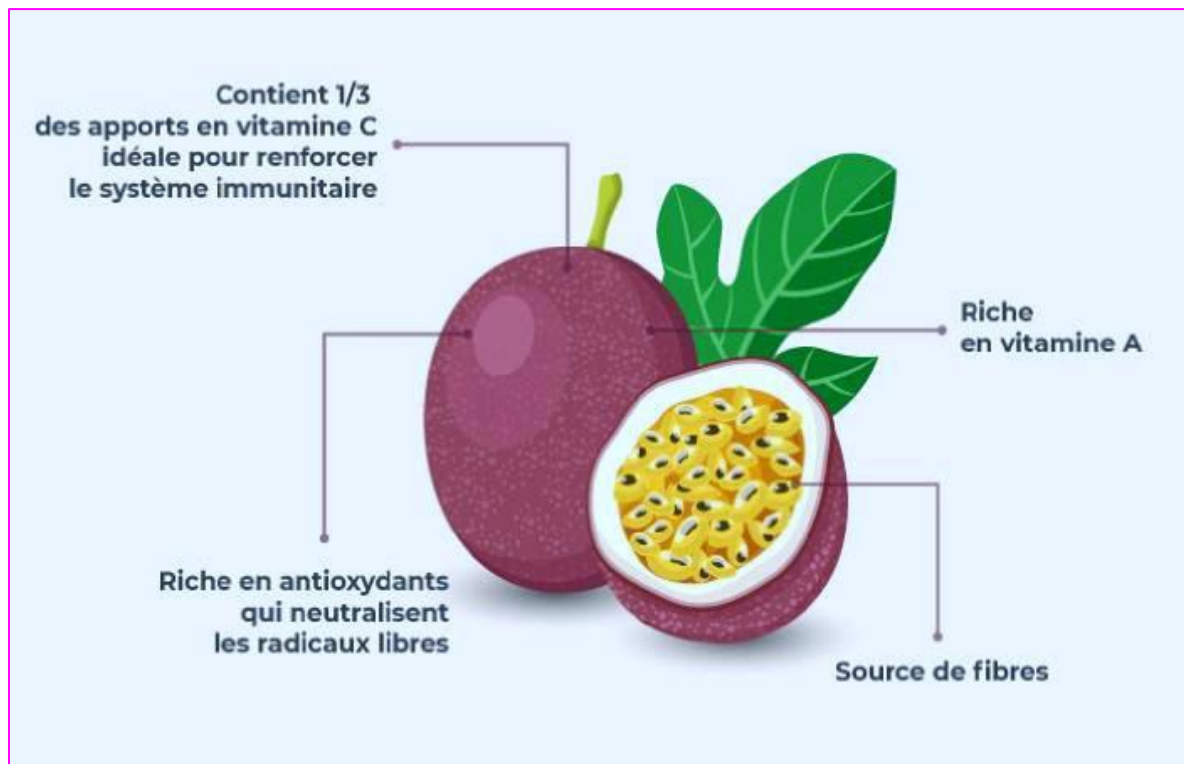


Fig.10 : Schéma présente les constituants de fruit de la passion

I.6.Médicament à base de passiflore



Les médicaments à base de passiflore contiennent les parties aériennes (tiges, feuilles, fleurs, fruits) de la passiflore.

Ils sont disponibles sous diverses formes à prendre par voie orale: en infusion, en comprimés, en gélules et en gouttes. Ils sont fabriqués à partir de diverses préparations à base de plantes.

Les préparations à base de passiflore sont également disponibles en association avec d'autres substances végétales produisant les mêmes effets. Ces médicaments mixtes feront l'objet d'une évaluation indépendante par le HMPC (Comité pour les médicaments à base de plantes) ^[12].

I.6.1.Comment les médicaments à base de passiflore sont-ils utilisés?

Les médicaments à base de passiflore peuvent être utilisés dès l'âge de 12 ans. Ils ne sont pas recommandés chez l'enfant de moins de 12 ans du fait de l'insuffisance de données sur la sécurité de leur utilisation dans cette classe d'âge.

La dose de médicaments à base de passiflore et leur fréquence d'administration dépendent des symptômes à traiter et de la formulation du médicament utilisé. Des instructions détaillées figurent sur la notice fournie avec chaque médicament.

Ils sont généralement pris trois à quatre fois par jour ^[12].

I.6.2.Dans quel cas les médicaments à base de passiflore sont-ils utilisés?

Les médicaments à base de passiflore sont traditionnellement utilisés pour soulager les symptômes légers de tension nerveuse et pour favoriser le sommeil chez l'adulte et l'adolescent de plus de 12 ans.

Ces indications reposent exclusivement sur l'utilisation traditionnelle.

De nombreux médicaments traditionnels à base de plantes n'ont pas fait l'objet d'un examen approfondi fondé sur les méthodes scientifiques actuelles. La législation pharmaceutique de l'Union européenne prévoit la possibilité pour les médicaments traditionnels à base de plantes d'être enregistrés officiellement, sur la base de leur utilisation traditionnelle, dès lors qu'ils peuvent être utilisés en toute sécurité et sans l'assistance d'un médecin pour procéder au diagnostic, au traitement et au suivi. Cette utilisation traditionnelle doit couvrir une période d'au moins 30 ans, dont 15 ans au sein de la Communauté ^[12].

I.6 .3.Quels sont les risques associés à l'utilisation des médicaments à base de passiflore?

Les médicaments à base de passiflore sont généralement bien tolérés. Un cas d'hypersensibilité (allergie) et un cas de nausée (envie soudaine de vomir) et de tachycardie (battements du cœur anormalement rapides) ont été signalés dans la littérature. Aucun signe d'éventuelle nocivité n'a été rapporté dans des conditions normales d'utilisation des médicaments à base de passiflore.

Pour la liste complète des effets indésirables observés lors de la prise d'un médicament à base de passiflore, les médicaments à base de passiflore ne doivent pas être utilisés chez les personnes pouvant présenter une hypersensibilité (allergie) à la passiflore.

Compte tenu de l'absence de tests visant à examiner les effets des médicaments à base de passiflore sur la procréation ou l'enfant à naître, ces médicaments ne doivent pas, par mesure de précaution générale, être utilisés chez les femmes enceintes ou allaitantes.

L'utilisation traditionnelle des médicaments à base de passiflore indique qu'ils peuvent provoquer une somnolence et réduire l'aptitude à conduire des véhicules et à utiliser des machines. Les patients affectés ne doivent pas conduire ni utiliser des machines ^[12].

I.6.4.Exemple sur les médicaments à base de passiflore:



ALTHO ACTIF
VEG
PASSIFLOR
BIO 30ML



ANXEMIL 200
mg, comprimé
enrobé, boîte de
42



ARKOGÉLULES
PASSIFORE -
Gélule de
passiflore. - bt
150



BOIRON
RELAXATION
PASSIFLORE
60ML



BORIPHARM
N°41, granules,
boîte de 1 tube
de 140 granules



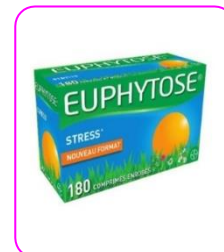
CALMOMEL
REPOS &
SOMMEIL SIROP
150ML



Clémeflore
Mélatonuit
complexe
sommeil x60
gélules



DELAROM
LAIT CORP
HYD
PASSION200
ML



EUPHYTOSE,
comprimé
enrobé, boîte
de 1 tube de
180



HOMEOGEN
E 46
Comprimé
boîte de 60



LEHNING
SOMMEIL
JOUR/NUIT



PANXEOL,
comprimé
enrobé, boîte
de 20



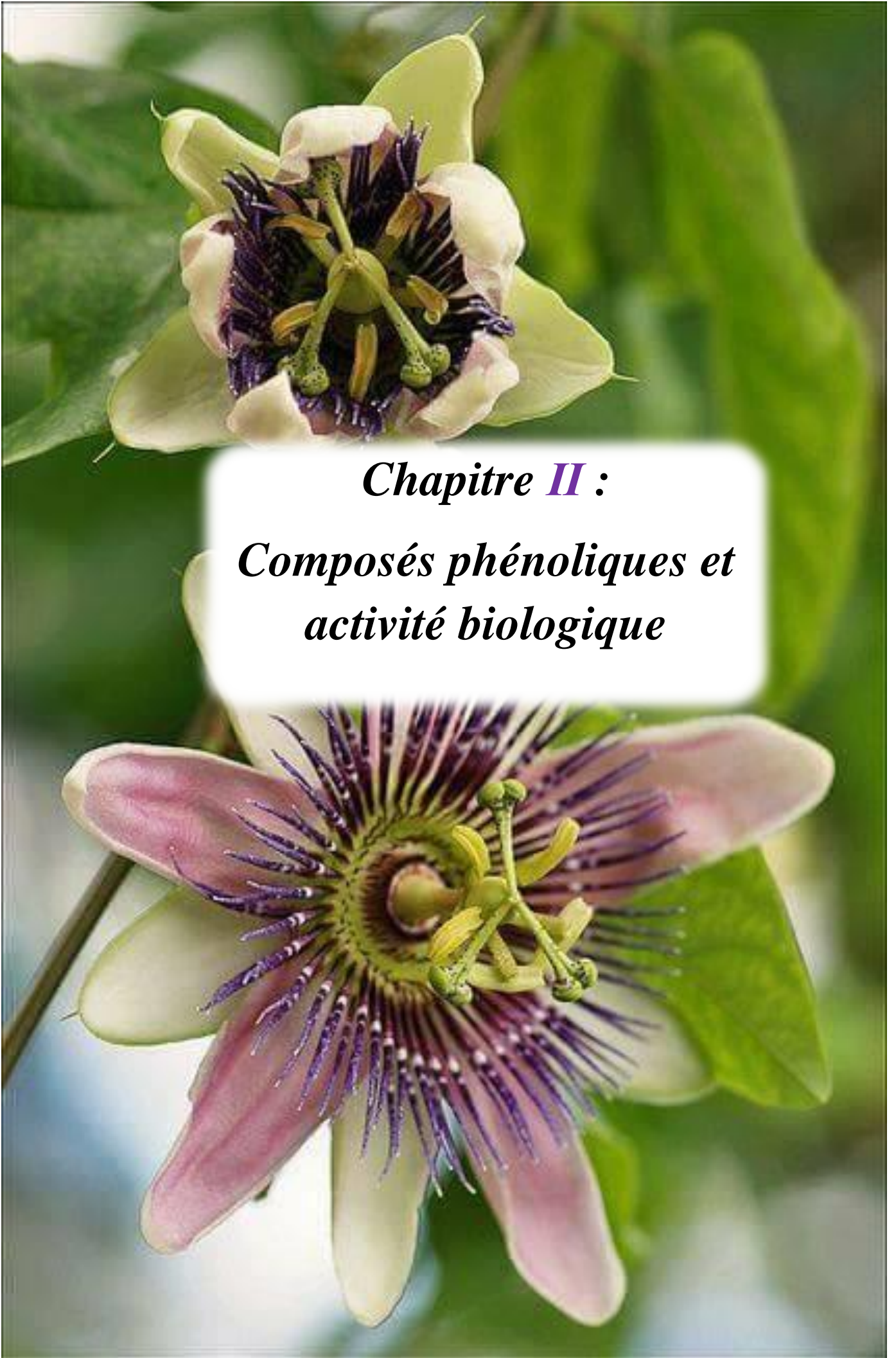
BIO SEASONS
GEL DCH
INTIME
250ML



BIOCARDE,
solution
buvable, flacon
compte-gouttes
de 30 ml



BIOCYTE EYE
PATCH X2



Chapitre II :
Composés phénoliques et
activité biologique

Partie 1

Composés phénoliques.

II.1.composés phénoliques


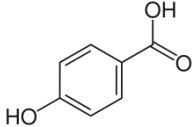
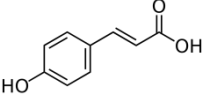
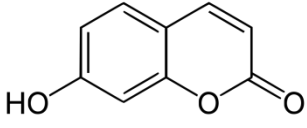
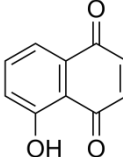
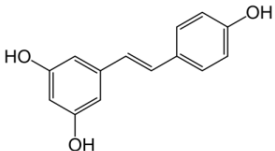
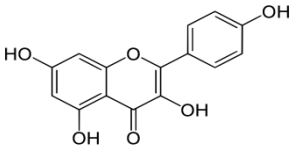
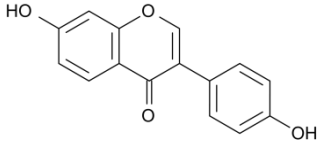
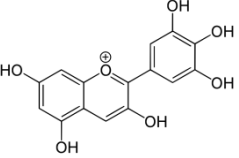
II.1.1.Définition :

Sont des métabolites secondaires qui constituent un des groupes ^[13] le plus représenté dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) ; Ils sont présents aussi dans diverses substances naturelles comme les fruits rouges, le raisin ...etc. ^{[14][15]} et largement distribué dans le monde végétal avec plus de 8000 structures phénoliques. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction: éther, ester, hétéroside ^[13].

Leur présence dans les tissus animaux est généralement due à l'ingestion d'aliments d'origine végétale ; Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la structure et la protection des plantes, Ils offrent également, pour la santé humaine, une protection contre certaines maladies impliquant un stress oxydatif, comme les cancers et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives. ^[13]

II.1.2.Classification des composés phénoliques :

Les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux. Ces composés peuvent être regroupés en plusieurs catégories qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base ; On distingue les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les stilbènes et les quinones ^[15].La classification de ces substances a été proposée par HARBORNE (1980).Les différentes classes principales de ces composés phénoliques isolés des plantes sont illustrées dans le tableau suivant : ^[16]

<i>Squelette</i>	<i>Classe</i>	<i>Exemple</i>	<i>Formule</i>
C_6	<i>Phénols simples</i>	<i>Hydroquinone</i>	
C_6-C_1	<i>Acides hydroxy benzoïques</i>	<i>Acide P-hydroxy benzoïque</i>	
C_6-C_3	<i>Acides hydroxy cinnamiques</i>	<i>Acide p-coumarique</i>	
	<i>Coumarines</i>	<i>Ombelliférone</i>	
C_6-C_4	<i>Naphtoquinones</i>	<i>Juglone</i>	
$C_6-C_2-C_6$	<i>Stilbenoides</i>	<i>Trans-resveratrol</i>	
$C_6-C_3-C_6$	<i>Flavonoïdes</i>	<i>Kaempférol</i>	
	<i>Iso flavonoïdes</i>	<i>Daidzeine</i>	
	<i>Anthocyanes</i>	<i>Delphinidol</i>	

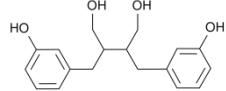
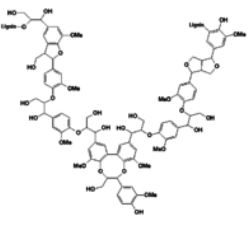
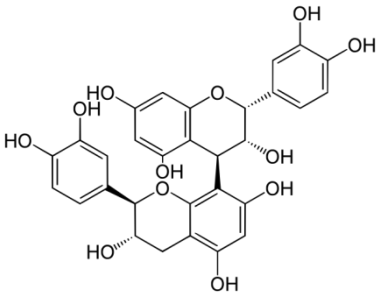
$(C_6-C_3)_2$	Lignanes	Enterodiol	
$(C_6-C_3)_n$	Lignines		
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Tanins condensés	Procyanidol	

Tableau n°7 : Les principales classes de composés phénoliques.

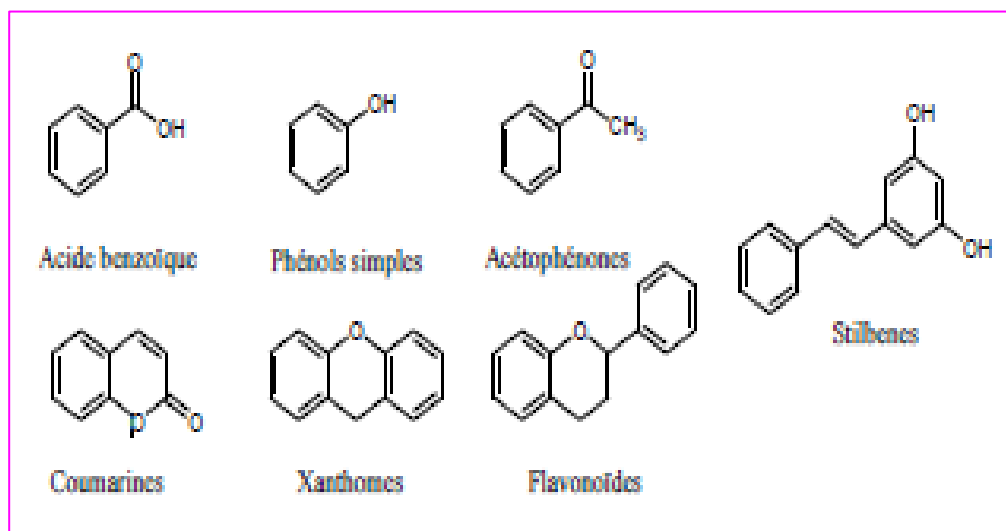


Fig.7: Squelette de base des composés phénoliques.

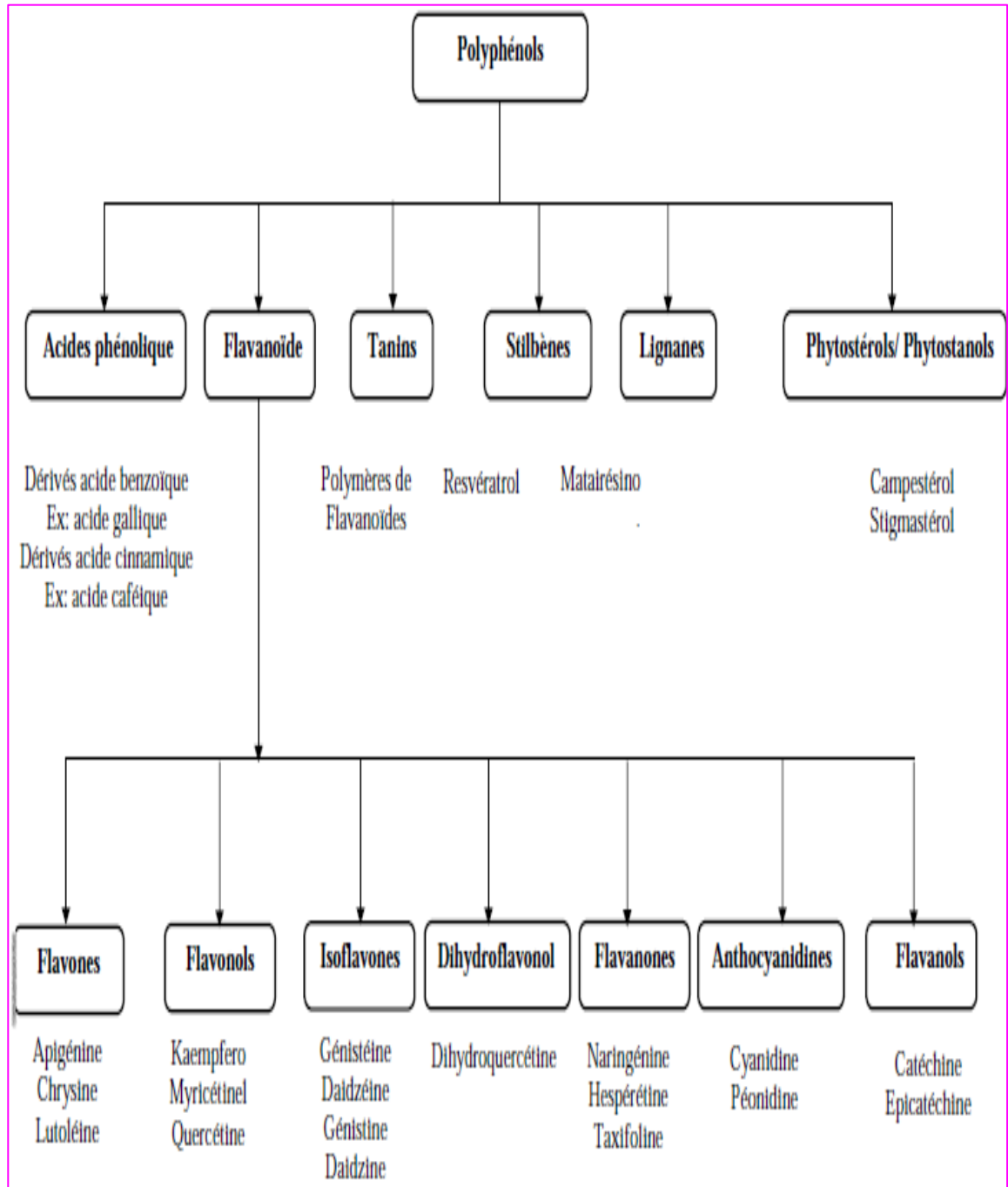


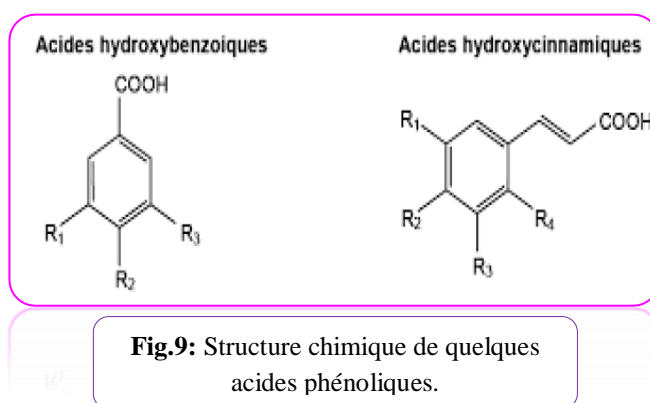
fig.8 : Classification des polyphénols

II.1.2.1. Les phénols :

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique molécule donnant par synthèse l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages^[1].

- **Structure :**

Les acides phénoliques, sont des substances phytochimiques ayant au moins un groupe carboxyle et un groupe hydroxy-phénolique. La dénomination générale d'acides phénoliques englobe les formes les plus simples des composés phénoliques qui se séparent en deux grands groupes distincts: les acides hydroxy benzoïques qui sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure en C6-C1, ils sont très communs aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'ester ou d'hétérosides ; et les acides hydroxy cinnamiques qui dérivent de l'acide cinnamique et possèdent une structure en C6-C3.^[15]



II.1.2.2. Les flavonoïdes : Le terme « flavonoïde du grec flavus, (jaune) en latin » est le nom générique qui désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols^[15]. Sont des substances qui relèvent du métabolisme secondaire,^[16] Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc.^[1]

Structure :

Les flavonoïdes (plus de 6000) possèdent le même élément structural de base, avec un squelette à quinze carbones qui, à son niveau le plus simple, consiste en deux cycles phényles, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6). Le pont en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C. [15]

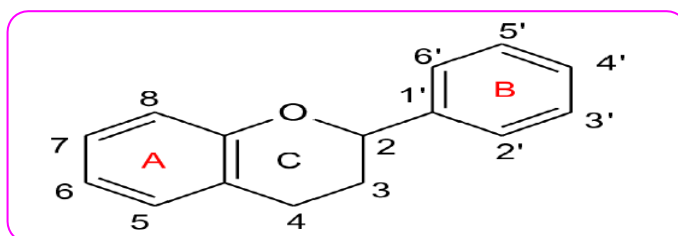


Fig.10 : Structure de base des flavonoïdes

II.1.2.2.1. Classification des flavonoïdes:

Ils peuvent être regroupés en une douzaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central de façon générale, les flavonoïdes peuvent être hydroxylés en position 3, 5, 7, 3', 4', 5'et/ou 6' (suivant la numérotation présentée pour les Flavones,). Un ou plusieurs de ces groupes hydroxyles sont fréquemment méthylés, acétylés, prénylés ou sulfatés. Dans les plantes, les flavonoïdes peuvent être présents sous forme C-ou O-glycosylés. Les formes libres, sans sucres attachés sont appelés les génines ou aglycones. [15]

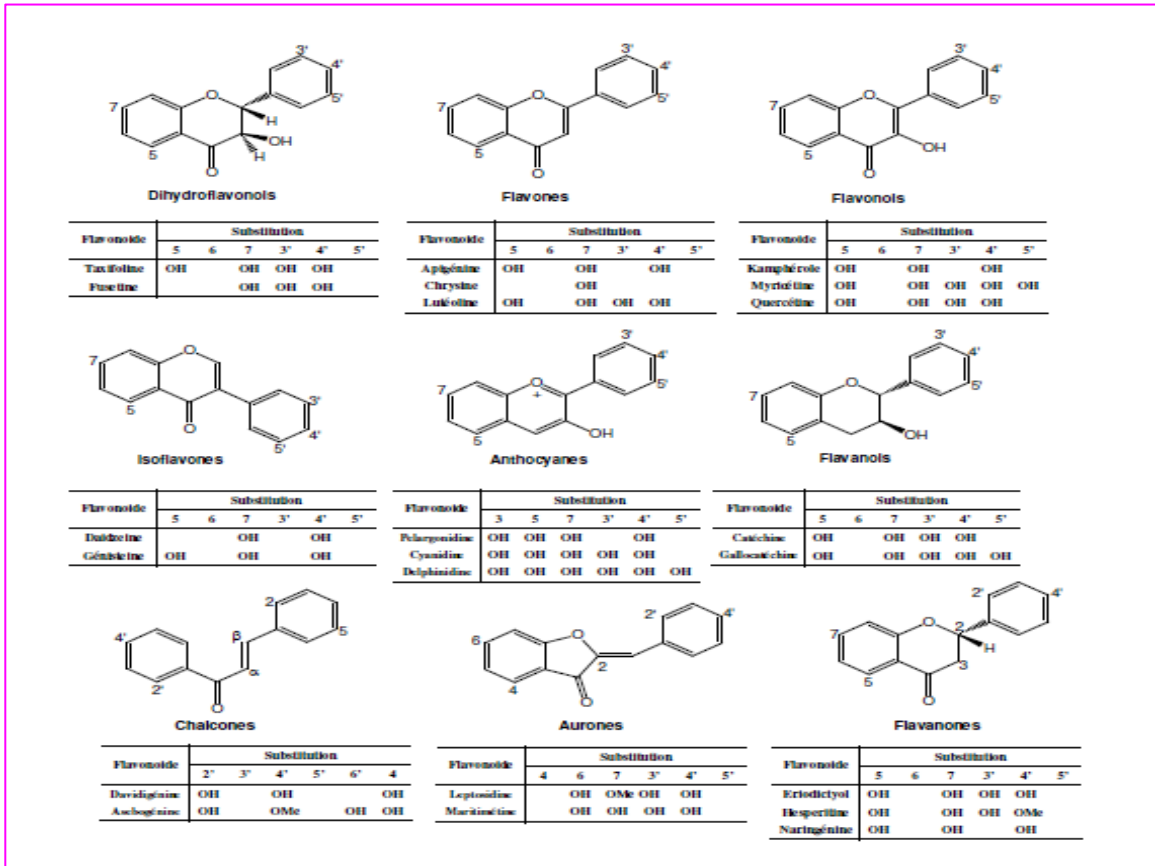
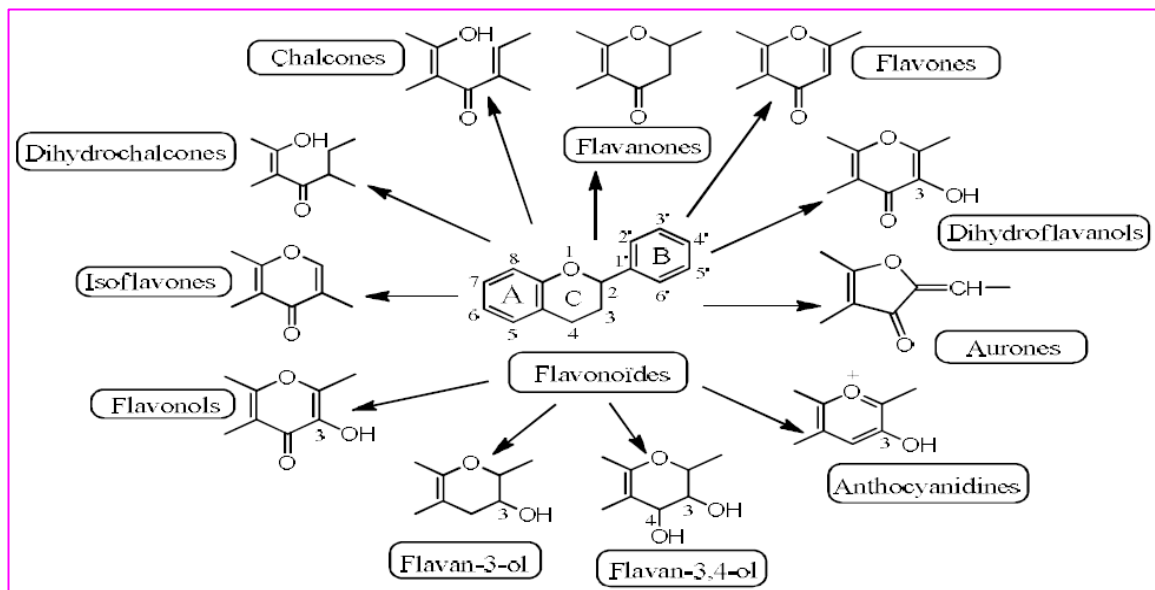


Fig.11 + 12: Les différentes classes des flavonoïdes.



II.1.2.3. Les anthocyanes :

Les anthocyanes (du grec anthos, fleur et Kuanos, bleu violet), terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. ^[15] Ces molécules, faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est détectable à l'oeil nu. Ces pigments sont donc à l'origine des couleurs des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues. Ils sont généralement localisés dans les vacuoles des cellules épidermiques qui sont de véritables poches remplies d'eau. On trouve également les anthocyanes dans les racines, les tiges, les feuilles et les graines. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle. ^[15]

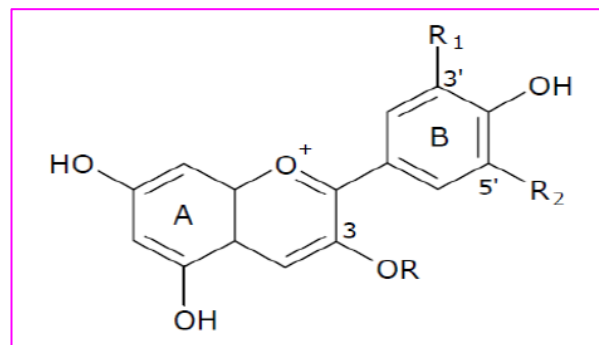


Fig.13: Structure générale des anthocyanes.

II.1.2.4 Les quinones :

Cétones aromatiques provenant de l'oxydation des diphenols. Les quinones constituent un groupe de substances biologiquement très actives. Beaucoup d'entre elles sont antimicrobiennes, c'est à dire antibiotiques naturels agissant surtout sur les grams +, ce sont aussi des fongicides et parfois même des vermifuges. Les quinones sont des transporteurs d'électrons spécifiques de la membrane mitochondriale. ^[15]

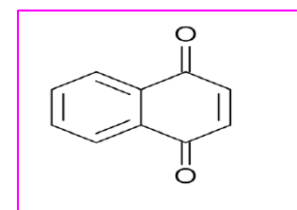


Fig.14 : structure de quinones

Enfin, la majorité des anthraquinones agissant directement sur la musculature lisse au niveau du côlon et entravant la résorption de l'eau. En présence d'une base (NaOH ou KOH), les quinones donnent une coloration caractéristique allant du rouge orangé au violet pourpre. ^[15]

II.1.2.5 Les tanins :

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé^[17]. Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles, ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure^[1].

Structure :

Sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire, des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux. On distingue: les tanins hydrolysables et condensés.^[17]

II.1.2.5.1 Tanins hydrolysable :

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue : les tanins galliques et les tanins ellagiques.^[18]

○ Tanins galliques « Gallo tanins » :

Ils sont formés par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique. Ils sont formés autour d'un sucre (glucose ou polyol dérivé du D-glucose) comportant plusieurs liaisons esters avec des acides galliques (ou leurs dérivés) ; les fonctions hydroxy OH des résidus polyoliques sont partiellement ou totalement substitués par des unités galloyles. Les tétra-esters et penta-esters sont hydrolysables naturels. Ils peuvent se constituer des chaînes latérales de plusieurs acides galliques liés selon un mode méta- ou para-depsidique.^[18]

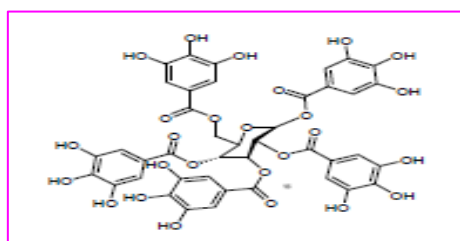


Fig.15: penta-O-galloyl- D-glucose.

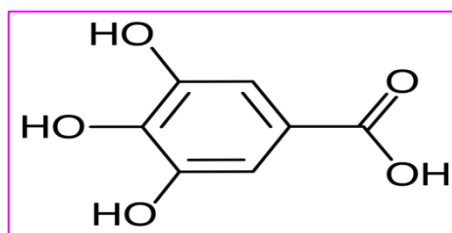


Fig.16 : Structure de l'acide gallique.

○ **Tanins ellagique « Ellagitannins » :**

Ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique. Sont formé autour d'un sucre (glucose ou polyol dérivé du D-glucose) comportant plusieurs liaisons esters d'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) (ou de ses dérivés DHHDP, acide chébulique).

Ils sont produits à partir des gallotanins par couplage oxydatif C2-C2' d'au moins deux unités gallolyles. Avec plus de 500 composés, les ellagitannins forment le groupe le plus important de tanins. Après hydrolyse des liaisons ester, les acides diphéniques libérés se réarrangement spontanément en acide ellagique stable. ^[18]

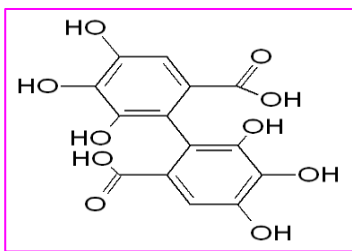


Fig.17 : structure de HHDP

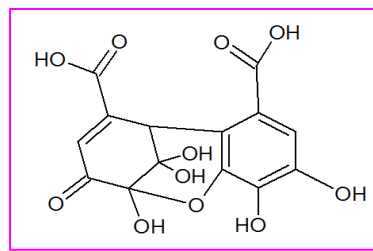


Fig.18 : structure de DHHDP

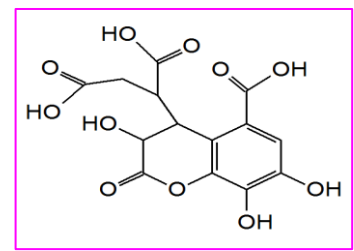


Fig.19: structure de l'acide chébulique.

II.1.2.5.2 Tanins condensés :

Ce sont des polymères flavanoliques, constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone le plus souvent C4-C8 ou C4-C6. Ils résultent d'un couplage entre le C4 électrophile d'une unité flavanyle, issue d'un flavan-4-ol ou d'un flavan-3,4-diol, et une position C8, plus rarement C6, nucléophile d'une autre unité, généralement un flavan-3-ol, tel la catéchine ou l'épi catéchine : ^[19]

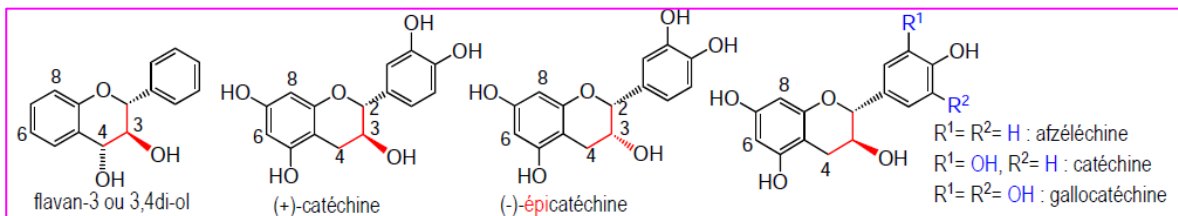


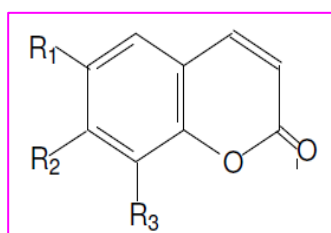
Fig.20 : Les flavan-3-ols monomères

II.1.2.6 Les coumarines :

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses ^[1]; Historiquement, le nom de coumarine vient de «cumaru» qui est le nom de l'arbre de tonka (*dipteryx odorata willd, fabaceae*), dans une langue amazonienne dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine ; Donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. ^[15]

Se trouvant dans la nature, soit l'état libre ou bien combiné avec des sucres ; Les coumarines sont caractérisées par une structure qui comporte un noyau benzo (2 H)-1 pyrannone. Toutefois leurs structures restent très diverses et peuvent être classés en deux grands groupes. Coumarines simples et Coumarines complexes où un noyau furanne Ou pyranne est associée au noyau benzo α pyrone. ^[15]

II.1.2.6.1 Les coumarines simples : Ce sont celles qui ont des substituants dans le cycle Benzénique. Elles peuvent être des dérivés hydroxylés, méthoxylés, alkylés, alcoxylés et Glycosylés de la molécule mère. ^[15]



	R1	R2	R3
Umbélliférone	H	H	OH
Esculéline	OH	OH	H
Scopolétine	OCH3	H	OH
Fraxétol	OCH3	OH	OH
Esculine	O-Glu	OH	H
Fraxoside	OCH3	O-Glu	OH

Tableau n=°8: Structures de quelques coumarines simples.

II.1.2.6.2 Coumarines complexes : ils se constituent d'un noyau furane ou pyranne associé au noyau benzo- α -pyrone, la prénylation est à l'origine des coumarines polycycliques. ^[15]

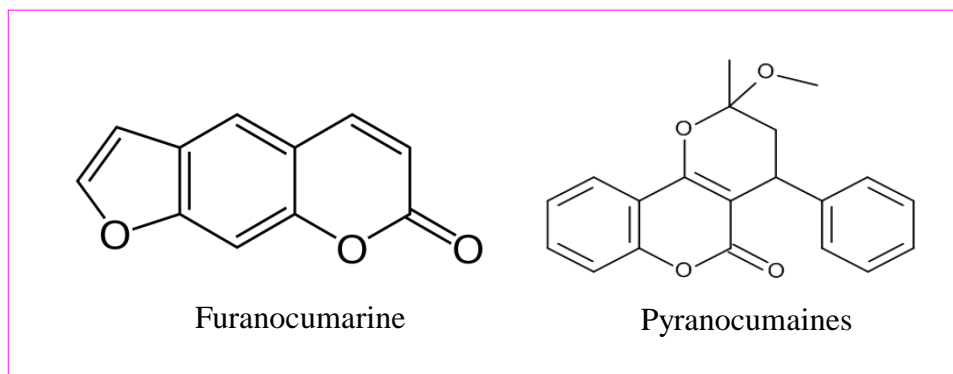


Fig.21 : Structure de quelques coumarines complexes.

II.2 Source alimentaires des polyphénols

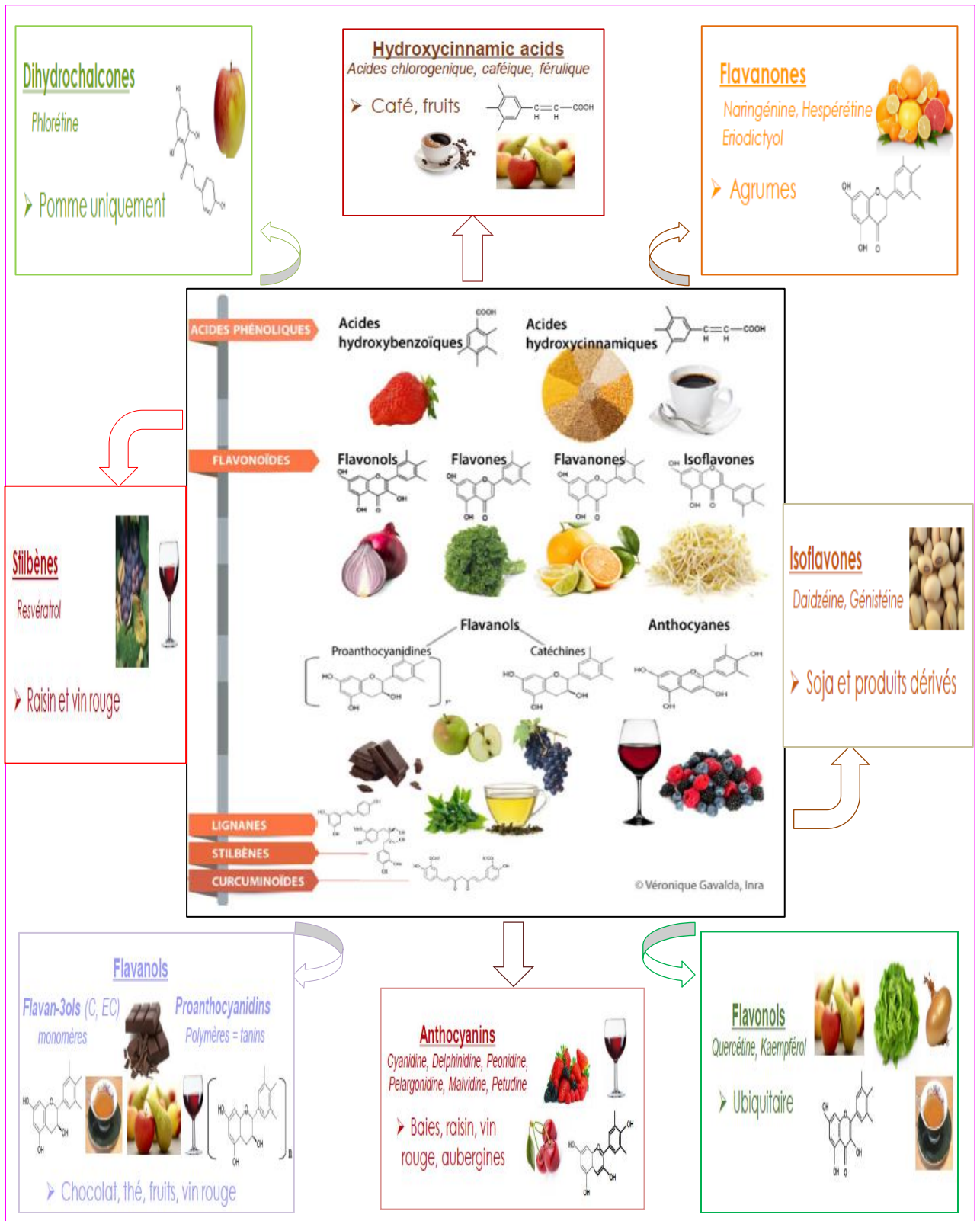


Fig.22 : Source alimentaires des polyphénols.

II.3 Propriétés des polyphénols

II.3.1 Propriétés physico-chimiques des polyphénols :

II.3.1.1 Propriété réductrice :

Le potentiel d'ionisation (PI) d'une molécule est l'énergie minimale qu'il faut lui fournir pour lui arracher un électron. Plus un composé aromatique est substitué par des groupements donneurs d'électrons, plus son PI est faible et plus son caractère réducteur est grand.^[17] Il peut aussi subir une oxydation mono électronique qui conduit à un radical cation. Dans le cas du phénol, le radical cation formé est un acide fort qui se déprotone pour donner un radical phénoxy.^[18]

II.3.1.2 Polarisabilité :

Les molécules possédant de gros atomes présentent des bandes d'absorption dans le domaine de l'UV proche et du visible. Ils sont hautement polarisables, c'est des composés aromatiques, les phénols les plus polarisables présentent des bandes d'absorption dans l'UV aux longueurs d'onde λ max >300 nm (flavonols et hydroxy cinnamique), voir 500 nm dans le cas des pigments anthocyanes.^[18]

II.3.1.3 Liaison d'hydrogène :

Les phénols sont des donneurs de liaison hydrogène (liaison H) en raison du caractère acide du proton du groupe OH. Ce sont aussi des accepteurs de liaison H. En fait, seule la paire libre de l'atome O qui n'est pas conjuguée avec le cycle est capable d'accepter une liaison H en provenance d'un donneur. Ainsi, un phénol est capable de donner une liaison H et d'en recevoir une seulement. Notons que ces liaisons H se renforcent mutuellement (coopérativité).^[17]

II.3.1.4 Nucléophilie :

La nucléophilie des composés phénoliques est portée par l'atome d'oxygène et les atomes de carbone en ortho et para du groupement OH (suite à l'effet (+M)). Cette propriété est à l'origine des réactions de substituants électrophiles aromatique (alkylation, acylation, etc.) Régiosélectives des positions ortho et para. ^[17]

Le cycle A des flavanols possède deux centres C6 et C8 fortement nucléophiles car en ortho et en parade trois groupements OH ou OR à effet (+M). Cette nucléophilie permet des réactions de substitutions électrophiles aromatiques. ^[17]

II.3.1.5 Caractère acides de la fonction phénol :

La déprotonation de la liaison OH des phénols entraîne de la formation des ions phénates, leur fort solvatation (formation de liaison H avec l'eau) permet d'expliquer les propriétés acides faibles des phénols dans l'eau (pka situé entre 8 et 10). ^[18]

II.3.1.6 Formation de complexes avec les métaux :

La formation de complexe par chélation avec les métaux (en générale le fer et l'aluminium) est exploitée pour la révélation de chromatogrammes, pour le dosage de ces substances et la réalisation des spectres d'absorption. Dans la nature cette compléxation intervient dans la coloration des plantes. ^[17]

II.3.1.7 Formation d'ester et d'éthers-oxydes :

La fonction ester provient de la réaction d'un acide avec OH alcoolique ou phénolique. La fonction d'éthers-oxyde provient de la déshydratation intermoléculaire des alcools, des phénols, ou des réactions d'alcool et d'aldéhyde. Dans la nature, la formation des esters à partir des composés phénoliques fait intervenir la fonction acide d'un phénol et la fonction alcool d'une autre molécule. (les composés phénoliques n'interviennent pas par leur fonction phénol). La formation d'éther-oxyde est très fréquente dans la nature et particulièrement la formation d'éther-oxyde mixtes entre une fonction phénol et l'alcool méthylique. ^[18]

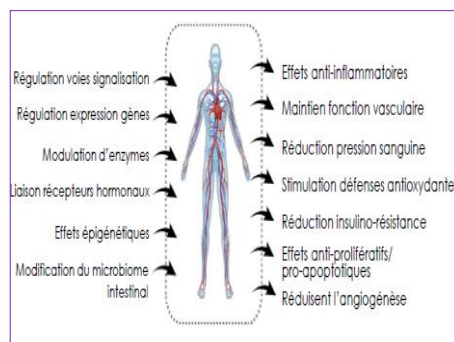
II.3.1.8 L'oxydation :

L'attaque des phénols par les agents oxydants provoque le départ de l'atome d'hydrogène et la formation d'un radical libre avec un atome d'oxygène simplement lié, mais possédant un électron célibataire ; Généralement un tel radical est très instable et réagit rapidement, ainsi peut se dimériser, ou réagir avec un autre radical, en formant, par ordre d'importance, des liaisons C-C, C-O ou O-O. ^[18]

L'oxydation des phénols peut se produire par le système enzymatique contenant les polyphénols oxydase (PPO), les laccases et les peroxydases avec ou sans H₂O₂ et aussi par l'alcalinisation, surtout en présence d'ions métalliques. [18]

II.3.2 Propriétés pharmacologie :

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire.



D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la

santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. [20]

En phytothérapie, même si certaines indications sont communes mais chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques. [20]

<i>Polyphénols</i>	<i>Activités biologiques</i>
<i>coumarines</i>	<i>anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antiparasitaires, antitumorales et analgésiques.</i>
<i>Flavonoïdes</i>	<i>antitumorales, antiparasitaires, antibactériennes, anti-inflammatoires, vasodilatatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, anti-oxydantes.</i>
<i>Tanins</i>	<i>anti-oxydantes et antiparasitaires</i>
<i>Lignanes</i>	<i>anti-inflammatoires, analgésiques et antiparasitaires</i>
<i>Acides phénoliques</i>	<i>anti-ulcéreuses</i>

Tableaux n=°9 : Activités biologiques des polyphénols

Partie 2
Activité biologique.

II.4 Activité biologique

II.4.1 Activité antioxydant :

L'organisme a développé des systèmes de défense très efficaces contre la production des radicaux libres. Les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme «antioxydant».

II.4.1.1 Les antioxydant :

Du point de vue biologique, les antioxydants sont toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat, et dont les produits de réaction avec l'oxydant ne sont pas toxiques.^[21]

II.4.1.1.1 Caractéristiques des antioxydants

Un composé est considéré antioxydant *in vivo*, lorsqu'il requière les propriétés suivantes^[21] :

- ✓ il doit réagir avec les métabolites réactifs de l'oxygène qui sont biologiquement toxiques.^[21]
- ✓ le produit de la réaction de l'antioxydant avec l'oxydant ne doit pas être plus toxique pour l'organisme que le métabolite éliminé.^[21]
- ✓ l'antioxydant potentiel doit être présent dans l'organisme en concentration suffisante.^[21]
- ✓ la demi-vie de l'antioxydant doit être suffisamment longue pour réagir avec l'oxydant.^[21]

II.4.1.1.2 Mode d'action des antioxydants :

Indépendamment de leur localisation, les antioxydants peuvent agir à deux niveaux : en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés ou en épurant les radicaux libres oxygénés. En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est, en outre, capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire.^[21]

Les antioxydants préventif sont une action stabilisatrice en décomposant par exemple les peroxydes en des produits stables de terminaison ce qui empêche directement la formation

des radicaux libres. Ils peuvent aussi chélater les catalyseurs des réactions d'oxydation tels que les ions métalliques ou bien réagir avec l'oxygène. ^[21]

Les piègeurs des ERO rentrent en compétition avec des radicaux déjà existants et contribuent à bloquer la phase de propagation. On différencie deux types de piégeage :

- le premier par libération d'un atome d'hydrogène, souvent par une structure aromatique (cas des dérivés du phénol : tocophérols, polyphénols, flavonoïdes...). ^[21]
- et le deuxième par libération d'un électron. ^[21]

La combinaison de ces antioxydants préventifs et piègeurs peut générer des effets synergiques. ^[21]

II.4.1.1.3 Sources d'antioxydants :

En plus des substances propres à l'organisme, l'alimentation, la synthèse et les plantes peuvent être également des sources d'antioxydants ^[21].

o Source alimentaire:

Certaines substances sont utilisées par l'organisme comme antioxydants. Ce sont principalement : la vitamine C, la vitamine E, le sélénium et le β carotène. ^[21]

✓ La vitamine C ou acide ascorbique :

C'est un puissant réducteur. Il joue un rôle important dans

La régénération de la vitamine E. Il est présent dans les légumes, le chou, le poivron, les agrumes. ^[21]

✓ La vitamine E ou tocophérol :

Prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxy. Elle est présente dans les huiles végétales, les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes. ^[21]

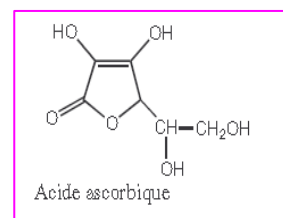


Fig.23: Structure de la vitamine C

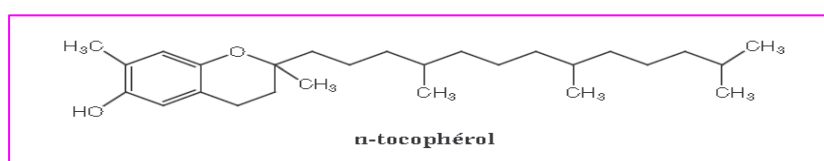


Fig.24 : Structure de la vitamine E

✓ Le sélénium :

C'est l'oligo-élément le plus «à la mode» pour ses propriétés antioxydants certaines. Il Neutralise les métaux toxiques (plomb, mercure) et il aurait aussi une action préventive sur certains cancers. ^[21]

✓ Le β -carotène

Outre l'activité pro vitaminique A, il possède la capacité de capter l'oxygène singulet. Il est retrouvé dans les légumes verts, les épinards, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, la papaye et d'autres fruits jaunes. ^[21]

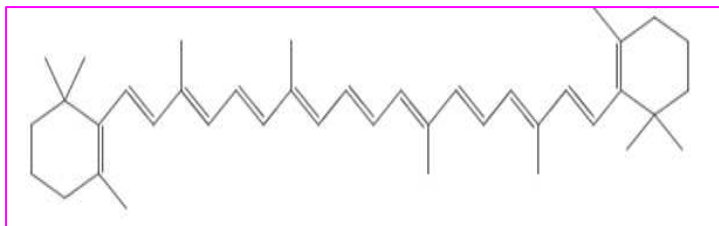


Fig.25 : Structure du β -carotène

○ **Molécules naturelles antioxydants :**

Les antioxydants d'origines naturelles sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures et sont en générale des composés phénoliques. Elles peuvent être groupées selon leur structure chimique. ^[21] On en cite:

- ✓ Les flavonoïdes.
- ✓ Les phénols.
- ✓ Les tanins.
- ✓ Les Xanthonnes.
- ✓ Les coumarines.

○ **Antioxydants synthétiques :**

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée. Il a été montré qu'ils

Pourraient être toxiques. En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomales. ^[21]

Ainsi, le besoin de réduire l'utilisation des antioxydants synthétiques (maintenant limitée dans plusieurs pays en raison de leurs possibles effets indésirables sur la santé humaine) impose d'orienter le marché vers des antioxydants d'origine naturelle et stimule la recherche dans ce domaine. ^[21]

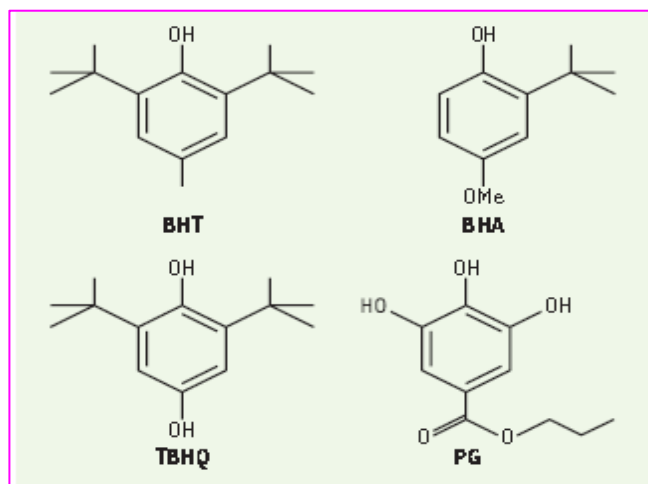


Fig.26: Antioxydants de synthèse les plus utilisés.

II.4.1.2 Le Stress oxydant :

Le stress oxydatif, appelé aussi stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydants de l'organisme. ^[15]

Cette perturbation peut avoir diverses origines, telle que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants comme la pollution, un contact avec le rayonnement gamma, ultraviolet ou même l'ozone, certains pesticides et solvants, métaux toxiques, consommation de tabac et d'alcool et aussi prise des médicaments. ^[15] Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer. ^[15]

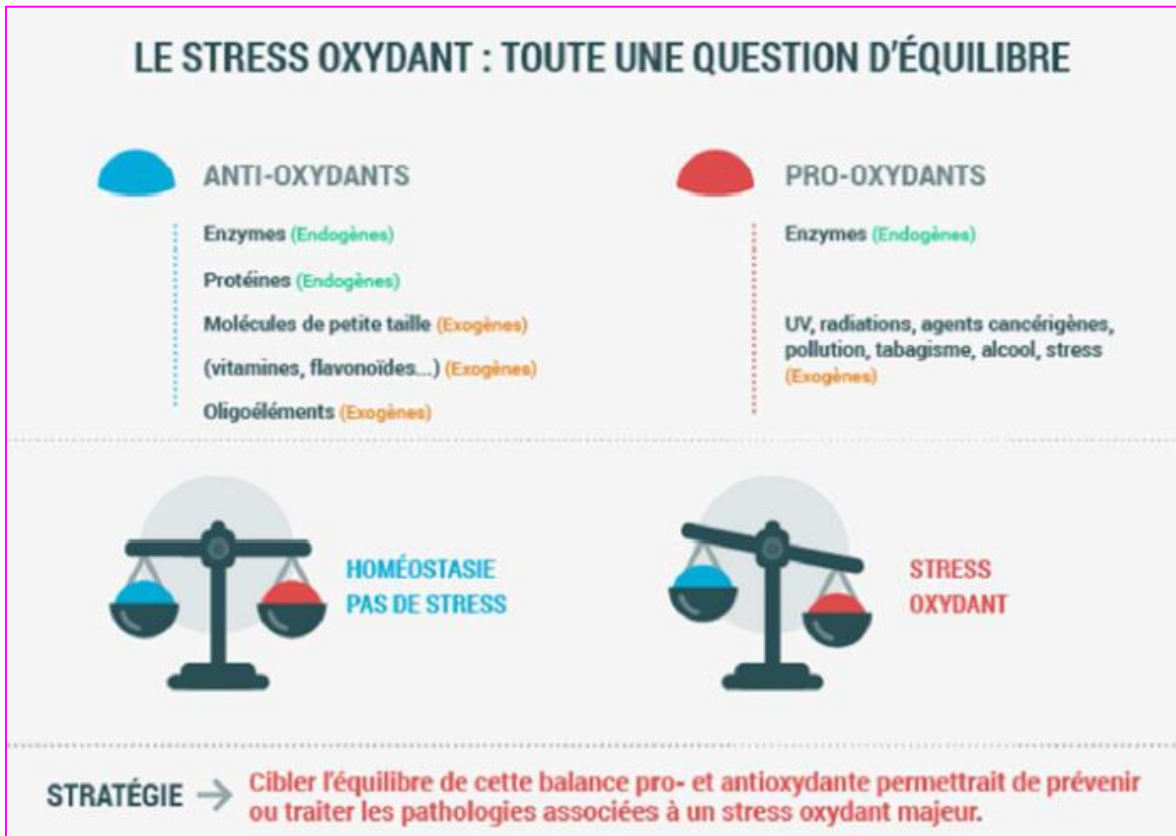


Fig.27: Stress oxydant.

II.4.1.3 Radicaux libres :

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, atomes ou molécules possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe et capables d'une vie indépendante.^[22]

Cette caractéristique les rend instables. Par conséquent ils peuvent soit capter un ou plusieurs électrons (agissant alors comme un oxydant) ou en céder (se comportant comme un réducteur) pour se stabiliser.^[22]

II.4.1.4 Espèces réactives :

Les espèces réactives oxygénées ERO, classe spécifique de radicaux, incluant les Radicaux libres comme le radical hydroxyle (OH[•]), les radicaux superoxydes (O₂[•]) et sa forme protonnée (HO₂[•]), le radical peroxydes (ROO[•]) ainsi que les espèces non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et l'oxygène (O₂), sont produites par divers mécanismes physiologiques à dose raisonnable.^[15]

Ces espèces réactives de l'oxygène doivent être neutralisées immédiatement par différents systèmes antioxydants. ^[15]

II.4.1.5 Origines des espèces réactives de l'oxygène :

Il existe deux sources différentes de ces radicaux libres :

✓ Production endogène

La chaîne respiratoire mitochondriale, dans laquelle les êtres aérobies puisent leur énergie, joue un rôle capital dans la cellule en couplant l'oxydation de coenzymes transporteurs d'hydrogène ou d'électrons avec la phosphorylation de l'ADP (Adénosine Di Phosphate) en ATP (Adénosine Triphosphate). Les conséquences de cette activité mitochondriale sont doubles et paradoxales. D'une part, la mitochondrie fournit à la cellule une source d'énergie importante puisque 36 molécules d'ATP à haut potentiel énergétique sont générées lors de la réduction de l'oxygène. Par contre, dans les conditions physiologiques, environ 0,4 à 4 % d'électrons s'échappent, réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme et donnent naissance à des ERO. ^[15]

✓ Formation par voie exogène

Les ERO peuvent également être générées par différents agents non enzymatiques comme les rayonnements UV induisant la synthèse de radicaux libres ($O_2\bullet$, $OH\bullet$) et des molécules génératrices de radicaux libres (H_2O_2) par l'intermédiaire d'agents photo sensibilisants, ainsi que les radiations ionisantes. L'ingestion d'alcool ou de médicaments est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes dont les structures peuvent jouer le rôle d'accepteurs et de donneurs d'électrons. ^[15]

II.4.1.6 Maladies liées aux stress oxydatif

De nombreuses anomalies pathologiques sont induites par le stress oxydant : baisse de la fluidité des membranes, diminution de la sensibilité à l'insuline, perturbation de l'immunité cellulaire, fibrose, dépôts de lipides oxydés, affaiblissement musculaire, lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides, malformation des fœtus, formation d'auto-anticorps et immunosuppression. ^[15]

En conséquence, le stress oxydant sera la cause initiale et essentielle de plusieurs maladies telles que le cancer, la cataracte, la sclérose latérale amyotrophique, le syndrome de

Détresse pulmonaire aiguë, l'œdème pulmonaire, le vieillissement accéléré, l'Alzheimer, parkinson, les infections intestinales, le rhumatisme et le diabète. ^[15]

II.4.2 Activité antibactérienne :

II.4.2.1 Définition :

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires, classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, et protozoaires). Elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bacteria. Ces dernières ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique. ^[15]

II.4.2.2 Les antibiotiques :

Ils sont définis par Turpin et Velu comme : « Tout composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimio-thérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose et d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des micro-organismes ou même de certaines cellules des êtres pluricellulaires ». Ils ont la capacité soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique). ^[15]

✓ Classification des antibiotiques

Il existe plusieurs classifications des antibiotiques, elles sont basées sur le spectre d'action, la cible, ou la famille chimique. Cette dernière est la plus fréquemment rencontrée. ^[15]

Les principales familles chimiques des antibiotiques sont illustrées dans le tableau suivant :

Antibiotiques à activité principalement bactéricides		antibiotiques à activité principalement bactériostatique	
Classe	Cibles bactérienne d'action	classe	Cibles bactérienne d'action
1*βétalactamine Ex : pénicilline Céphalosporine	Paroi '(peptidoglycane)	Phénicol Ex : chloramphénicol Thiophénicol	Ribosome
2*Aminosides Ex : streptomycine Gentamicine	Ribosome	2*Cylines Ex : tétracycline Doxycycline	Ribosome
3*polymyxines Ex : colimycine	Membrane cytoplasmique	3*Macrolides et apparentés Ex : érythromycine Pristinamycine	Ribosome
4*Rifamycines Ex : rifampicine	ARN polymérase	4*Sulfamides et apparentés Ex : cotrimoxazole	Synthèse des acides nucléiques
5*Quinolones Ex : A.nalidixique ciprofloxacine	ADN gyrase	5*Nitroimidazolés Ex : métronidazole	Acide nucléiques

Tableaux n=°10 : famille d'antibiotique.

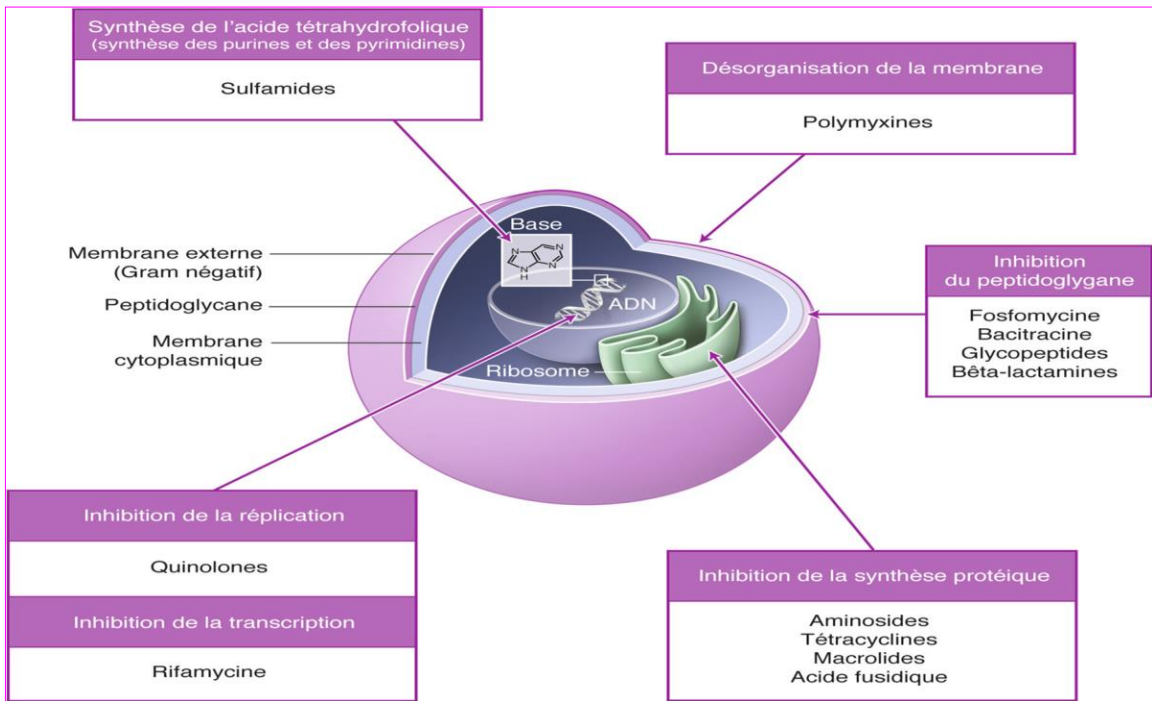


Fig.28: Mode d'action de chaque famille d'antibiotique sur bactérie

II.4.2.3 Activité antimicrobienne des extraits des plantes

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portée par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons et intégrons). Ces résistances ont conduits à chercher de nouveaux agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les drogues synthétiques, d'une part et bien accepté par l'organisme d'autre part (sans exercer des effets délétères sur la santé humaine).^[15]

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que fenel (*Foeniculum vulgare*), peppermint (*Mentha piperita*) et thym (*Thymus vulgaris*), ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus.

D'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industrie pharmaceutique, la médecine alternative et la thérapie naturelle.^[15]

A photograph of a Passiflora plant, likely a passion fruit vine, with lush green leaves and a single vibrant purple and white flower in bloom. The plant is shown in a dark pot against a light background. A white rectangular box is overlaid on the center of the image, containing the chapter title.

Chapitre III :
Partie Expérimentale

III.1 Introduction

Cette partie contient tous ce qu'on a pratiqués sur les fleurs de Passiflore (*Passiflora Caerulea*), les manipulations ont été effectués au sein de laboratoire de chimie organique de département de science de la matière, faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie à l'université de Mohamed Khider –Biskra et les laboratoires des phytochimie et microbiologies dans le centre de recherche scientifique et technique sur les régions arides « CRASTRA » –Biskra.



III.2 Préparation de matière végétale

III.2.2 Séchage et broyage :

L'identité de cette plante a été confirmée par la botaniste Dr. Salemkour Nora au laboratoire de botanique, centre de recherche CRSTRA Biskra. le séchage de cette plante a été effectué à l'air libre et l'abri de l'humidité ensuite broyé à l'aide d'un mortier.

La poudre (le broyat) obtenue sera utilisée pour calculé le taux d'humidité avec la matière sèche et les prochaines étapes de criblage phytochimique et de détermination des caractères phytochimiques de *Passiflora caerulea*.



Fig.33 : fleurs sèche de *Passiflora caerulea*



Fig.34 : *Passiflora caerulea* après broyage

III.2.3 Détermination du taux d'humidité et de la matière sèche :

Principe :

On procède à une dessiccation de l'échantillon à analyser dans une étuve isotherme aux températures de 100°C jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. ^[23]

La teneur en eau est égale à la perte de masse subie dans les conditions de mesures. ^[23]

Mode opératoire :

Peser 2g (mi) de poudre de passiflore en utilisant une boîte de pétri en verre bien séchée. Mettre la boîte de pétri qui contient l'échantillon dans une étuve réglée à 100 °C pendant 24H afin d'obtenir un poids constant.



Fig.35 : Dessiccation de l'échantillon

Expression des résultats :

La teneur en eau et pourcentage de matière sèche sont données par les formules suivante :

$$T\% = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100$$



$$MS\% = 100 - T\%$$

mi : poids de l'échantillon initiale « avant dessiccation » en g.

mf : poids finale de l'échantillon « après dessiccation » en g.

T% : Teneur en eau exprimé en pourcentage.

MS% : Pourcentage de matière sèche.

Si :

- ✓ **le taux d'humidité > 10:** la plante besoin de séchage pour la conserver.
- ✓ **le taux d'humidité ≤ 10 :** la plante ne besoin pas de séchage pour la conserver.

III.3 Criblage phytochimique

III.3.1 Introduction :

Cette étude qualitative ou cette analyse phytochimique est basée sur des tests de coloration et de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques réalisés sur les extraits des fleurs du *Passiflora caerulea* caractéristiques en vue de mettre en évidence les grands groupes chimiques.

Les différents groupes chimiques tels que : (les alcaloïdes, polyphénols, flavonoïdes, tanins, saponosides, terpènes...) ont été caractérisés selon les techniques décrites dans les travaux suivant. les résultats sont classés selon : Présence: + ; Absence: - .^[24]

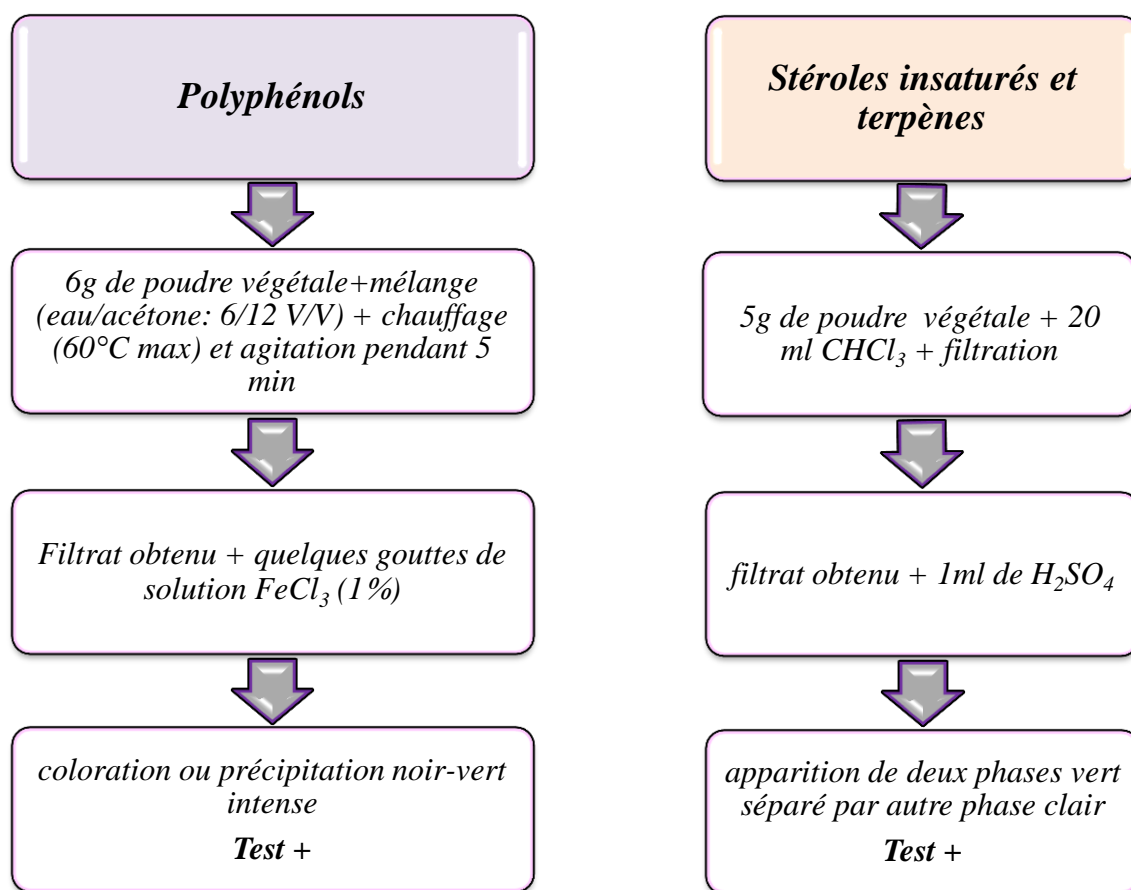


Fig.36 : Recherche des composés polyphénols, Stéroles insaturés et terpènes dans *Passiflora caerulea*.

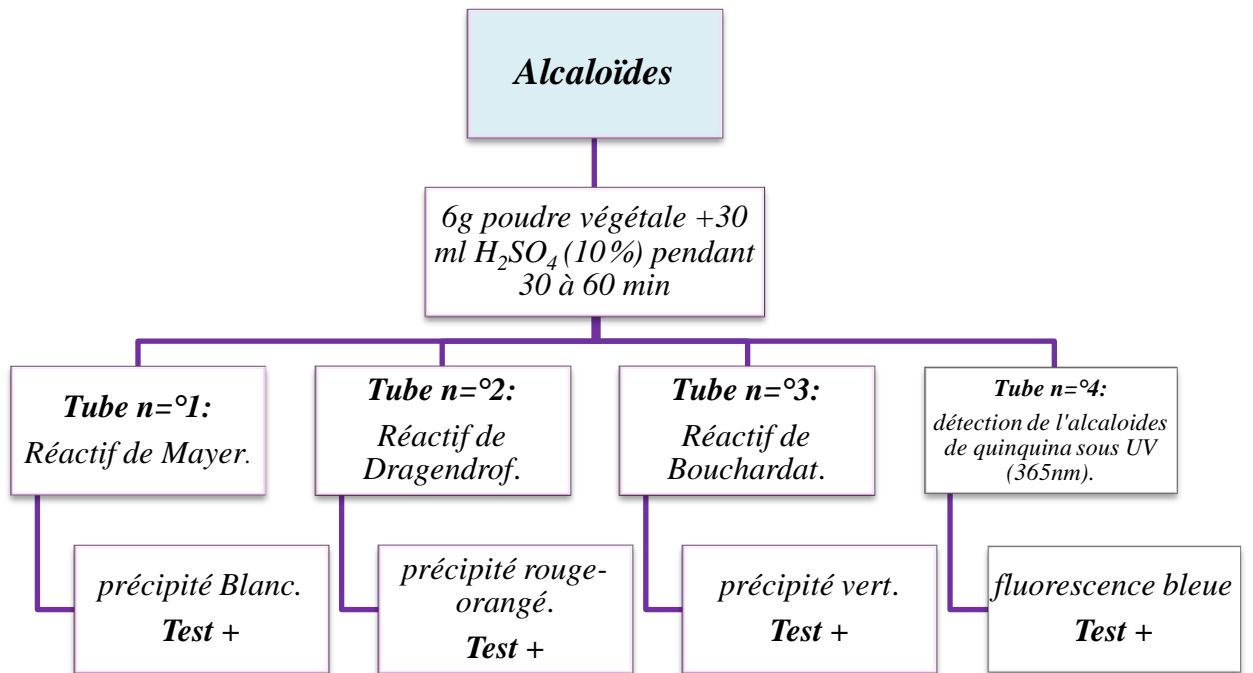


Fig.37 : Recherche des Alcaloïdes dans Passiflora caerulea

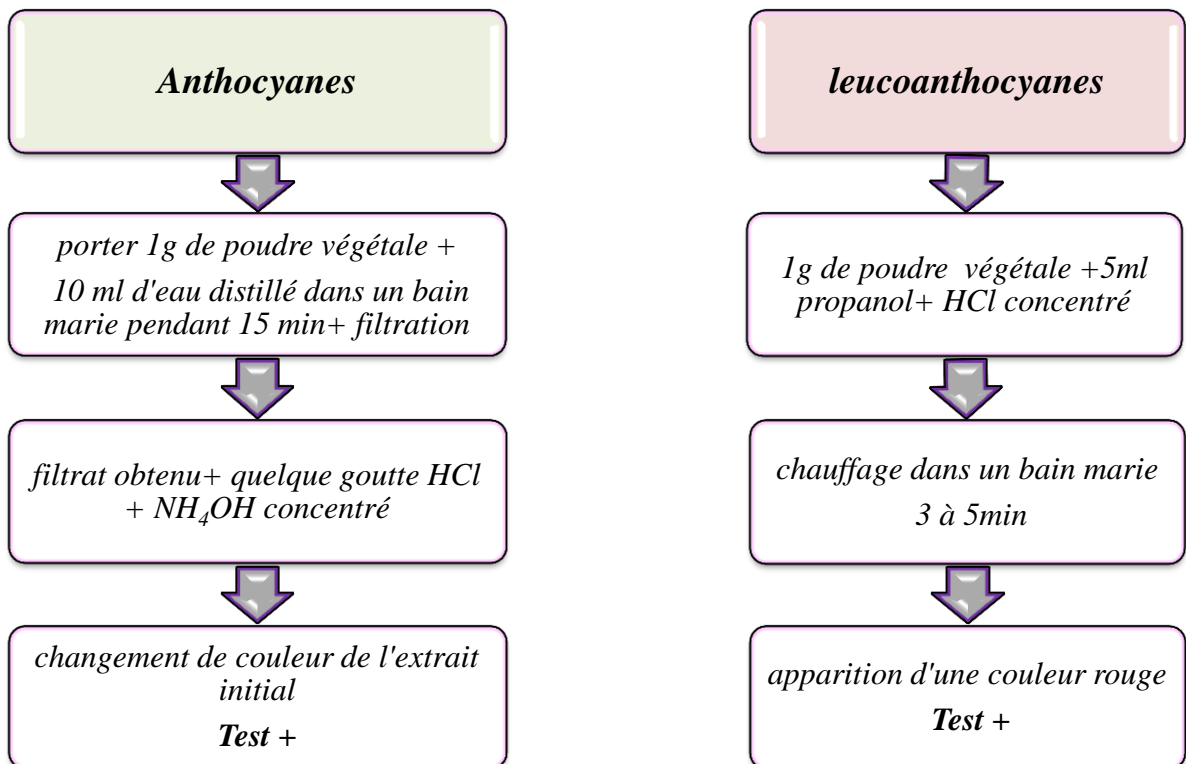


Fig.38 : Recherche des Anthocyanes et leucoanthocyanes dans Passiflora caerulea.

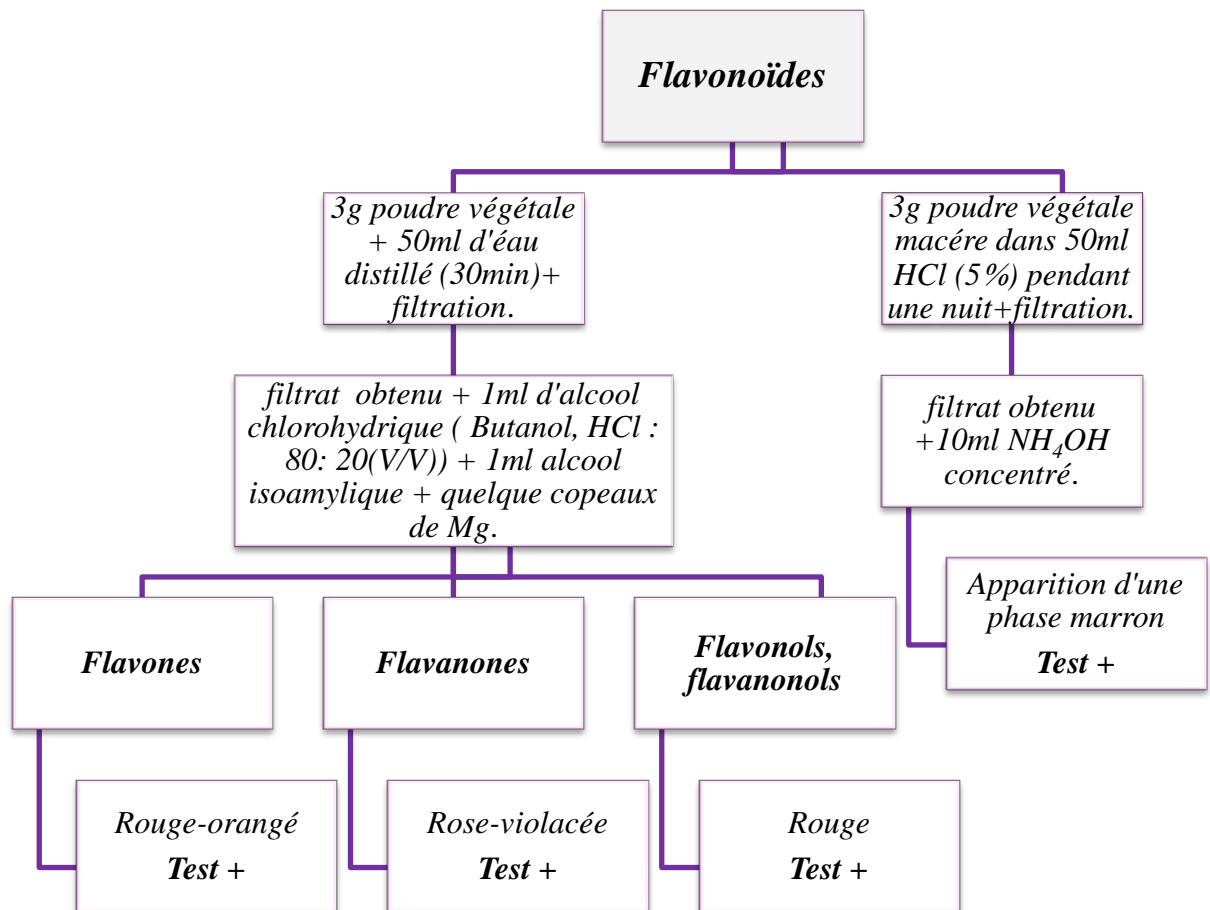


Fig.39 : Recherche des flavonoïdes dans *Passiflora caerulea*

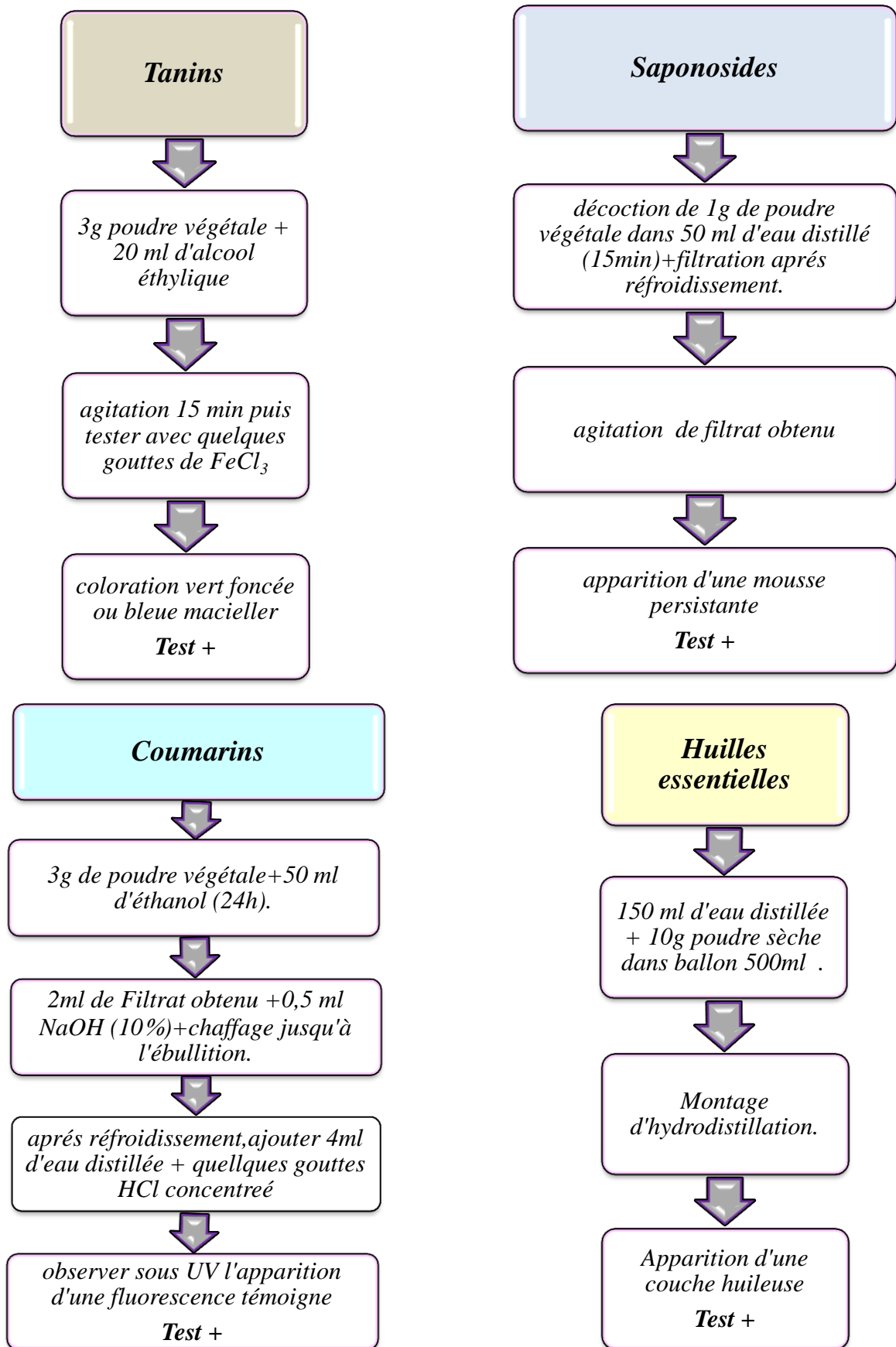


Fig.40 : Recherche des tanins, saponosides, Comarins, huiles essentielles dans Passiflora coerulea

III.4 Extraction des polyphénols

III.4.1 Méthode de macération :

Elle consiste à l'obtention des extraits hydro-alcooliques par macération à température ambiante

Principe :

La macération est un procédé qui consiste à laisser séjourner une plante dans un solvant à froid pour en extraire les composés solubles (arômes, principes actifs).

La macération peut se faire dans une solution alcoolique, de l'eau, de l'huile....

Cette technique préserve les espèces chimiques fragiles car elle est pratiquée à froid mais elle n'est pas toujours aussi efficace que les techniques qui utilisent un chauffage.

III.4.1.1 Extraction solide-liquide :

1. Introduire 50 g de la poudre végétale pesée précisément à l'aide d'une balance dans un récipient.
2. On ajoute 300 ml d'une solution aqueuse de méthanol (eau: méthanol : 30/70,V/V).
3. Laisse macérer à température ambiante pendant 24h.
4. Filtrer le contenu par une filtration sous vide à travers un papier filtre.
5. Récupérer le retentât et répéter la macération (24h) deux fois de plus.
6. Filtrer sous vide et garder l'extrait hydro-alcoolique jusqu'à son utilisation.
7. On passe à l'évaporation de méthanol à l'aide de rotavapor (BuchiR-215) pour réaliser l'étape de l'extraction liquide-liquide.



Fig.41 : 50g de poudre sèche de *Passiflora caerulea*



Fig.42 : méthanol + eau distillée

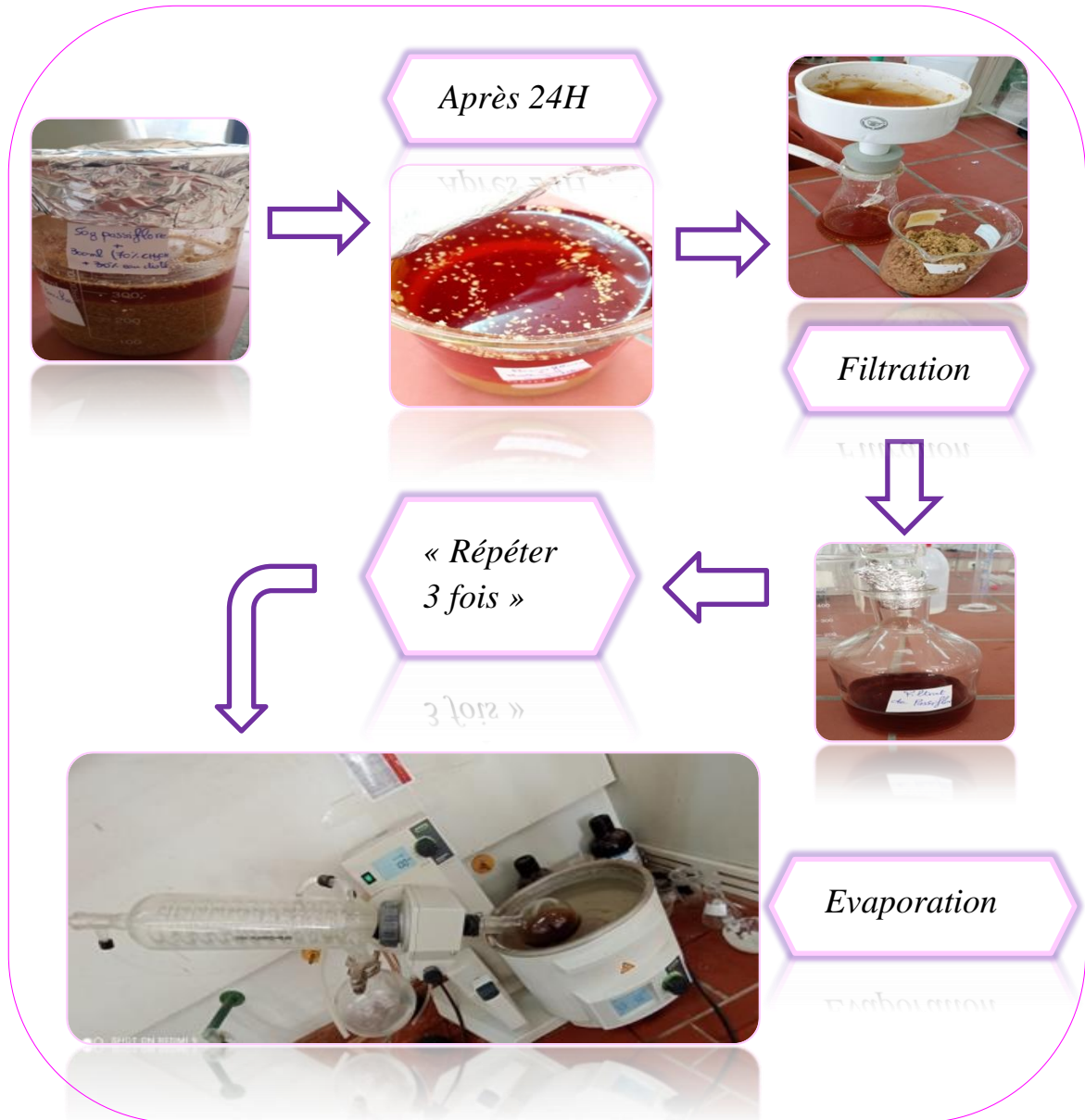


Fig.43 : Protocol d'extraction solide liquide par macération

III.4.1.2 Extraction liquide -liquide :

La phase aqueuse obtenue subit à une série d'extraction liquide-liquide en utilisant des solvants non miscibles à l'eau et de polarité croissante : n-hexane, acétate d'éthyle et butanol. les différentes phases récupérés lors de la décantation et son sécher par $MgSO_4$ pour éliminer les traces d'eau puis filtrée avec une simple filtration; les phases obtenues sont évaporées afin de récupérer les extraits sec.

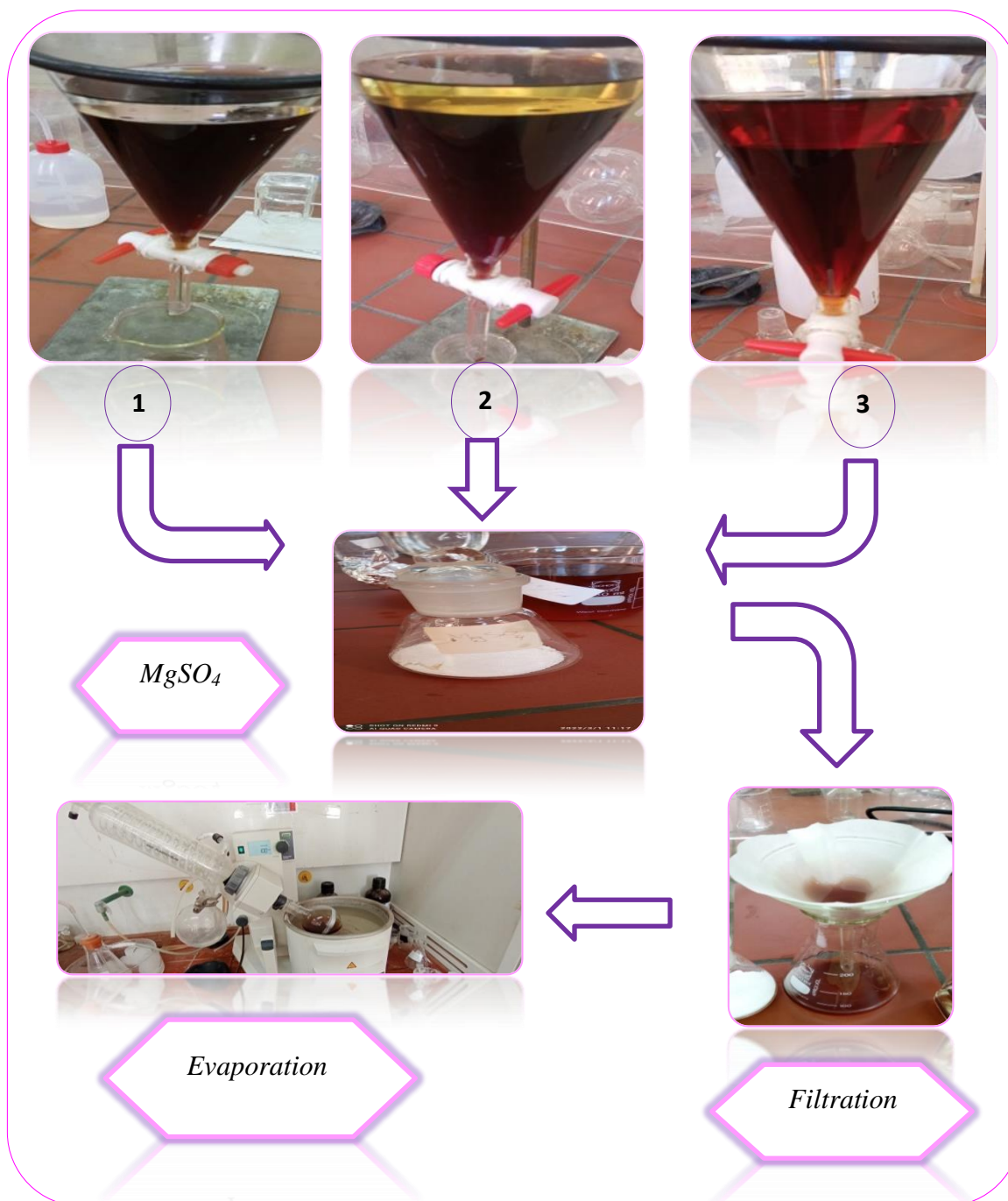


Fig.44 : Protocol d'extraction liq-liq de passiflore par trois solvant « (1) n-Hexane,(2) Acétate d'éthyle, (3) Butanol ».

III.4.2 Méthode de soxhlet :

Principe :

Le solvant d'extraction est porté à ébullition. les vapeurs du solvant traversent le soxhlet, sont condensées au niveau du réfrigérant et s'écoulent au travers de l'échantillon dans la cartouche. ce système de distillation-condensation assure au solvant une circulation en continu dans l'échantillon. un siphon permet au solvant de s'écouler de la cartouche pour retourner dans le ballon. le solvant peut donc recommencer un nouveau cycle d'évaporation-condensation.

Le principal avantage de cette méthode est que l'échantillon est continuellement extrait avec du solvant renouvelé. par ailleurs, un temps d'extraction long et un volume de solvant important sont nécessaires dans ce type d'extraction. ^[19]

Mode opératoire :

La poudre végétale de *Passiflora caerulea* a été extraite par quatre solvants successifs de polarités croissantes en faisant passer chaque solvant sur la même drogue végétale.

Les solvants utilisés sont : l'hexane, l'acétate d'éthyle, butanol, et l'eau qui considéré comme le solvant le plus polaire. 20g de poudre fine de *Passiflora caerulea* sont placés dans une cartouche en présence de 200 ml solvant. duré 24 heures au bout desquelles l'extrait est ainsi récupéré et conservé à l'obscurité.



Fig.45: Extraction successive par le système Soxhlet.

III.4.3 Rendement d'extraction :

Les rendements d'extraction obtenus par macération et soxhlet pour la passiflore ont été calculés selon la formule suivante :

$$R(\%) = (\text{masse de l'extrait} / \text{masse de la plante}) * 100$$

III.5 Technique de séparation

Pour connaître les compositions des différents extraits obtenus (hexane, acétate d'éthyle, butanol et aqueux) et vérifier s'il y a une différence d'efficacité entre deux méthodes d'extractions (Soxhlet 1; Macération 2), nous avons effectué une analyse par chromatographie sur couche mince CCM.

III.5.1 Chromatographie sur couche mince CCM :

Principe :

La chromatographie sur couche mince repose sur des phénomènes d'adsorption et la répartition des constituants dans ce cas est en fonction ^[25]:

- ✓ de la nature de la phase mobile.
- ✓ de la nature de la phase stationnaire.
- ✓ des propriétés physico-chimiques des constituants à séparer.

Mode opératoire :

La chromatographie sur couche mince effectuée sur plaque de gel de silice (couche d'absorbant SiO_2) étalé sur un support en aluminium, avec un système d'élution (Chloroforme/ Méthanol ; 70/30%) révèle la plaque sous la lumière UV (lampe UV 254 nm) puis par une solution acide (10% acide acétique + 10% acide sulfurique + 80% eau distillé) et chauffage.



Fig.46: CCM de passiflore + système d'élution

III.5.2 Analyse par CCM les extraits obtenus :

- Extrait hexanique :

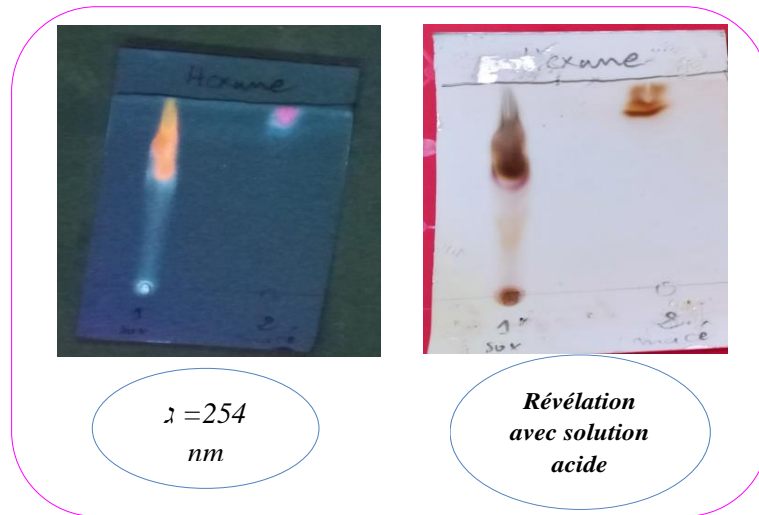


Fig.47: CCM d'extrait de passiflore par hexane

- Extrait d'acétate d'éthyle :

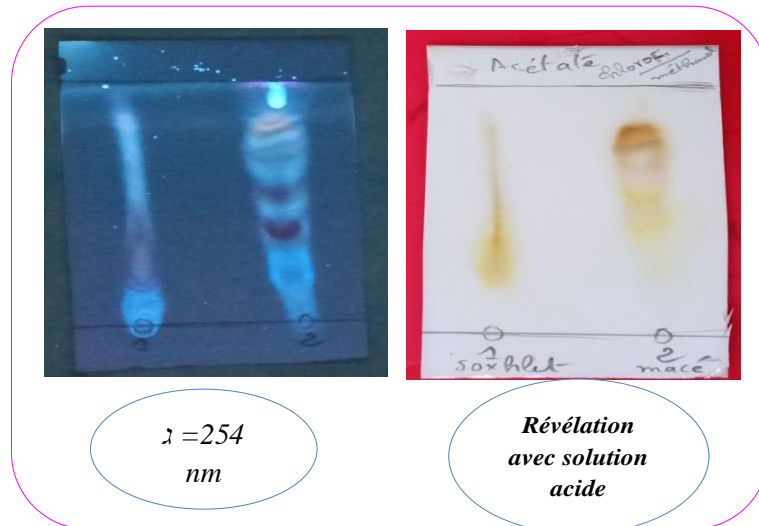


Fig.48 : CCM d'extrait de passiflore par acétate d'éthyle

- Extrait butanol :

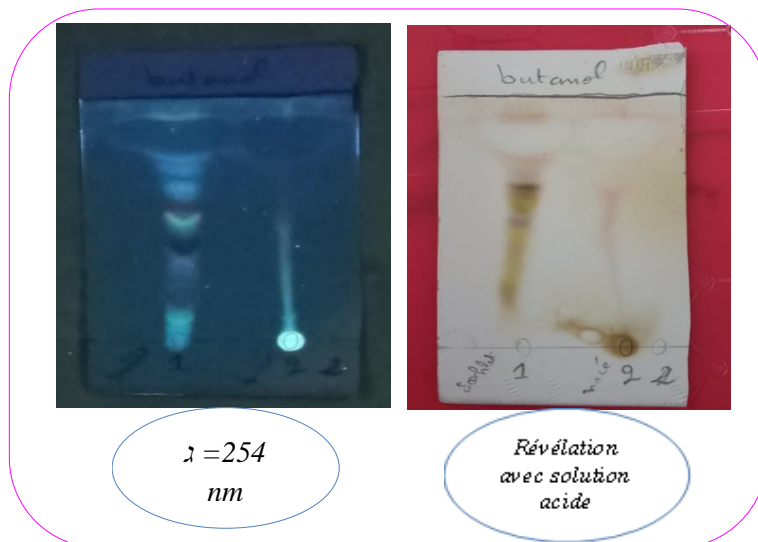


Fig.49 : CCM d'extrait de passiflore par butanol

- Extrait aqueux :

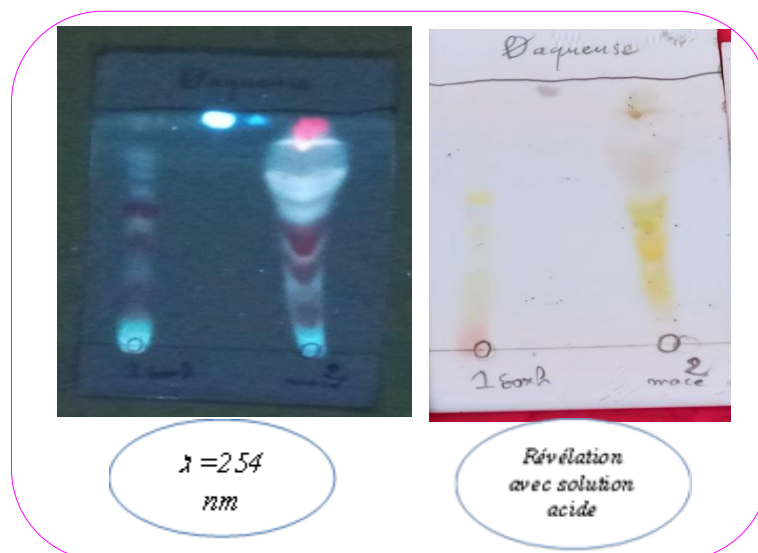


Fig.50 : CCM d'extrait de passiflore par eau distillée

III.6 Quantification des composés phénolique

Par dosage

III.6.1 Dosage des polyphénols totaux :

Principe :

Le dosage des phénols totaux est un test colorimétrique avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Son principe est basé sur la capacité de réduire ce réactif qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique en mélange d'oxyde bleue de tungstène et de molybdène lors de l'oxydation des phénols. ^[26]

Mode opératoire :

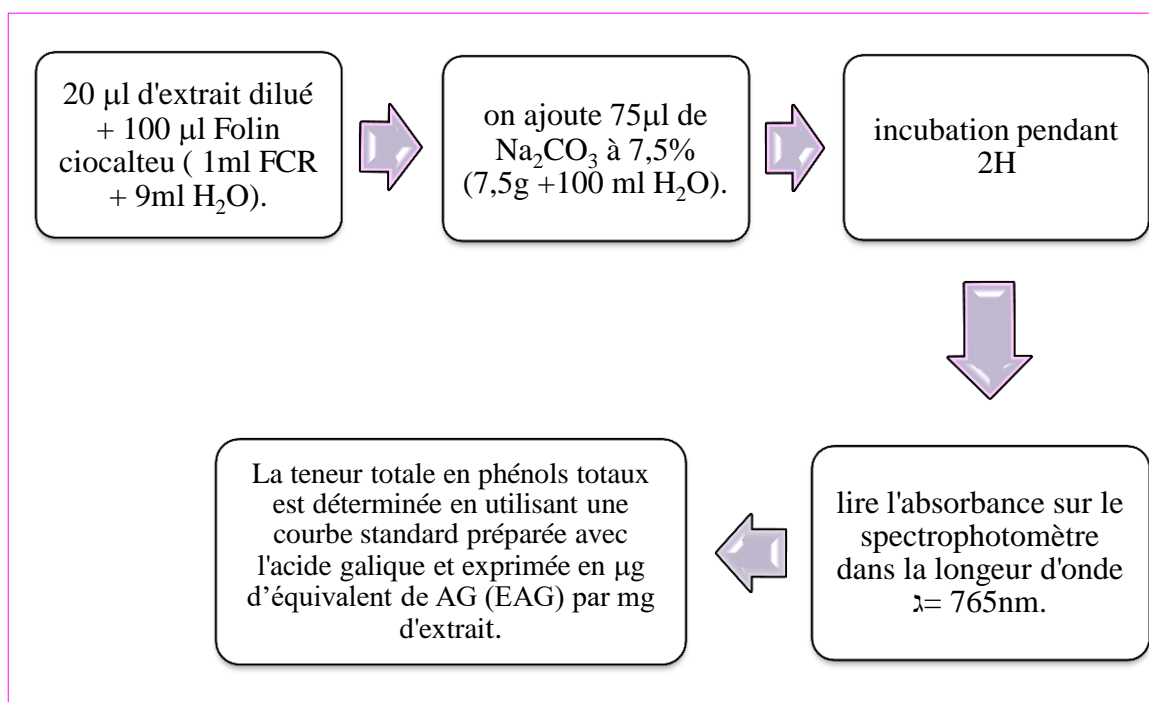


Fig.51 : Protocole de dosage des phénols totaux

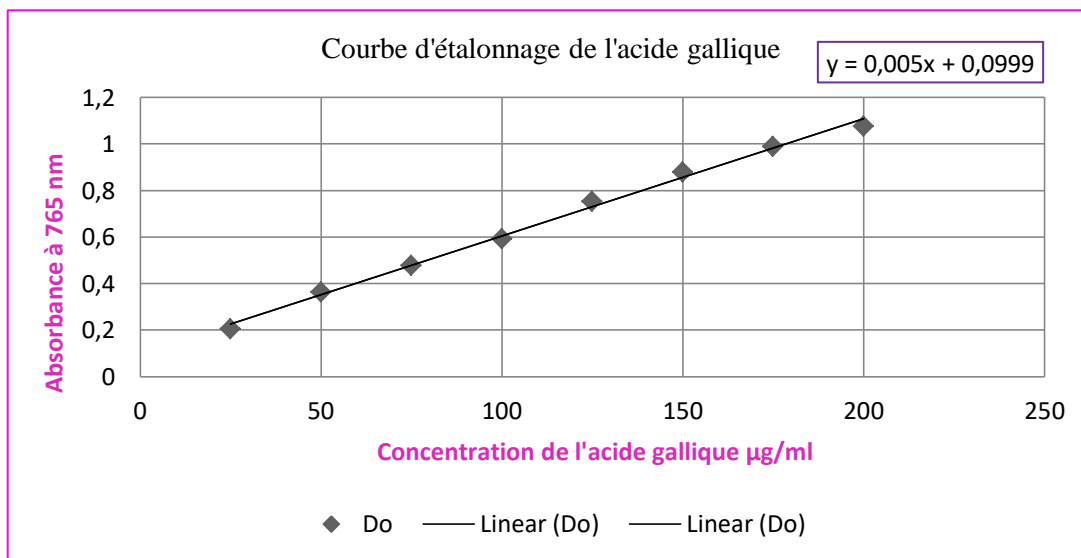


Fig.52: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique à 765 nm.

III.6.2 Dosage des flavonoïdes totaux :

Principe :

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par le trichlorure d'aluminium qui doit former un complexe jaune avec les flavonoïdes qui absorbe à 440 nm.

Mode opératoire :

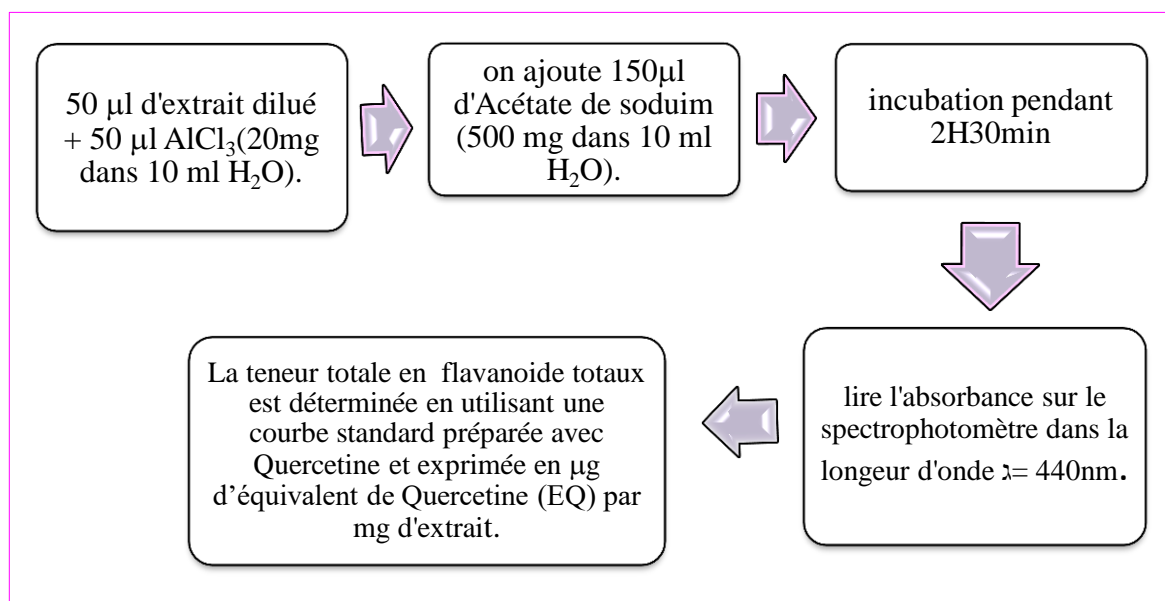


Fig.53 : Protocole de dosage des flavonoïdes totaux.

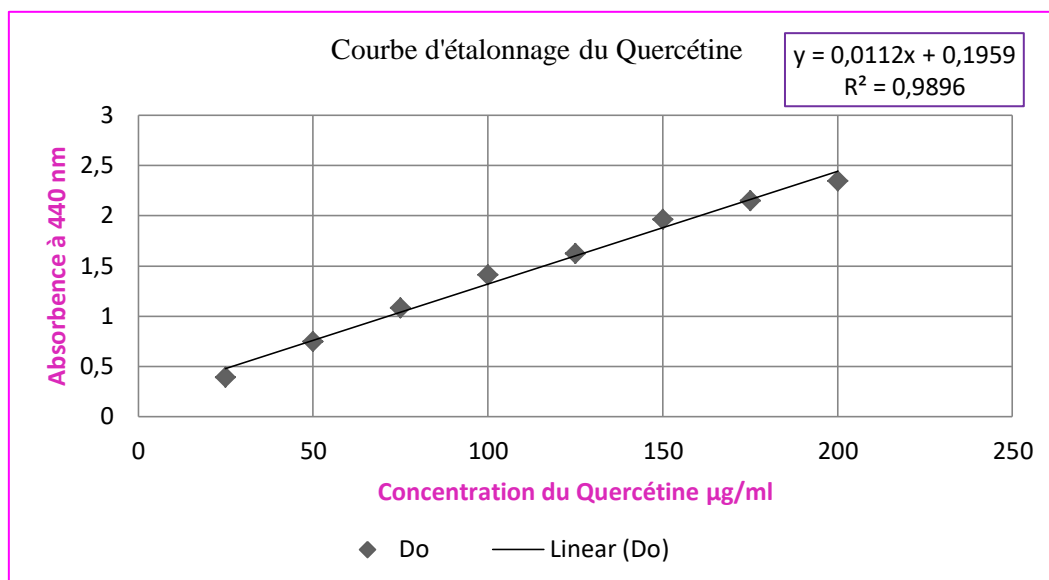


Fig.54 : Courbe d'étalonnage du quercétine à 440 nm.

III.6.3 Dosage des Tanins condensés:

Principe :

La teneur de tanins condensés a été effectuée dans HCl qui dépolymérise les tanins condensés par réaction avec la vanilline, mesurables par spectrophotométrie à 550nm.

Mode opératoire :

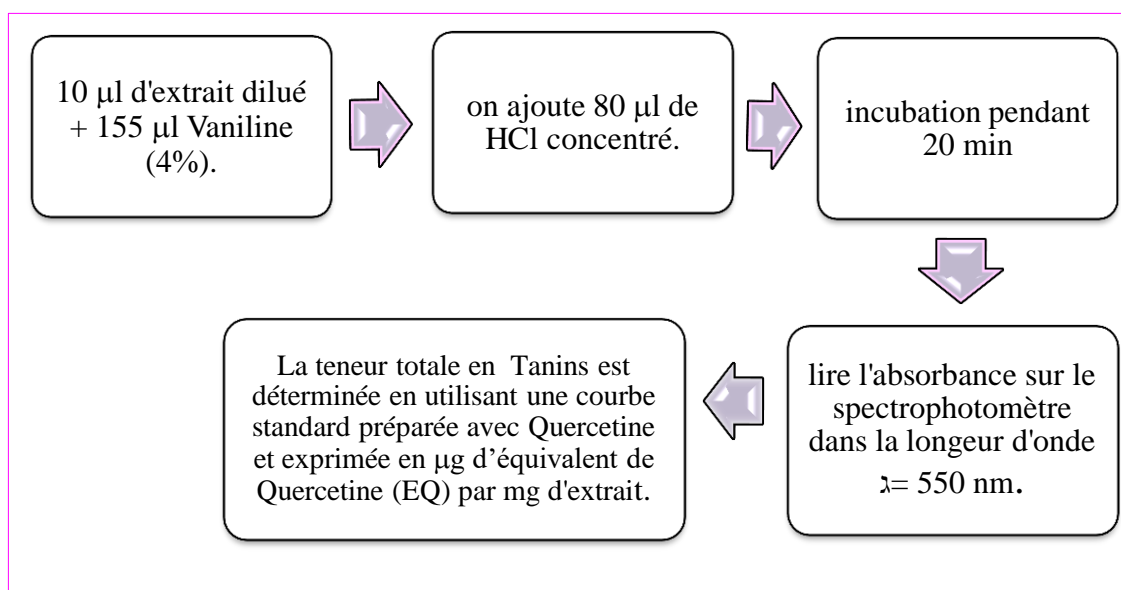


Fig.55 : Protocole de dosage des Tanins.

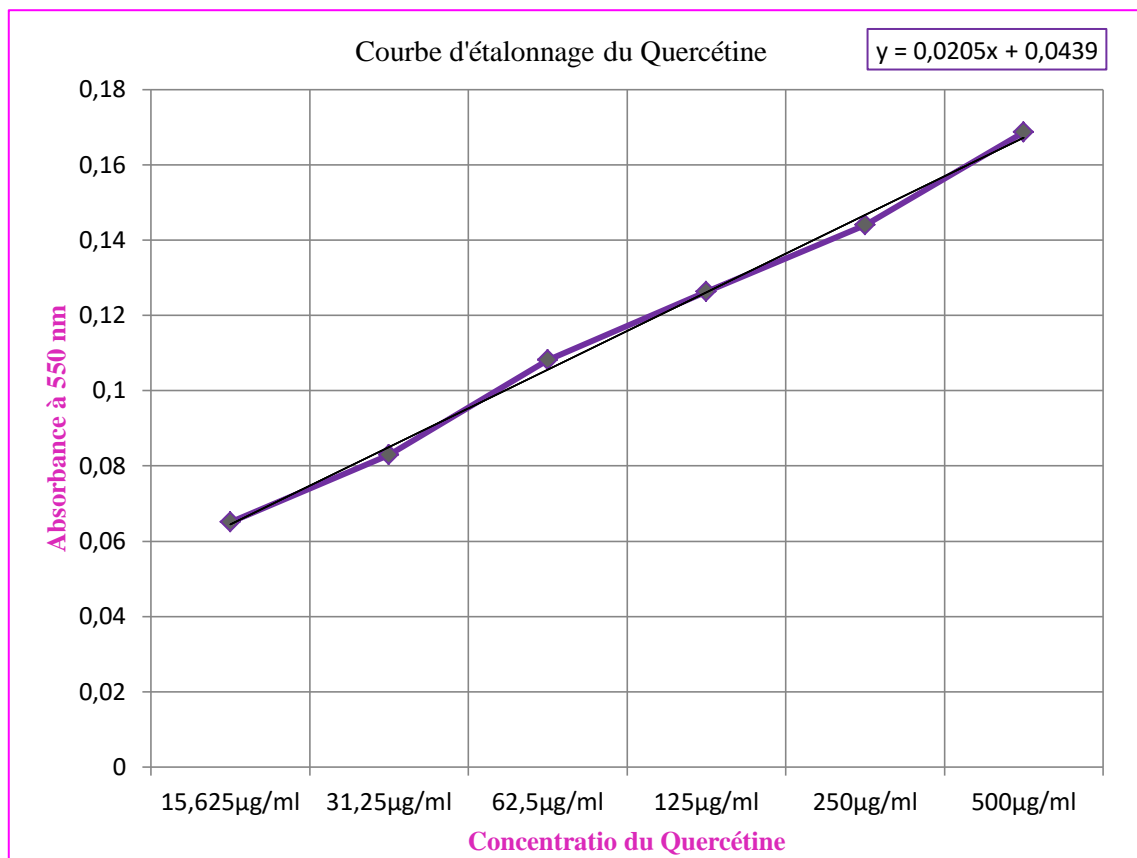


Fig.56 : Courbe d'étalonnage du quercétine à 550 nm.



Fig.57 :
Eppendorf
contient solution
mère.

Remarque : Dans tous les dosages on doit diluée les extraits à l'aide de micro pipette et les eppendorfs la solution mère et la solution fille [solution mère : (1mg extrait + 1 ml solvant) ; solution fille : (500 µl de solution mère + 500 µl solvant)]. solvant est le méthanol et pour la phase aqueuse on utilise eau distillée.

III.7 Tests in-vitro de l'activité biologique

III.7.1 Activité antioxydante totale :

Principe :

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante, est un radical stable qui absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 515 à 520 nm. la méthode au DPPH présente plusieurs avantages du fait qu'elle soit indépendante, simple et rapide. ^[18]

Protocole :

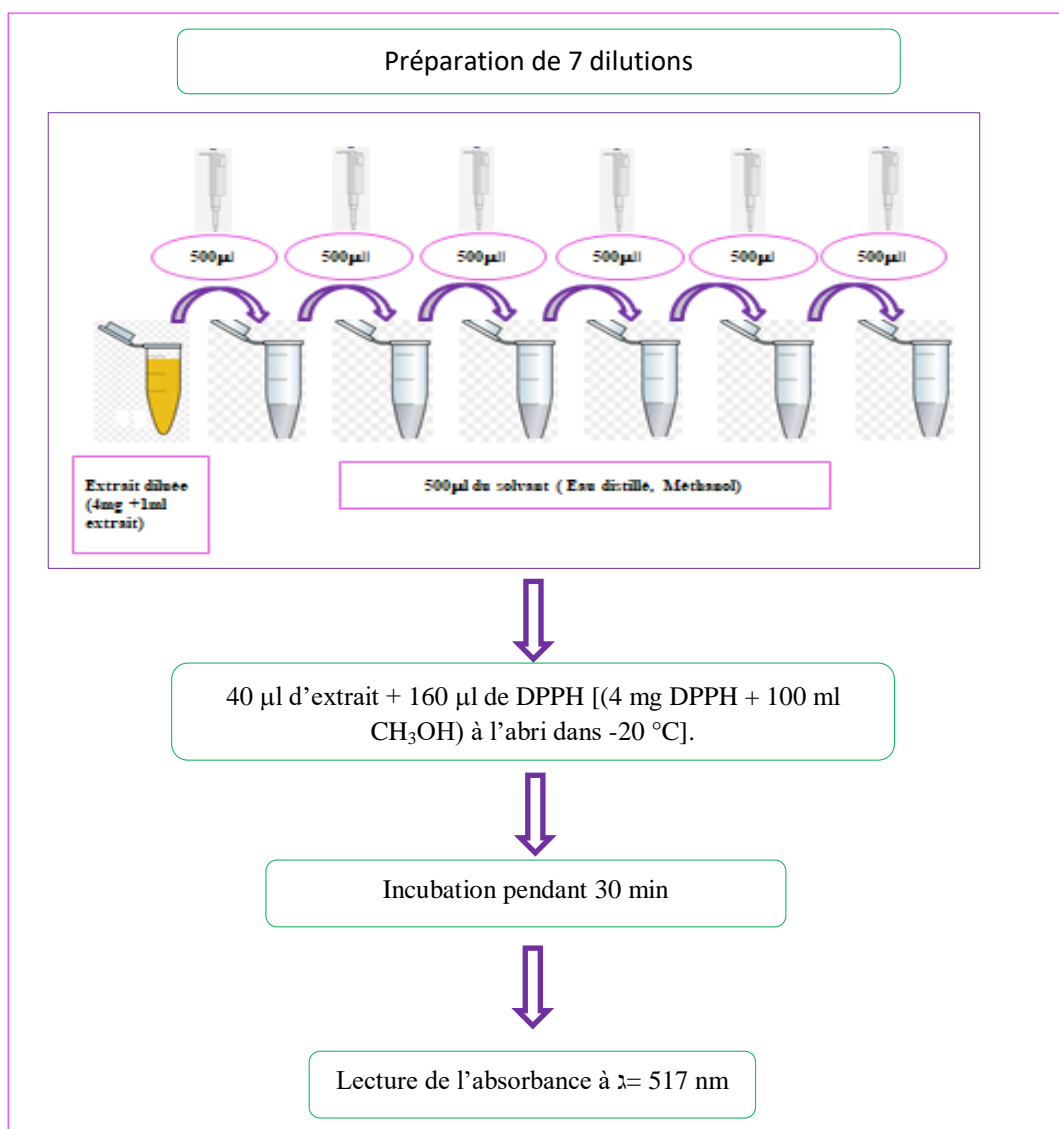


Fig.58 : Protocole de l'activité antioxydant.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés selon la formule suivante :

$$PI (\%) = [(DO \text{ témoin} - DO \text{ extrait}) / DO \text{ témoin}] * 100$$

PI : pourcentage d'inhibition.

DO témoin : absorbance de témoin négatif.

DO extrait : absorbance de la solution d'extrait.

L'étude de variation de l'activité antioxydante en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50 % d'inhibition (IC_{50}), une faible valeur de l' IC_{50} correspondant à une grande efficacité de l'extrait. ^[23]

III.7.2 Activité antibactérienne :

C'est une méthode de mesure in-vitro, du pouvoir antibactérien des composés. la technique utilisée est celle du contact direct qui compte deux méthodes, la méthode des puits et la méthode de diffusion. Nous avons adopté la dernière, qui est une vieille méthode. ^[15]



III.7.2 Technique de diffusion sur milieu gélosé (Antibiogramme) :

Le principe de cette méthode, consiste à mesurer le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance microbienne autour d'une source d'antibiotique déposée à la surface de la gélose. la sensibilité des souches aux extraits de la plante a été réalisée par la technique, in vitro, de diffusion en milieu gélosé, ou méthode des disques ^[27]. on aperçoit les substances diffuses dans la gélose avec une forme circulaire. après 18-24 heures, les disques apparaissent.

a- Microorganisme :

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude : *Listeria monocytogenes* (Gram+), *Bacillus* (Gram+), *Escherichia coli* (*E. coli*) (Gram-), *Klebsiella pneumoniae* (Gram-), *Listeria monocytogenes* (Gram+); *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-), *Staphylococcus faecalis* (Gram+) ; toutes les souches sont obtenues au laboratoire de bactériologie du centre de recherche scientifique et technique sur les régions arides (CRSTRA), Biskra (Algérie) et laboratoire ouamane Biskra.

b- Préparation des extraits :

Dans les eppendorfs dissous les extraits des fleurs de *P. caerulea* par 1ml de **DMSO** « Diméthyle sulfoxyde » qu'il n'a aucun pouvoir antibactérien puissant ^[15] puis agiter le bien à l'aide de vortex jusqu'à la dissolution totale ou maximale des extraits dans le solvant.

Avec un seringue, micro filtre 0,20 μm et eppendorf les deux stériles dans l'autoclave pendant 1h :30 min on doit faire une microfiltration pour chaque extrait diluée pour obtenir des extraits bien stériles.



Fig.59 : Agitation par vortex.



Fig.60 : Eppendorf contient extrait stérile.

c- Repiquage:

Des boîtes pétri stériles coulées avec milieu gélose nutritif « Mueller Hinton » **MH** (environ 40 mm dans chaque boîte jusqu'à la solidification) sontensemencées par étalage à l'aide d'une micropipette stérile par une flamme bleu, l'ensemencement s'effectué de telle sorte à assurer une distribution totale des bactéries.

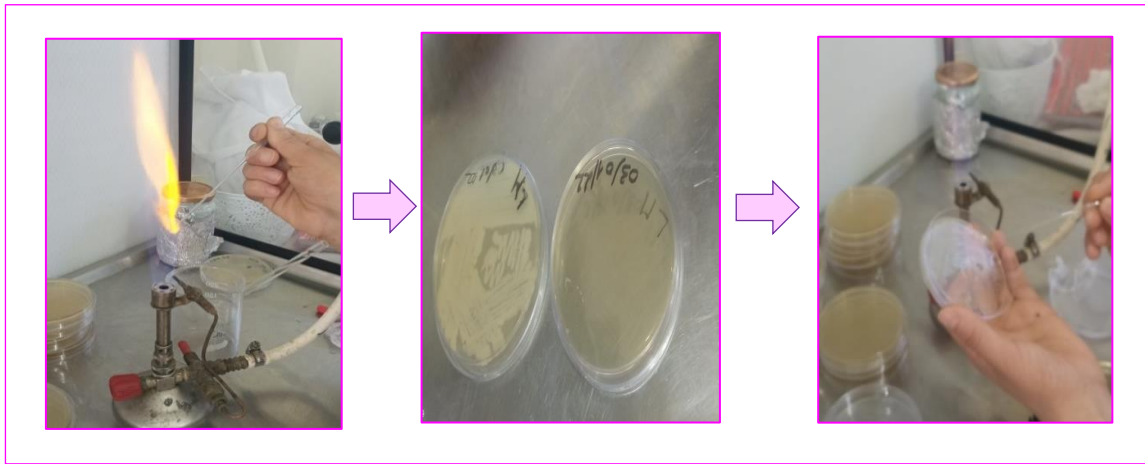


Fig.61 : Repiquage des espèces bactériennes.

d- Préparation de l'inoculum :

Pour préparer l'inoculum, on racle 4 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques à partir d'une culture de 18h, sur le milieu d'isolement puis déchargées dans de 5ml l'eau physiologique stérile. la suspension bactérienne est ensuite homogénéisée à l'aide d'un vortex. ^[28]

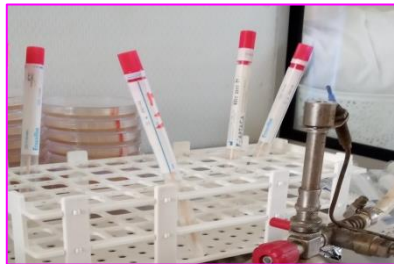


Fig.62 : Des écouvillons continents les suspensions bactériennes

e-ensemencement :

Des boîtes de pétri stériles, préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'un râteau stérile. l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries. [29]

f-Préparation des disques :

Dans cette étude, on a utilisé le papier Wattman N°3 ou papier filtre, coupé en disques de 6mm. ces disques doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer. ces derniers, une fois préparés, sont placés dans une boîte de pétri (en verre) contenant 10 ml d'eau distillée et auto clavés pendant 20 mn à 120 °C [30].

A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre, contenant les extraits à tester sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable aussi déposés la gentamicine servi de témoins positif et un disque **DMSO** « Diméthyle sulfoxyde » de témoins négatif.

L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 37° C [30].



Fig.63 : Application des disques.

g-Lecture :

La lecture s'effectue en mesurant sur chaque disque le diamètre d'inhibition du principe actif. cette distance millimétrique est ensuite reporté sur l'échelle de concordance afin que la souche soit interprété sensible, intermédiaire ou résistante vis-à-vis des extraits étudié [31].

La sensibilité des différentes souches est classée selon le diamètre d'inhibition et selon les critères suivants ^[32-33].

✓ Non sensible (-) pour diamètre < 8 mm ; sensible (+) pour 8-14 mm; très sensible (++) pour 15-19 mm et extrêmement sensible (+++) pour diamètre >20 mm.

L'extrait est considéré comme bactéricide si aucune colonie n'est observée dans la zone d'inhibition. par contre, il est dit bactériostatique quand quelques colonies sont présentes, même en densité faible. ^[15]

III.7.3 Analyse statistique :

Tous les tests ont été effectués 3 fois, les résultats de l'activité biologique ont faits l'objet d'une analyse de variance (**ANOVA**) accompagnée de test de comparaison des moyenne Fisher **LSD** de logiciel **XLSTAT 2009**.

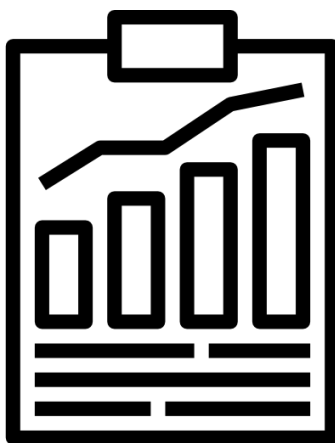
A photograph of a Passiflora vine (Passionflower) growing on a wooden fence. The vine has large green leaves and several flowers with white petals and a prominent purple and white center. The background shows a white picket fence and a green hedge.

Chapitre IV :
Résultats et Discussions

IV.1 Introduction

L'objectif de ce travail est l'étude des teneurs en composés phénoliques, ainsi que le pouvoir antibactérien et antioxydant in vitro des extraits des fleurs de *Passiflora caerulea*.

Cette partie comprend tous les résultats de ces activités plus les résultats obtenu lors de notre travail personnel :(le taux d'humidité ; les rendements d'extractions selon deux méthodes « macération et soxhlet » ; l'identification « CCM » et quantification des polyphénols et flavonoïdes et tanins dans les extraits).



IV .2 Détermination de la matière sèche et le taux d'humidité

Les plantes sont riches en eau donc c'est éventuelle de savoir la teneur en eau de la plante après séchage la connaissance de cette teneur est nécessaire pour un bon conditionnement de celui-ci.

- A partir de dessiccation de la poudre végétale de passiflore caerulea dans étuve isotherme a la température de 100°C on trouve : « $m_i = 2,00 \text{ g}$; $m_f = 1,80 \text{ g}$ ».

IV .2.1 les calculs :

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = \text{T\%} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 = \frac{2 - 1,8}{2} \times 100 = 10\%$$

$$\text{Matière sèche (\%)} = \text{MS\%} = 100 - \text{T\%} = 100 - 10 = 90\%$$

- ✓ Selon les résultats exprimés dans les calculs on trouve que taux d'humidité égale à 10% donc ne dépasse pas les normes décrites par la pharmacopée européenne.
- ✓ Cela signifie que notre drogue végétale confère une meilleur conservation, toute on évite leur contamination par des réactions enzymatiques.

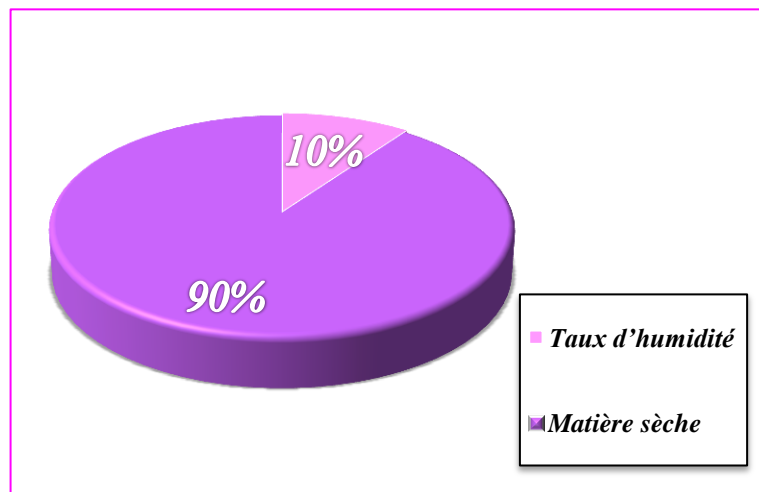







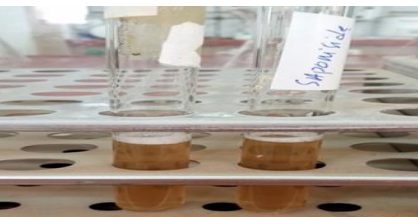
Fig.63 : Détermination de la matière sèche et le taux d'humidité






IV .3 screening phytochimique

Le screening ou criblage phytochimique permet de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans la plante, par des tests spécifiques effectués sur les drogues végétales. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des différents métabolites secondaires, ces tests sont classés : négatif (-) ou positif (+).

Le tableau ci-dessous (n°11) regroupe les résultats obtenus au terme des tests préliminaires pour ce criblage phytochimique, réalisés sur les fleurs de *Passiflora caerulea* qui révèlent la présence d'un groupe important des métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes,.....) et l'absence des saponosides et des coumarines.

- ✓ Nos résultats sont en bon accord avec les travaux phytochimiques qui ont été réalisés précédemment dans d'autres études sur ce genre de passiflore.

Type de test	Résultat de Test		Coloration	
	Test (+)	Test (-)	Photo	Observation
flavonoïdes	X			Apparition d'une phase marron sur le dessus
	X			"Coloration rouge-orangé Donc Flavones"
polyphénols	X			Coloration noir-vert
coumarines		X		aucun fluorescence
Tanins	X			Coloration vert foncée
Saponosides		X		"Coloration orange"


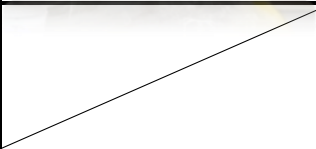


Type de test	Résultat de Test		Coloration	
	Test (+)	Test (-)	Photo	Observation
Anthocyanes	X			Changement de la couleur avec apparition de deux phase l'une vert et l'autre rose
Leuco anthocyanes	X			"Coloration orange"
Huiles essentielles	X			Apparition d'une couche huileuse
Stérols et Terpènes	X			Apparition de deux phases vert séparé par phase vert clair
Alcaloïdes	X			tube1 : précipité blanc
	X			tube2 : précipité orange
	X			tube3 : précipité vert
		X		tube4 : Aucun fluorescence

Tableaux n°11 : Résultats de criblage phytochimique du Passiflora caerulea.

IV .4 Rendement des extractions

Les extraits préparés de *Passiflora caerulea* par différentes méthodes d'extraction et différents solvants (hexane, acétate d'éthyle, butanol), extrait aqueux qui sont présentés ainsi de suite :





IV .4.1 Macération :

<i>Extrait</i>	<i>Image</i>	<i>Aspect</i>	<i>Couleur</i>	<i>Rendement</i>
<i>n-Hexane</i>		traces sur les parois	Jaune canari	0,24%
<i>Acétate d'éthyle</i>		Traces sur les parois	jaune pastel	0,06%
<i>n-Butanol</i>		Liquide visqueux trouble	marron clair	16,9%
<i>Aqueux</i>		Liquide visqueux	noir	9,66%

Tableaux n=°12 : Résultats d'extraction par macération

✓ Les résultats obtenus montrent que parmi tous les extraits obtenus, l'extrait butanolique possède le rendement le plus élevé (16,9 %) suivi par l'extrait aqueux avec (9,66%) puis les deux extraits l'hexane et l'acétate d'éthyle (0,24 % ; 0,06 %) respectivement.

IV .4.2 Soxhlet :

<i>Extrait</i>	<i>Image</i>	<i>Aspect</i>	<i>Couleur</i>	<i>Rendement</i>
<i>n-Hexane</i>		traces grasses	jaune foncée	2,1%
<i>Acétate d'éthyle</i>		Liquide visqueux	brun citrouille	2,2 %
<i>n-Butanol</i>		visqueux	noir	44,6%
<i>Aqueux</i>		Liquide visqueux	rouge brique noircie	19,5%

Tableaux n=°13 : Résultats d'extraction par soxhlet.

- ✓ De même pour la méthode de la macération à température ambiante, le rendement le plus élevé a été obtenu par le butanol (44,6%) suivi par l'extrait aqueux (19,5%). Tous ces résultats sont illustrés sur la fig.64.

IV.4.3 Comparaison entre les rendements des deux méthodes:

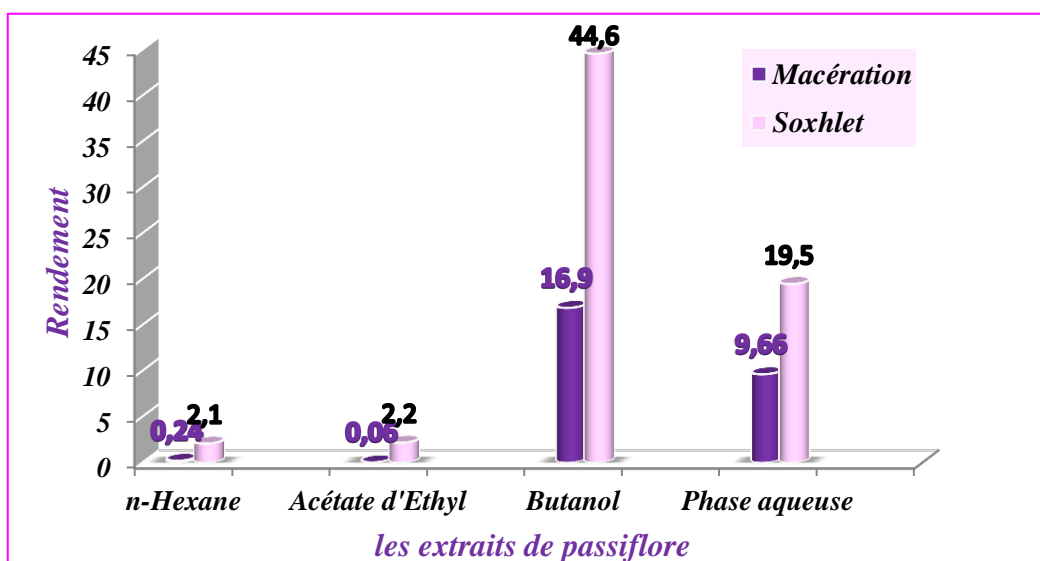


Fig.64 : Rendement de deux méthodes (soxhlet, macération).

- ✓ L'utilisation des solvants à polarités croissantes permet de séparer les composés de l'extrait brut selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction. alors, le degré de solubilité de la *Passiflora caerulea* prouve que le butanol est le plus efficace pour extraire des composés phénoliques, avec (44,6%) soxhlet et (16,9%) macération ; suivie par l'extrait aqueux avec les pourcentages de (19,5%) soxhlet et (9,66%) macération.
- ✓ D'après ces résultats, on observe que le rendement de la méthode soxhlet est presque plus de 10 pourcent que le rendement de macération, l'extrait aqueux [soxhlet (19,5%), macération (9,66%)].
- ✓ Ces résultats montrent aussi que l'extraction par un appareil soxhlet est la méthode la plus efficace à cause de la répétitions infiniment de cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première, d'où vient son efficacité et son rendement élevé.

IV .5 Analyse par CCM des différents extraits obtenus

Les profils des CCM des extraits des fleurs de *P.caerulea* obtenus avec les méthodes d'extractions « Soxhlet et Macération » dans les quatre solvants « hexane, acétate d'éthyle, butanol et eau distillée » par système d'élution (Chloroforme/ Méthanol;70/30%), montre une richesse en polyphénols de type flavonoïdes.

Les résultats des chromatogrammes obtenus sont présentés dans le tableau n=° 14.

<i>Extrait</i>	<i>Méthode</i>	<i>Couleurs des taches</i>		<i>Identification</i>
		<i>sur UV</i>	<i>révélateur</i>	
<i>Hexane</i>	<i>Soxhlet</i>	<i>Orange</i>	<i>brun noir</i>	<i>Caroténoïdes</i> <i>Lipides</i>
	<i>Macération</i>	<i>rose</i>	<i>orange</i>	<i>Caroténoïdes</i>
<i>Acétate d'éthyle</i>	<i>Soxhlet</i>	<i>Bleu clair fluorescent</i>	<i>Jaune pale</i>	<i>Flavones sans 5-OH libre ; Flavonols sans 5-OH libres avec 3-OH substitué</i>
		<i>Violet</i>	<i>Jaune orangée</i>	<i>Flavonols 3-OH libre avec ou sans 5-OH substitué</i>
	<i>Macération</i>	<i>Bleu clair fluorescent</i>	<i>Jaune pale</i>	<i>Flavones sans 5-OH libre ; Flavonols sans 5-OH libres avec 3-OH substitué</i>
		<i>rouge</i>	<i>violet</i>	<i>Anthocyanes</i>
<i>Butanol</i>	<i>soxhlet</i>	<i>bleu vert</i>	<i>brun</i>	<i>Flavonoïdes 3-OH absent ou 3-OH substitué</i>
		<i>noir</i>	<i>violet</i>	<i>Flavones ou flavonols 5-OH avec 4'-OH absent ou substitué en 3 ; Chalcones, isoflavones, Dihydroflavonols, flavonones.</i>

		<i>rouge</i>	<i>rouge noir</i>	<i>Flavonols 5, 6,7 tri –OH libres ; Flavonols 5, 7, 8 tri –OH libres.</i>
		<i>Bleu clair fluorescent</i>	<i>rouge clair</i>	<i>Flavones sans 5-OH libre ; Flavonols sans 5-OH libres avec 3-OH substitué</i>
	Macération	<i>bleu vert</i>	<i>brun</i>	<i>Flavonoïdes 3-OH absent ou 3-OH substitué</i>
aqueux	soxhlet	<i>rouge</i>	<i>jaune</i>	<i>Flavonoïdes 5-OH libre ou 5-OH substituée</i>
		<i>bleu vert</i>	<i>rouge</i>	<i>Flavones sans 5-OH libre</i>
		<i>violet</i>	<i>jaune vert</i>	<i>Flavonoïdes 5-OH libre ou 5-OH substitué</i>
		<i>brun</i>	<i>jaune</i>	<i>Flavonols 3-OH libre avec ou sans 5- OH substitué</i>
	Macération	<i>rose</i>	<i>marron</i>	<i>Glucosides</i>
		<i>bleu clair fluorescent</i>	<i>rouge clair</i>	<i>Flavones sans 5-OH libre ; Flavonols sans 5-OH libres avec 3-OH substitué</i>
		<i>rouge</i>	<i>jaune</i>	<i>Flavonoïdes 5-OH libre ou 5-OH substituée</i>
		<i>bleu vert</i>	<i>jaune foncée</i>	<i>Flavones sans 5-OH libre</i>

Tableaux n=°14 : Identification des polyphénols par CCM.

IV .6 Analyse quantitative des polyphénols - flavonoïdes - tanins

IV .6.1 Dosage des polyphénols totaux :

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

Les quantités des polyphénols correspondantes à chaque extrait ont été exprimées en équivalent microgramme d'acide gallique(AG) « $\mu\text{g EAG /mg d'extrait}$ » et déterminées par l'équation : $y = 0,005 x + 0,0999$.

x :Teneur en polyphénols, y : Absorbance.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

<i>Méthode d'extraction</i>	<i>Extrait</i>	<i>Phénols totaux $\mu\text{g (EAG)/mg d'extrait}$</i>
<i>Soxhlet</i>	✓ <i>Acétate d'éthyle</i>	<i>55,92 ± 7,312</i>
	✓ <i>Butanol</i>	<i>201,47 ± 147,539</i>
	✓ <i>Aqueux</i>	<i>26,3 ± 2,134</i>
<i>Macération</i>	✓ <i>Butanol</i>	<i>186,19 ± 125,278</i>
	✓ <i>Aqueux</i>	<i>36,93 ± 3,204</i>

Tableaux n=°15 : Teneur de polyphénols totaux de chaque extrait.

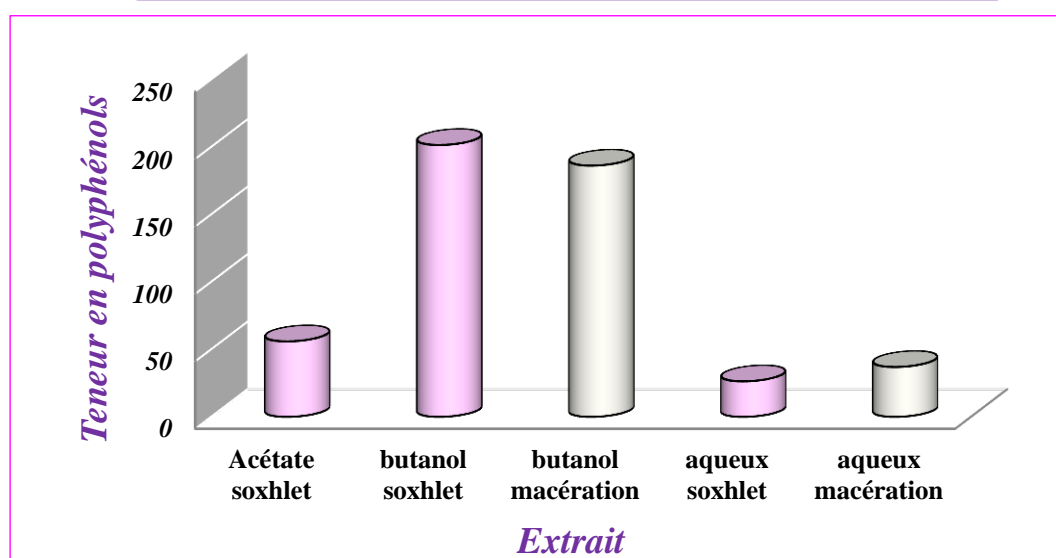


Fig.65 : Teneur des polyphénols totaux des extraits P. caerulea

Les teneurs en polyphénols totaux (**Fig.65**) des extrais butanolique de *P. caerulea* pour l'extraction soxhlet ($201,47 \pm 147,539 \mu\text{g EAG/mg d'extract}$) et macération ($186,19 \pm 125,278 \mu\text{g EAG/mg d'extract}$) sont clairement forts a comparaison avec les extraits d'acétate d'éthyle de soxhlet ($55,92 \pm 7,312 \mu\text{g EAG/mg d'extract}$) et aqueux dans les deux méthodes soxhlet ($26,3 \pm 2,134 \mu\text{g EAG/mg d'extract}$), macération ($26,3 \pm 2,134 \mu\text{g EAG/mg d'extract}$).

Donc à partir des résultats (Tableaux n=°15) en constate que l'extrait butanolique plus riche en polyphénols totaux par les deux méthodes cependant l'extrait aqueux est plus pauvre en polyphénols totaux.

Ceci pourrait être dû à la teneur élevé des fleurs étudié en composés phénoliques (comme les flavonoïdes, aglycones et les acides phénoliques...) qui sont extractibles par les solvants moyennement polaires ^[34].

On remarque aussi, par comparaison de nous résultats de *P. caerulea* avec *P. incarnata* qui contient (133.7mgGAE/g) des polyphénols trouvé par **Khattab A Elghobashy, Mohamed M Eldanasoury, Abdelmonsef A Elhadary and Mohamed Farid, 2019** ^[35], que la teneur des polyphénols dans les fleurs des *P. caerulea* plus forts que feuilles de *P. incarnata*.

IV .6.2 Dosage des flavonoïdes totaux :

La détermination de la teneur des flavonoïdes totaux dans différents extraits a été réalisée selon le protocole colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et l'étalon était la quercétine. les quantités des flavonoïdes correspondants à chaque extrait ont été exprimés en équivalent microgramme de quercétine (Q) « $\mu\text{g EQ /mg d'extract}$ » et déterminés par l'équation : **$y = 0,0112 x + 0,1959$** .

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

<i>Méthode d'extraction</i>	<i>Extrait</i>	<i>Flavonoïdes totaux $\mu\text{g (QE)}/\text{mg d'extrait}$</i>
<i>Soxhlet</i>	✓ <i>Acétate d'éthyle</i>	<i>1,01 ± 1,792</i>
	✓ <i>Butanol</i>	<i>9,67 ± 0,089</i>
	✓ <i>Aqueux</i>	<i>13,55 ± 1,616</i>
<i>Macération</i>	✓ <i>Butanol</i>	<i>12,23 ± 1,959</i>
	✓ <i>Aqueux</i>	<i>12,91 ± 0,335</i>

Tableaux n°16 : Teneur de flavonoïdes totaux de chaque extrait.

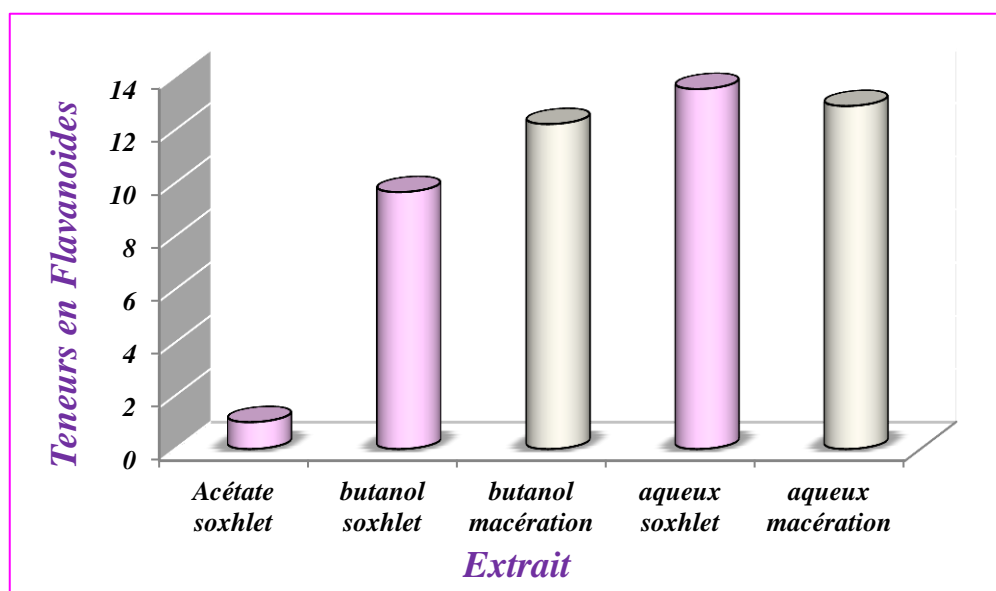


Fig.66 : Teneur des Flavonoïdes totaux des extraits P. caerulea

D'après les résultats de la (**fig.66**), on constate que la quantité de flavonoïdes dans l'extrait acétate d'éthyle de *Passiflora caerulea* par soxhlet ($1,01 \pm 1,792 \mu\text{g EQ/mg}$) relativement faibles comparés aux l'autres extraits comme butanol par soxhlet ($9,67 \pm 0,089 \mu\text{g EQ/mg}$) et par macération ($12,23 \pm 1,959 \mu\text{g EQ/mg}$) ainsi que l'extrait aqueux par macération ($12,91 \pm 0,335 \mu\text{g EQ/mg}$). le taux de flavonoïdes le plus élevé a été obtenu dans l'extrait aqueux pour la méthode d'extraction soxhlet ($13,55 \pm 1,62 \mu\text{g EQ/mg}$).

À partir de ces résultats (tableaux n=°16) on conclue que l'extrait aqueux révèle le plus riche en flavonoïdes totaux pour les deux méthodes d'extraction par contre l'extrait acétate d'éthyle enferme la teneur la plus faible.

Ceci est peut être dû à la nature de la fleur étudié car elle contient plus de flavonoïdes (par exemple les isoflavones, flavonones flavonols) ^[34]. ces résultats semblent conformes au CCM déjà fait qui montre la présence de ces types de flavonoïdes dans les fleurs de cette plante.

Par comparaison de ces résultats de *P.cearulea* avec *P. incarnata* qui contient (19.03mgQE/g) des flavonoïdes trouvé par **Khattab A Elghobashy, Mohamed M Eldanasoury, Abdelmonsef A Elhadary and Mohamed Farid, 2019**^[35], que la teneur en flavonoïdes dans les fleurs des *P.cearulea* faible par rapport les feuilles de *Passiflora incarnata*.

IV .6.3 Dosage des Tanins :

La détermination de la teneur des tanins dans différents extraits est étalon par la quercétine. Les quantités des tanins correspondantes à chaque extrait ont été exprimées en équivalent microgramme de quercétine (Q) « $\mu\text{g EQ /mg d'extrait}$ » et déterminées par l'équation :

$$y = 0,0205 x + 0,0439.$$

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

<i>Méthode d'extraction</i>	<i>Extrait</i>	<i>Tanins $\mu\text{g (QE)/mg d'extrait}$</i>
<i>Soxhlet</i>	✓ <i>Acétate d'éthyle</i>	<i>0,38 ± 1,884</i>
	✓ <i>Butanol</i>	<i>1,52 ± 1,416</i>
	✓ <i>Aqueux</i>	<i>1,47 ± 1,703</i>
<i>Macération</i>	✓ <i>Butanol</i>	<i>2,20 ± 0,476</i>
	✓ <i>Aqueux</i>	<i>2,18 ± 0,295</i>

Tableaux n=°17 : Teneur de Tanins de chaque extrait.

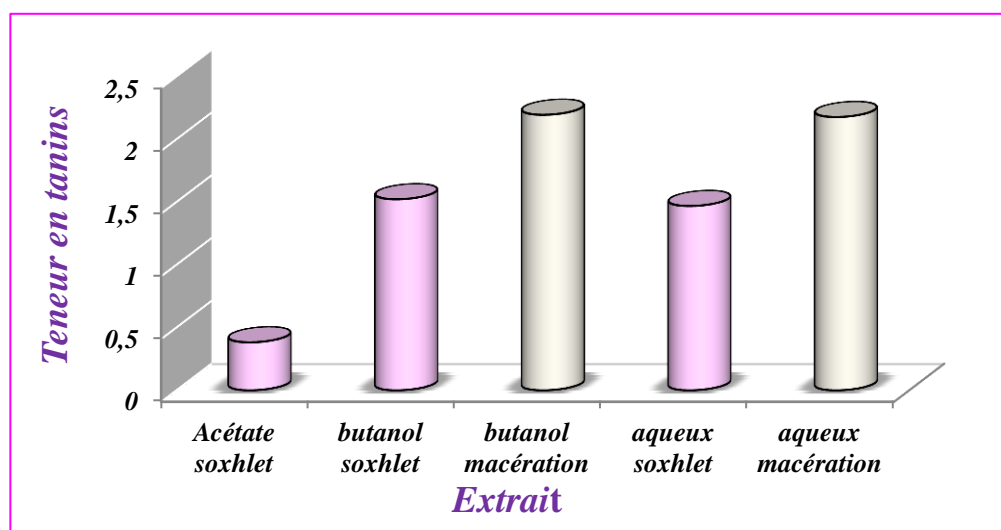


Fig.67 : Teneur des tanins dans les extraits P. caerulea

D'après les résultats de (**fig.67**) la quantité des tanins dans l'extrait acétate d'éthyle de *Passiflora caerulea* par soxhlet ($0,38 \pm 1,88 \mu\text{g EQ/mg}$) relativement faible que l'aqueux soxhlet ($1,47 \pm 1,703 \mu\text{g EQ/mg}$) et le butanol soxhlet ($1,52 \pm 1,416 \mu\text{g EQ/mg}$).

Le taux des tanins condensés le plus élevé a été obtenu dans l'extrait butanolique macération ($2,20 \pm 0,476 \mu\text{g EQ/mg}$) et aqueux macération ($2,18 \pm 0,295 \mu\text{g EQ/mg}$).

Donc à partir de (Tableaux n=°17) on ne constate que l'extrait butanolique et aqueux sont riches en tanins.

Par comparaison de ces résultats avec *P incarnata* qui contient ($1,9 \text{ mgQE/g}$) des tanins trouvé par **Helan Soundra Rani Michael, Nazneen Bobby Mohammed, Subramaniam Ponnusamy, Wesely Edward Gnanaraj, 2021^[36]**, on conclue que la teneur en tanins dans les fleurs de *P. caerulea* presque proche des feuilles de *P. incarnata*.

IV .7 Evaluation de l'activité antioxydante

• L'activité antioxydante des extraits obtenus à partir des extraits des fleurs de *Passiflora caerulea* a été évaluée contre le radical DPPH en présence d'un antioxydant butylhydroxytoluène BHT comme référence, les résultats de Pouvoir d'inhibition **PI (%)** antioxydant sont exprimés en IC_{50} qui donne la concentration efficace de l'extrait capable de piéger 50% des radicaux DPPH, dont la valeur la plus basse correspond à l'activité la plus forte.

<i>Concentration</i>	<i>Pouvoir d'inhibition PI (%)</i>					
	<i>Butanol soxhlet</i>	<i>Butanol macération</i>	<i>Acétate d'éthyle soxhlet</i>	<i>Aqueux soxhlet</i>	<i>Aqueux macération</i>	<i>Hexane</i>
<i>C=0,8mg/ml</i>	<i>45,5239</i>	<i>14,96371</i>	<i>160,8319</i>	<i>22,641</i>	<i>28,485</i>	<i>46,91978</i>
<i>C=0,4mg/ml</i>	<i>9,5570</i>	<i>42,80663</i>	<i>30,79285</i>	<i>18,835</i>	<i>24,409</i>	<i>51,6937</i>
<i>C=0,2mg/ml</i>	<i>24,90229</i>	<i>52,90341</i>	<i>48,02717</i>	<i>47,162</i>	<i>47,776</i>	<i>64,2099</i>
<i>C=0,1mg/ml</i>	<i>42,25758</i>	<i>55,9557</i>	<i>55,48111</i>	<i>59,511</i>	<i>58,068</i>	<i>61,9207</i>
<i>C=0,05mg/ml</i>	<i>41,81091</i>	<i>54,8297</i>	<i>57,10962</i>	<i>67,03</i>	<i>66,62</i>	<i>63,5213</i>
<i>c=0,025mg/ml</i>	<i>54,42025</i>	<i>63,93076</i>	<i>59,51982</i>	<i>68,947</i>	<i>67,346</i>	<i>58,4962</i>
<i>C=0,0125mg/ml</i>	<i>55,36013</i>	<i>53,94565</i>	<i>65,36386</i>	<i>72,864</i>	<i>66,462</i>	<i>62,4977</i>
<i>C=0,00625mg/ml</i>	<i>52,22408</i>	<i>63,29797</i>	<i>57,95645</i>	<i>75,079</i>	<i>68,007</i>	<i>45,7193</i>

Tableaux n°18 : Pouvoir d'inhibition PI (%) antioxydant des extraits de *P. caerulea* pour chaque concentration

- Les valeurs d'IC₅₀ calculée pour chaque extrait sont réunies dans le tableau :

<i>IC₅₀</i>						
<i>Butanol soxhlet</i>	<i>Butanol macération</i>	<i>Acétate d'éthyle soxhlet</i>	<i>Aqueux soxhlet</i>	<i>Aqueux macération</i>	<i>Hexane Soxhlet</i>	<i>BHT</i>
0,1733 mg/ml	0,2457 mg/ml	0,0306 mg/ml	0,7076 mg/ml	0,7120 mg/ml	0,6283 mg/ml	0,0344 mg/ml

Tableaux n=°19 : Valeurs d'IC₅₀ calculées pour chaque extrait et référence

D'après ces résultats, on aperçoit que :

- ✓ Quel que soit la technique d'extraction considérée, les plus faibles activités antioxydantes sont en faveur des extraits aqueux (0,7076 mg/ml et 0,7120 mg/ml) et l'hexane (0,6283 mg/ml), sont largement supérieur à ceux enregistré pour BHT (0,0344mg/ml). l'extraits butanolique dans les deux méthodes (0,1733 mg/ml et 0,2457 mg/ml) avait un pouvoir antioxydant acceptable; Cependant, il convient de distinguer que l'activité antioxydante de ces extraits est relativement faible par rapport à celle de standards ; Par contre l'acétate d'éthyle affiche (0,0306 mg/ml) nettement inférieur à celle de BHT, ce qui indique que l'extrait l'acétate d'éthyle manifeste une excellente activité antioxydante.
- ✓ La meilleur activité antioxydante de fleur *P.cearulea* est attribuée à l'extrait acétate d'éthyle par une concentration IC₅₀ = 0,0306 mg/ml pour piéger 50% de radical DPPH, ce qui montre que cette fraction renferme les composés les plus actifs.

IV.8 Evaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation du pouvoir antibactérien in vitro a été testée contre une gamme des souches bactériennes pathogènes.

Les diamètres des zones d'inhibition des souches inoculées avec les extraits sont notés et exprimés en millimètres. les résultats de la méthode de diffusion sont regroupés dans les (Tableaux n=°20+21).

<i>Extrait</i>	<i>Zone d'inhibition mm</i>					
	<i>Bacillus Cereus Gram (+)</i>	<i>Résultats</i>	<i>Escherichia coli Gram(-)</i>	<i>Résultats</i>	<i>Salmonella sp Gram(+)</i>	<i>Résultats</i>
<i>Hexane « 1 »</i>	<i>6,333 B</i>	<i>(-)</i>	<i>6,33 B</i>	<i>(-)</i>	<i>6 B</i>	<i>(-)</i>
<i>Acétate d'éthyle « 2 »</i>	<i>6 B</i>	<i>(-)</i>	<i>6 B</i>	<i>(-)</i>	<i>6 B</i>	<i>(-)</i>
<i>Butanol Soxhlet « 3 »</i>	<i>6 B</i>	<i>(-)</i>	<i>6 B</i>	<i>(-)</i>	<i>6 B</i>	<i>(-)</i>
<i>Butanol macération « 4 »</i>	<i>6 B</i>	<i>(-)</i>	<i>6 B</i>	<i>(-)</i>	<i>6 B</i>	<i>(-)</i>
<i>Aqueuse Soxhlet « 5 »</i>	<i>6 B</i>	<i>(-)</i>	<i>6,33 B</i>	<i>(-)</i>	<i>6 B</i>	<i>(-)</i>
<i>Aqueuse Macération « 6 »</i>	<i>6 B</i>	<i>(-)</i>	<i>6,33 B</i>	<i>(-)</i>	<i>6 B</i>	<i>(-)</i>
<i>Gentamicine « T+ »</i>	<i>42,16 A</i>	<i>(+++)</i>	<i>26,5 A</i>	<i>(+++)</i>	<i>39,1 A</i>	<i>(+++)</i>

Tableau n=°20: Résultats de l'activité antibactérienne de chaque extraits avec les souches de Bacillus Cerrus et Escherichia, Salmonella.

<i>Extrait</i>	<i>Zone d'inhibition mm</i>							
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Gram (-)	<i>Résultats</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> Gram (+)	<i>Résultats</i>	<i>Pseudomonas</i> Gram (-)	<i>Résultats</i>	<i>staphylococcus faecalis</i> Gram (+)	<i>Résultats</i>
<i>Hexane</i> « 1 »	7,297 B	(-)	8,833 B	(+)	6,803 C	(-)	7,920 B	(-)
<i>Acétate d'éthyle</i> « 2 »	6,493 C	(-)	6,700 C	(-)	6,540 C	(-)	7,283 B	(-)
<i>Butanol Soxhlet</i> « 3 »	6,550 C	(+)	7,967 B	(-)	7,797 B	(-)	8,803 B	(+)
<i>Butanol macération</i> « 4 »	6,747 C	(-)	6,850 C	(-)	6,570 C	(-)	8,020 B	(+)
<i>Aqueuse Soxhlet</i> « 5 »	6,723 C	(-)	6,793 C	(-)	6,267 C	(-)	7,620 B	(-)
<i>Aqueuse Macération</i> « 6 »	6,920 B	(-)	7,657 B	(-)	6,613 C	(-)	7,223 B	(-)
<i>Gentamicine</i> « T+ »	16,71 A	(++)	32,02 A	(+++)	29,56 A	(+++)	37,06 A	(+++)

Tableau n=°21: Résultats de l'activité antibactérienne de chaque extraits avec les souches de *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas*, *staphylococcus faecalis*

- Dans une même colonne, les lettres différentes signifient la présence d'une différence significative entre les modalités tel indiqué par le test de comparaison des moyennes Fisher LSD ($p < 0.05$).

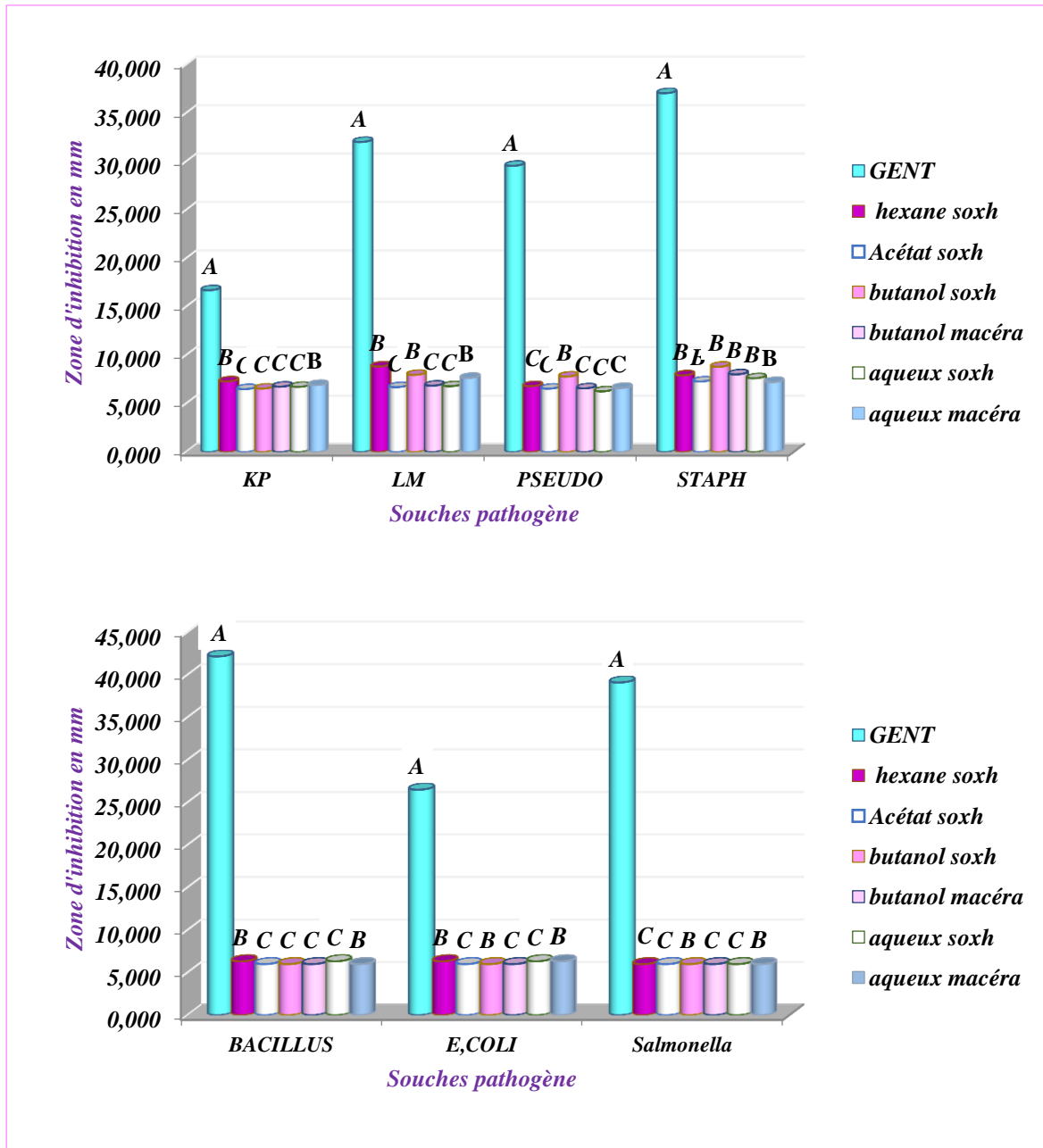


Fig. 68 : histogrammes présentent l’analyse statistique de l’activité antibactérienne pour les extraits des fleurs de *P. cearulea* dans les souches pathogènes étudiées

Les résultats de l'activité antibactérienne appliquée sur 7 souches pathogènes (gram + et gram -), ont montré que les extraits des fleurs de *P. cearulea* sont sensibles qu'avec deux souches (*Listeria monocytogenes* Gram (+), *Staphylococcus faecalis* Gram (+)) donnant des zones d'inhibition alentours de « 8 mm ».

- Pour *Listeria monocytogenes* Gram (+), on a l'hexane obtenu par la méthode soxhlet donne une zone d'inhibition (8,83mm).
- *Staphylococcus faecalis* Gram (+) sensible avec l'extrait butanolique obtenu par les deux méthodes d'extractions (soxhlet : 8,80mm ; macération : 8,02mm).
- Les autres souches comme : (*Bacillus Cereus* Gram (+), *E. coli* Gram (-), *Salmonella* sp Gram(+), *Klebsiella pneumoniae* Gram(-), *Pseudomonas* Gram (-), ont montré des zones d'inhibition entre : 6 et 7mm inférieur à 8 mm, alors aucun effet antibactérien marqué sur ces souches par les extraits testés.
- Selon nos résultats et par comparaison avec l'antibiotique gentamicine « T+ » et leur zone d'inhibition, il est possible de conclure que les extraits des fleurs de *P. cearulea* ont montré un faible potentiel antibactérien sur ces micro-organismes, donc il est impossible de les appliquer comme des antibiotiques surtout pour les souches sélectionnées..

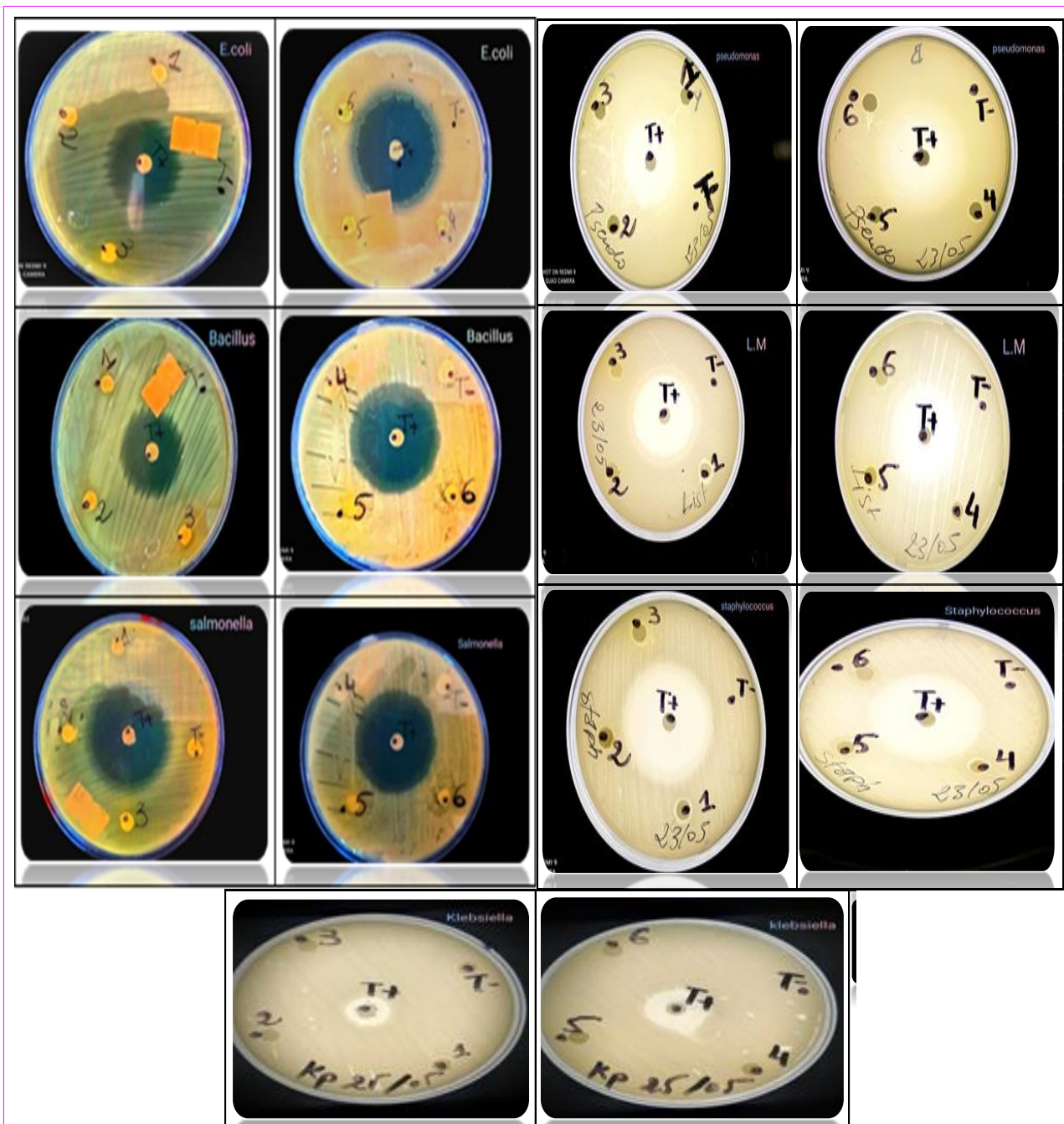


Fig.69 : Antibiogramme de l'activité antibactérienne des extraits des fleurs *Passiflora caerulea*
 « 1 : Hexane, 2 : Acétate d'éthyle, 3 : Butanol soxhlet, 4 : Butanol macération, 5 : Aqueux soxhlet,
 6 : Aqueux macération ».



*Conclusion générale et
Perspective*



Conclusion générale

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives, synthétisées par les plantes et appliquées comme des agents médicinaux tels que les antioxydants et les antibiotiques.

L'objectif principal assigné par cette étude englobe le même contexte et nous nous sommes intéressés à l'investigation pharmacologique, phytochimique et biologique des fleurs de *Passiflora caerulea* de l'origine d'Amérique tropicale et que on a planté dans notre région Biskra (Algérie).

La passiflore est connue pour ses actions centrale (sédative, analgésique...) et périphérique contribue à la mise en place d'un sommeil réparateur, crampes musculaires, augmentation de l'amplitude et de la fréquence respiratoire.

L'analyse des métabolites secondaires par screening prouve la présence des polyphénols « flavonoïdes, tanins, anthocyanes.. », terpènes, huiles essentielles et des alcaloïdes, nous signalons l'absence totale des saponosides et coumarines.

L'extraction des polyphénols par quatre solvants de polarité croissante, on appliquant deux méthodes, la macération et l'extracteur soxhlet. Cette dernière est la plus efficace à cause de la répétitions infiniment de cycle d'extraction avec du solvant frais.

Une étude préliminaire par CCM réalisée sur les extraits obtenus mettent en relief la richesse relative de l'acétate d'éthyle, butanol en métabolite secondaires de types flavonoïdes (flavones, flavonols...) et l'hexane par (caroténoïdes et lipides).

La quantification par des méthodes spectrophotométries nous a permis de déterminer les teneurs en phénols totaux par le réactif du Folin-Ciocalteu, en flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium et les tannins condensés par le test de la vanilline.


Les résultats obtenus nous ont révélé que la teneur la plus élevée en polyphénols totaux est attribuée à l'extrait Butanolique « soxhlet = $201,47 \pm 147,539 \mu\text{g}$ (EAG)/mg d'extrait; macération = $186,19 \pm 125,278 \mu\text{g}$ (EAG)/mg d'extrait » et en flavonoïdes à l'extrait aqueux « soxhlet = $13,55 \pm 1,616 \mu\text{g}$ (QE)/mg d'extrait ; Macération : $12,91 \pm 0,335 \mu\text{g}$ (QE)/mg d'extrait ». Cependant, ces extraits donnent des teneurs faibles en tanins condensés pour les deux méthodes.

En ce qui concerne les activités biologiques: l'antioxydante par la méthode de piégeage des radical libre DPPH sur les extraits des fleurs *P. caerulea*, a montré une activité remarquable pour l'extrait d'acétate d'éthyle avec $IC_{50} = 0,0306$ mg/ml et plus élevée que celle de BHT «référence» qui donne $IC_{50} = 0,0344$ mg/ml ainsi le butanol dans les deux méthodes d'extractions soxhlet par 0,1733 mg/ml, macération 0,2457 mg/ml avec des pouvoirs antioxydants acceptable ; l'activité antibactérienne par technique de diffusion sur milieu gélosé (Antibiogramme) sur les souches photogènes: *Listeria monocytogenes*, *Bacillus*, *Escherichia coli* (*E.coli*), *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus faecalis* et *Salmonella sp*; montre que les extraits sont sensibles contre deux souches (*Listeria monocytogenes* par l'hexane avec une zone d'inhibition (8,83mm) et *staphylococcus* sensible par extrait Butanolique (soxhlet : 8,80mm ; macération : 8,02mm) ; donc les extraits des fleurs de *P. caerulea* ont présenté une faible pouvoir antibactérien sur les souches pathogènes testés.

Perspective

De nouvelles perspectives peuvent être envisagées pour la continuité des travaux:

- ☞ Caractérisation des composés polyphénolique par différentes méthodes de séparation (CLHP, CG/SM...).
- ☞ Etudier chaque extrait séparément puis isoler et identifier les différents composés qui existent.
- ☞ Une étude plus poussée de l'activité antibactérienne et antioxydant non seulement sur les extraits utilisés seules ou leurs composants majoritaire, mais également en mélange, permettant ainsi une éventuelle synergie.
- ☞ Il serait intéressant de continuer ces travaux notamment sur d'autres bactéries pathogènes et d'autre activité biologique, afin de confirmer l'efficacité ou non des extraits de *P. caerulea*.
- ☞ Etudier la toxicité des extraits pour voir la possibilité de leur utilisation.



Références
Bibliographiques

✚ Références bibliographiques

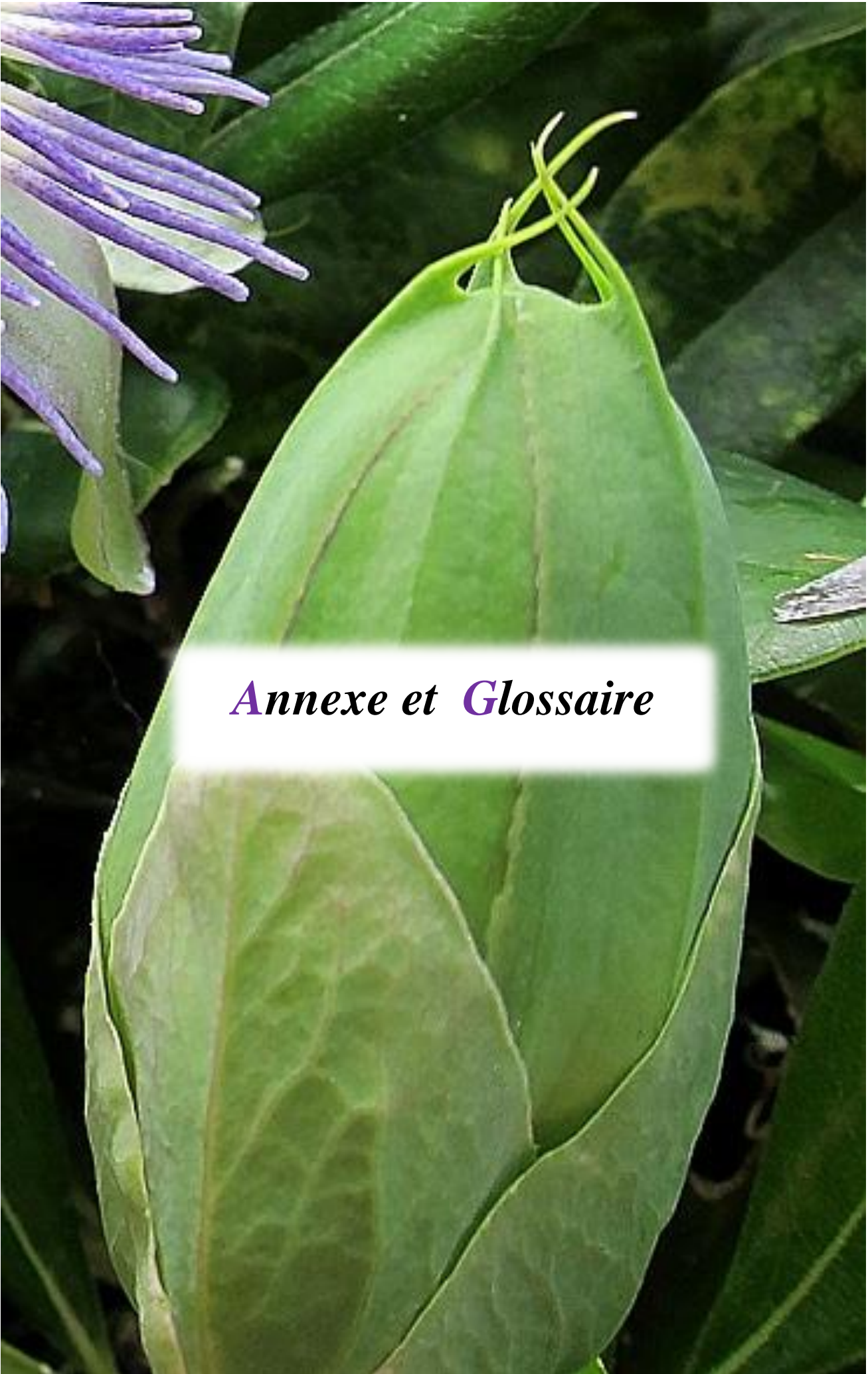
1. Livre Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition) 2001 Larousse.
2. Article Quotig-info N°14 du (2011).
3. L. HAENDLER. (1965).Article la passiflore sa composition chimique et ses possibilités de transformation.
4. Patrick Mioulane. HOMMES & PLANTES N° 71 ; Article passion des passiflores.
5. <https://www.officedesfleurs.fr/campaign/plante-de-terrasse-2019-la-passiflore>.
6. Jean-René Linzau. (2020). Thèse de doctorat en pharmacie sur Propriétés thérapeutiques de la passiflore (*Passiflora incarnata* et *Passiflora edulis*) dans le diabète de type 2. Université Bordeaux.
7. O. DELANOË. Article phytogéographie et organisation de la diversité génétique dans le genre *Passiflora*.
8. PASSIFLORA CAERULEA | Willaert Boomkwekerij.
9. K. Ghedira, P. Goetz. (2013).Article *Passiflora incarnata* L. : la passiflore officinale (*Passifloraceae*).
10. K. Ghedira, P. Goetz, R. Le Jeune. (2007).Article *Passiflora incarnata* L.
11. Institut européenne des substances végétales. Article la passiflore (*Passiflora incarnata* L).
12. Article comité des médicaments à base des plantes (HMPC) *Passiflora incarnata* L., herba *Passiflora*.
13. Ramla SAHLI. (2018). Thèse de doctorat en Sciences du médicament et des autres produits de santé et en Génie Biologique sur Etude phytochimique de quelques plantes extremophiles tunisiennes et exploration de leurs activités biologiques. Université Lille 2 ; Université de Carthage.
14. LEHOUT ROUMEISSA et LAIB MAYA. (2016). Mémoire de Master en Biochimie moléculaire et santé sur Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso. Université des Frères Mentouri Constantine.
15. FETTAH Asma. (2019). Thèse de doctorat en Chimie Organique et Phytochimie sur Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydant - antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce *Thymoïdes* de la région Beni Souik, Biskra. Université Mohamed Khider Biskra.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

16. Belouadah Nawal et Attoui Warda. (2020). Mémoire de Master en Chimie Organique sur Screening phytochimique de l'espèce *Alchemilla Vulgaris*. Université Mohamed Boudiaf Msila.
17. Salah Eddine LAOUINI. (2015). Thèse de doctorat Chimie Industrielle sur Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de *Phoenix dactylifera L* dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf). Université Mohamed Khider Biskra.
18. Reguia Mghezzi Habellah. (2014). Mémoire Master en Chimie Pharmaceutique sur Etude phytochimique et l'activité antioxydant de l'*Acacia erhenbergiana* de la région de Tindouf. Université Mohamed Khider Biskra.
19. Pr. J. Vercauteren. Cours de Pharmacognosie. Édition 2011. Université Montpellier I.
20. Belyagoubi et Benhamou Nabila. (2012). Thèse de doctorat en biologie sur Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Université Aboubakr Belkaïd Tlemcen.
21. ABETTI Soumia. (2014). Mémoire de Master en Sciences et Techniques sur Etude phytochimique et pouvoirs antioxydant et vasodilatateur des extraits de trois plantes du nord de Maroc (*Daphne gnidium*, *Origanum elongatum*, *Cistus salviifolius*).
22. M. TUO KARIM. (2015). Thèse doctorat en Pharmacologie des Substances Naturelles sur Criblage Phytochimique, activité antioxydant et antiplasmodiale *in vitro* de cinq plantes utilisées traditionnellement en Côte D'ivoire contre le Paludisme. L'Université Félix Houphouët-Boigny.
23. Sallouh Mebarka, Nouioui Ikram. (2019). Mémoire Master en Chimie pharmaceutique sur Etude de quelque propriété chimique et biologique de la caroube Algérienne. Université Mohamed Khider Biskra.
24. Kamal Fadili, Hannou Zerkani, Smail Amalich et Touriya Zair. (2017). Article Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydant des feuilles et des fruits de *ET Capparis spinosa L*.
25. Leout Roumeissa, Laib Maya. (2015). Mémoire de Master en Biochimie moléculaire et santé sur Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso. Université des Frères Mentouri Constantine.
26. Imen Nasri, (2016), Thèse de doctorat en Chimie et Spécialité Cancérologie sur Etude phytochimique et activités biologiques de *Diplotaxis sp*: Application à l'étude des cellules souches coliques pathologiques. Université Sfax et Université de Toulouse.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES




27. Guérin-Faublée, V.; Carret, G., (1999). L'antibiogramme: principes, méthodologie, intérêt et limites. Journées nationales GTV-INRA.
28. Gachkar, L.; Yadegari, D.; Rezaei, M. B.; Taghizadeh, M.; Astaneh, S. A.; Rasooli, I., (2007). Chemical and biological characteristics of Cuminum minum and Rosmarinus officinalis essential oils. Food Chemistry.
29. ADESOKAN A. A., AKANJI M.A., and YAKUBU M.T, (2007). Antibacterial potentials of aqueous extract of Enantia chlorantha stem bark, African Journal of Biotechnology.
30. Celiktas O.Y., Hames Kocabas E.E., Bedir E., Vardar Sukan F., Ozek T., Baser K.H.C., (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of Rosmarinus officinalis, depending on location and seasonal variations. Food Chem.
31. Henry N. Le HoueH rou, (2001). Biogeography of the arid steppeland north of the Sahara. Journal of Arid Environments.
32. Ponce AG, Fritz R, Del Valle C, et al. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lwt-Food Sci Technol.
33. Derwich E., Benziane Z. ET Boukir A., (2010). GC/MS Analysis and antibacterial activity of the essential oil of Mentha pulegium grown in Morocco; Res. J. Agric. & Biol. Sci..
34. Andersen Ø.M., K.R. Markham., 2006. Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications, Taylor & Francis Group.
35. Khattab A Elghobashy, Mohamed M Eldanasoury, Abdelmonsef A Elhadary and Mohamed Farid. (2019). Research Article Phytochemical Constituent, HPLC Profiling and Antioxidant Activity of *Passiflora incarnata* and *Arctium lappa* Leaves Extracts.
36. Helan Soundra Rani Michael, Nazneen Bobby Mohammed, Subramaniam Ponnusamy, Wesely Edward Gnanaraj. (2021). Article a Folk Medicine: *Passiflora incarnata* L – Phytochemical Profile with Antioxidant Potency.



Annexe et Glossaire

 Annexe


ANNEXE 1 : Hybrides de la collection nationale CCVS(Conservatoire des collections végétales spécialisées) . (Patrick Mioulane. **HOMMES & PLANTES N° 71 ; Article passion des passiflores**)

P.caerulea Hybrides de la collection nationale CCVS				
<i>Anastasia (P. griensis x P. caerulea)</i>				<i>Marilke (P. decaisneana x P. caerulea)</i>
	<i>P. x belotii (P. alata x P. caerulea)</i>			


ANNEXE 2 : Préparations et usages de passiflore (Livre **Encyclopedia of Medicinal Plants** « 2nd Edition » 2001 Larousse)

PRÉPARATIONS ET USAGES


ATTENTION : peut provoquer des somnolences. Pendant la grossesse, réduire les doses.



Teinture *Sédatif efficace en cas de surmenage intellectuel. Prendre 11, a, ç dans de l'eau une fois par Jour*



Infusion *En cas d'insomnies, boire 2 tassés au maximum dans la soirée*



Comprimés *Remède contre l'insomme et le stress*

ANNEXE 3 : Les réactifs utilisés pour le criblage phytochimique.

✓ Réactif de MAYER :

- 1.35g de chlorure mercurique ;
- 5g d'Iodure de potassium ;
- 30mL d'Eau distillée ;

Agiter jusqu'à dissolution puis ajouter :

- q.s.p 100mL d'Eau distillée.

✓ Réactif de BOUCHARDAT :

Réactif de détection des alcaloïdes, il se compose de :

- 2g de Diode (I₂) ;
- 2g d'Iodure de potassium anhydre (KI) ;
- 10mL d'Eau distillée

✓ Réactif de DRAGENDORFF :

Réactif de détection des alcaloïdes, il se compose de :

- 0.85g de Nitrate de Bismuth (BiNO₃) ;
- 8g d'Iodure de potassium anhydre (KI) ;
- 10mL d'Acide acétique glacial (CH₃COOH) ;
- 70mL d'Eau distillée.

ANNEXE 4 : Composition du milieu Mueller-Hinton :

Extrait de viande de bœuf : 2.0g.

Peptone de caséine : 17.5g.

Amidon de maïs : 1.5g.

Agar : 17.0g.

PH : 7.4.

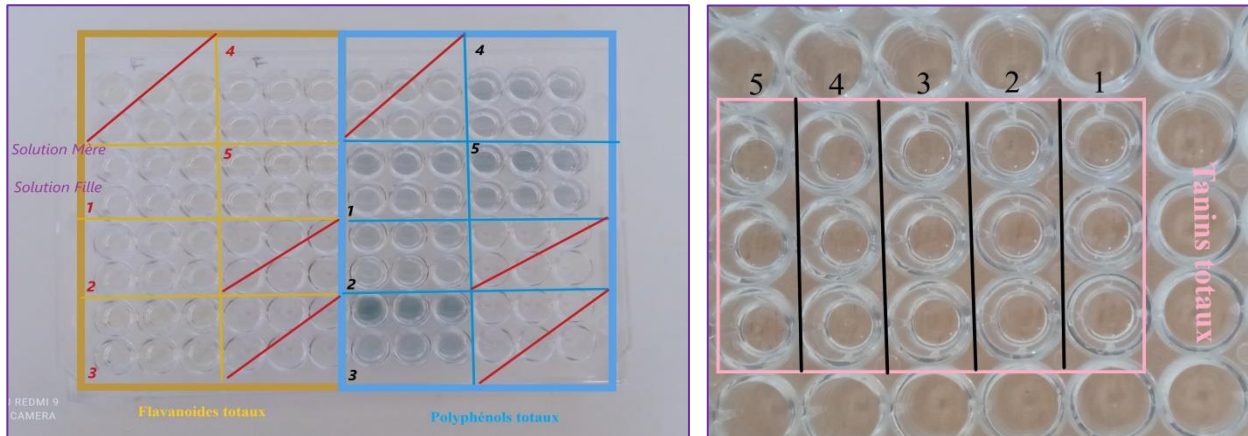
ANNEXE 5 : Relation entre la fluorescence et la structure des flavonoïdes (**Markham, K.R. (1982) Techniques of Flavonoid Identification. Academic Press, London).**

Spots colorés	Types de flavonoïdes
Noir	Flavonols 5, 6, 7 tri -OH libres
	Flavonols 5, 7, 8 tri -OH libres
Brun noir	3- OH absent ou 3 -OH substitué
Violet	Flavones 5 -OH et 4' -OH
	Flavones 3- OR et 5 -OH, 4' -OH
	Flavones ou flavonols 5 -OH avec 4' -OH absent ou substitué en 3
	Flavones 6- ou 8 -OH
	Chalcones, isoflavones, dihydroflavonols, flavonones
Bleu clair (fluorescent)	Flavones sans 5 -OH libre
	Flavonols sans 5 -OH libres avec 3 -OH substitué
Jaune terne, jaune orangé	Flavonols 3 -OH libre avec ou sans 5 -OH substitué
Jaune vert brillant	5 -OH libre ou 5 -OH substitué
Jaune fluorescent	Flavonols avec 3 -OH libre
Jaune pale	Dihydroflavonols

ANNEXE ET GLOSSAIRE

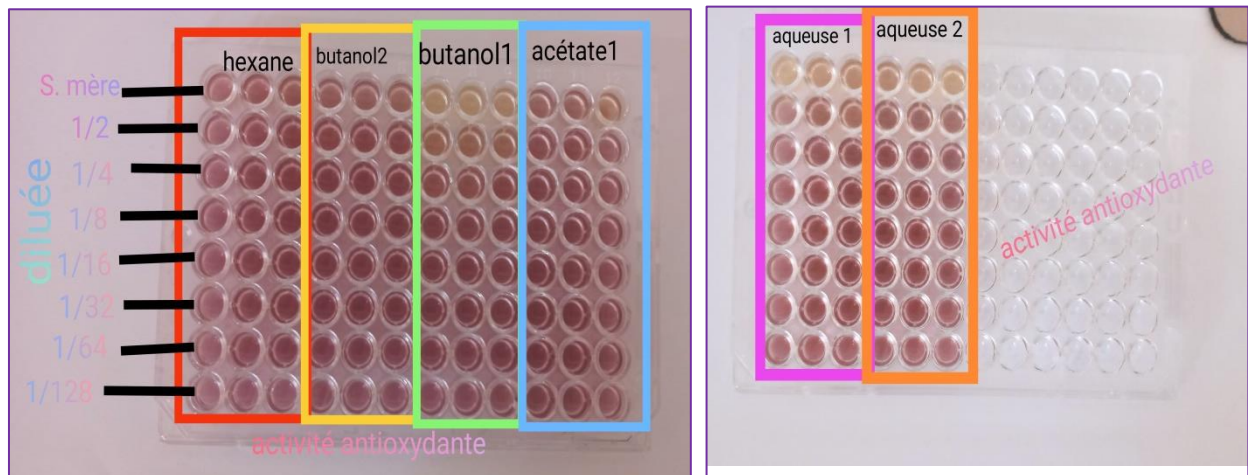
ANNEXE 6 : Dosage des polyphénols et flavonoïdes, tanins des fleurs de *P. caerulea*.

« 1 : Butanol macération, 2 : Acétate d'éthyle soxhlet, 3 : Butanol macération, 4 : aqueux soxhlet, 5 : aqueux macération. ».

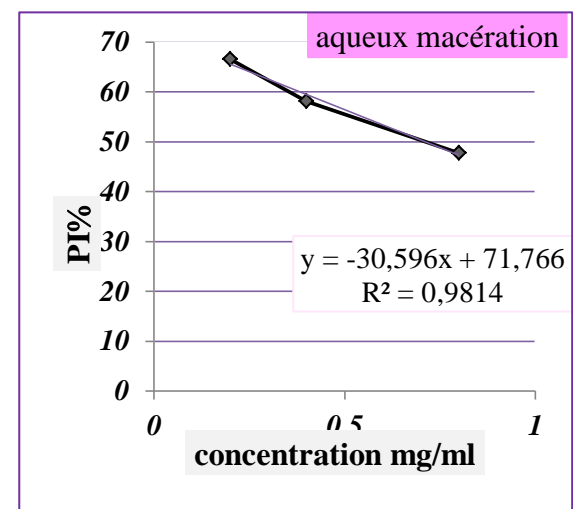
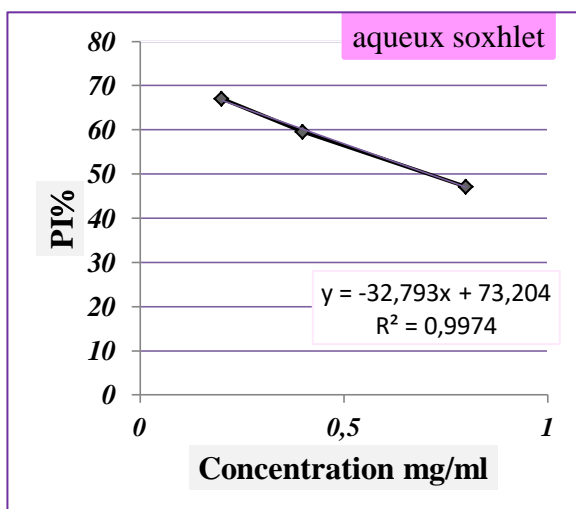
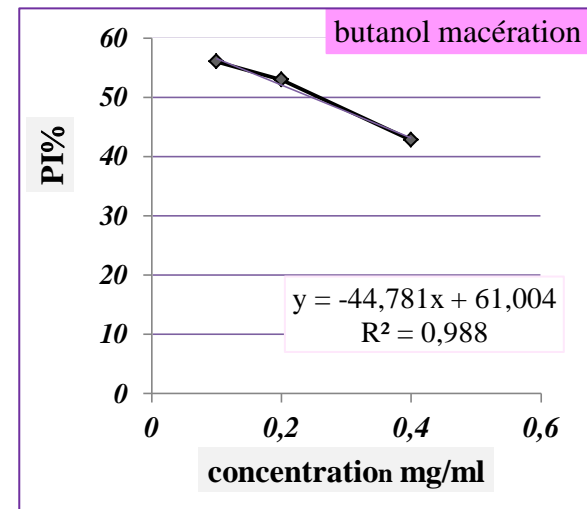
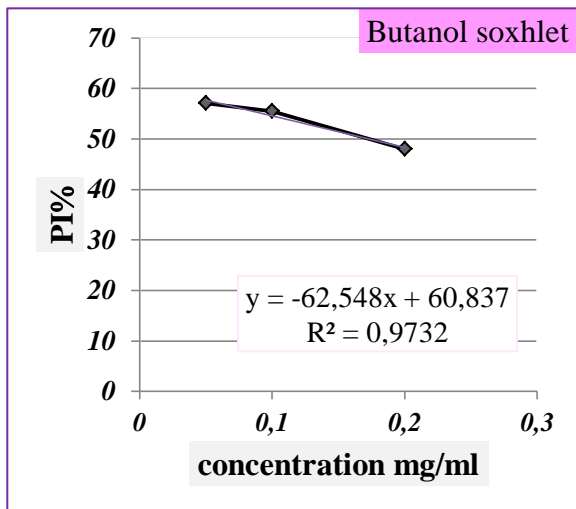
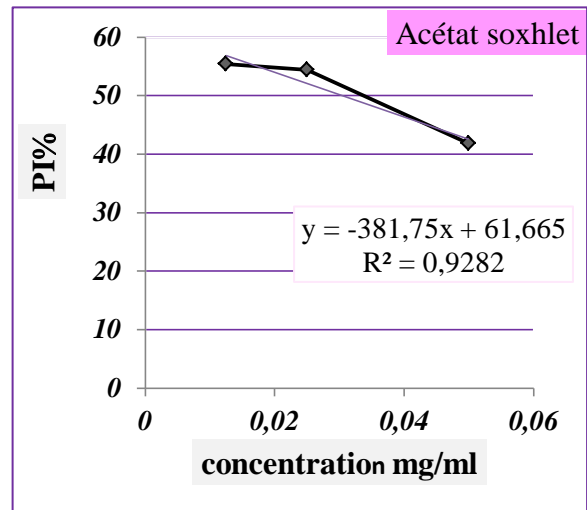
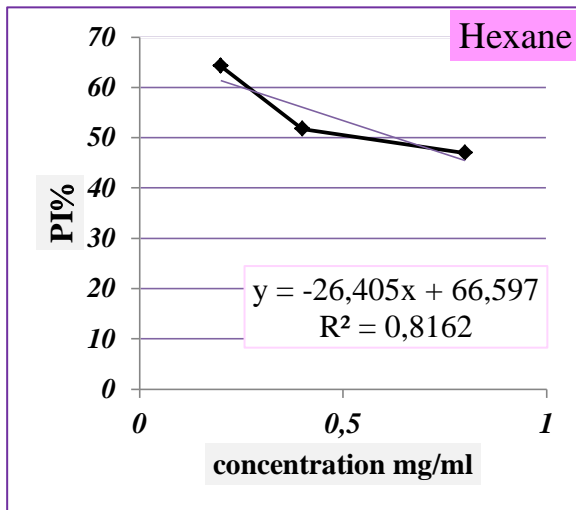


ANNEXE 7 : Activité antioxydant des fleurs de *P. caerulea*

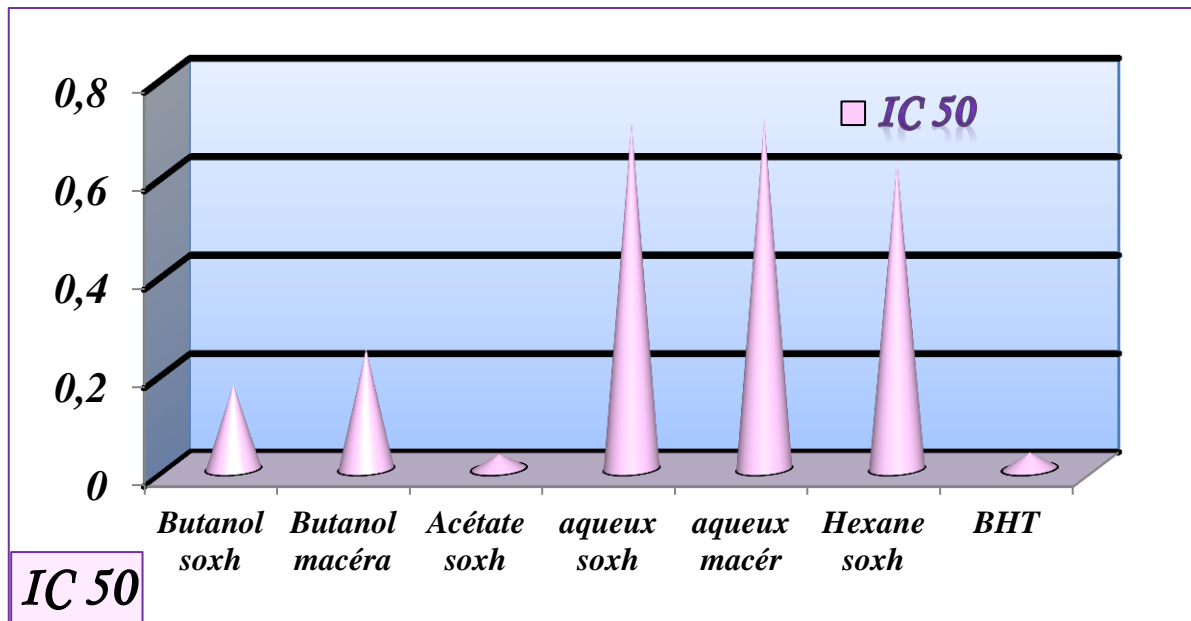
« 1 : Soxhlet » ; « 2 : Macération ».



ANNEXE 8 : Courbes des pourcentages d'inhibition du radicale DPPH par les extraits des fleurs de *P. caerulea*.



ANNEXE 9 : Histogramme présente les concentrations des extraits étudiés des fleurs de « P. cearulea » et la référence « BHT » qui piège 50% des radicaux libres en microgramme/ml :



 **Glossaire**

- **Analgésique** : supprime la douleur.
- **Androcée** : est l'appareil reproducteur mâle de la fleur, c'est-à-dire l'ensemble des étamines.
- **Antibactérien** : inhibe et détruit les bactéries
- **Antioxydant** : permet aux aliments de résister à l'oxydation et à une détérioration graduelle.
- **Antiparasitaire** : lutte contre les parasites animaux et végétaux.
- **Anti-tumorale** : détruit les tumeurs.
- **Anti-inflammatoire** : qui combat les inflammations.
- **Antivirale** : toute substance active contre les virus.
- **anti-ulcéreuses** : utilisé dans le traitement des ulcères gastriques et duodénaux ou dans la prévention de leur récurrence
- **Arbustes** : sont des plantes intéressantes pour structurer et aménager un jardin.
- **Bractée** : petite feuille située à la base du pédoncule floral et qui recouvre la fleur avant son développement.
- **Cotylédon** : feuille embryonnaire, issue de la graine, qui se développe au-dessus ou sous la surface du sol.
- **Dicotylédones** : classe regroupant les plantes dont les graines ont 2 cotylédons. En général, ses plantes ont des feuilles à nervures ramifiées et des fleurs du type 4 ou 5. Appelée aussi Magnoliopsida.
- **Diurétique** : substance permet d'augmenter la sécrétion urinaire.
- **Ensemencement** : action d'ensemencer : déposer des microbes ou leurs spores sur un milieu de culture approprié.
- **Épines** : Arbre ou arbrisseau aux branches armées de piquants.
- **Étamine** : organe mâle de la reproduction chez les végétaux supérieurs ou angiospermes.

- **Hypotenseurs** : réduire l'hypertension artérielle.
- **Monoïque** : terme désignant une plante qui porte des fleurs mâle et des fleurs femelles séparées les unes des autres, mais sur un même pied.
- **Nervure** : Fine saillie traversant la feuille d'une plante.
- **Pétale** : chacune des parties dont est composée la corolle d'une fleur.
- **Pétiole** : partie rétrécie de la feuille, qui lui sert de support.
- **Plante grimpante** : offre une floraison abondante et un feuillage décoratif tout en n'occupant qu'une faible surface au sol. Habillez vos treillages, grillages, arbres, murs....
- **Sépale** : chacune des pièces formant le calice d'une fleur.
- **stigmate** : est l'extrémité du pistil, l'organe reproducteur féminin, d'une fleur.
- **vasodilatatoires** : permettent de dilater les vaisseaux sanguins - veines et artères
- **Vrilles** : Organe de fixation de certaines plantes grimpantes, qui s'enroule en hélice..