

ACADÉMIE D'ORLÉANS-TOURS
UNIVERSITÉ DE TOURS

FACULTÉ DE PHARMACIE « Philippe Maupas »

Année 2022

N ° 34

THÈSE D'EXERCICE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

BIEHLER Olga, née le 24 novembre 1975 à Petchora (RUSSIE)

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 27 juin 2022

Composition phytochimique des tanins condensés de l'*Hydnora abyssinica*

JURY

Président : ENGUEHARD-GUEIFFIER Cécile Professeur d'Université de Tours

Membres :

BOUDESOCQUE-DELAYE Leslie Professeur d'Université de Tours

LANOUE Arnaud Maître de conférences d'université de Tours

ANQUETIL-BEHRA Carole, Pharmacienne titulaire, pharmacie de la Petite Arche (Tours)

FOUCHET Frederic Pharmacien titulaire, pharmacie de la petite Arche (Tours)

ANNEE : 2022 - 2023

Directeur : Pr Denys BRAND

Directeur Adjoint : M. Matthieu JUSTE

Assesseurs : M. Gildas PRIE, Mme Mélanie BOUVIN FLEY, Mme Emilie ALLARD-VANNIER, M. Bruno GIRAudeau, Mme Claire POUPLARD

ENSEIGNANTS

12 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ

ALLOUCHI	Hassan	CHIMIE PHYSIQUE
BOUDESOCQUE-DELAJE	Leslie	PHARMACOGNOSIE
BRAND	Denys	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
CHEVALIER	Stéphane	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
CHOURPA	Igor	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
CLASTRE	Marc	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
DIMIER-POISSON	Isabelle	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
ENGUEHARD-GUEIFFIER	Cécile	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MAHEO	Karine	PHYSIOLOGIE
MAUPOIL-DAVID	Veronique	PHARMACOLOGIE
MUNNIER	Émilie	PHARMACIE GALENIQUE
VIAUD-MASSUARD	Marie-Claude	CHIMIE ORGANIQUE

6 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ ET PRATICIENS HOSPITALIERS

ANTIER	Daniel	PHARMACIE CLINIQUE
ARLICOT	Nicolas	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
EMOND	Patrick	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
GIRAudeau	Bruno	SANTÉ PUBLIQUE, BIOSTATISTIQUES & ÉPIDÉMIOLOGIE
LANOTTE	Philippe	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
POUPLARD	Claire	HEMATOLOGIE

2 PROFESSEURS ÉMERITES

BARIN	Francis	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
THIBAUT	Gilles	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

36 MAÎTRES DE CONFÉRENCES

ALLARD-VANNIER	Emilie	PHARMACIE GALENIQUE
AUBREY	Nicolas	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
BESSON	Pierre	PHYSIOLOGIE
BIRER-WILLIAMS	Caroline	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
BONNIER (disponibilité)	Franck	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
BORDY	Romain	PHARMACOLOGIE
BOUVIN-PLEY	Mélanie	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BRAIBANT	Martine	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BREDELOUX	Pierre	PHARMACOLOGIE
DAVID	Stéphanie	PHARMACIE GALENIQUE
DEBIERRE-GROCKIEGO	Françoise	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
DELAJE	Pierre-Olivier	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DENEVAULT	Caroline	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DOUZIECH-EYROLLES	Laurence	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
DUMAS	Jean-François	BIOCHIMIE GENERALE ET BIOTHERAPIE
GERMON	Stéphanie	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
GLEVAREC	Gaëlle	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE

Mise à jour du 01/09/2022

HERVE-AUBERT	Katell	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
JUSTE	Matthieu	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
LAJOIE	Laurie	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
LANOUE	Arnaud	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
MARC	Jillian	BIOMOLECULES ET BIOTECHNOLOGIES VEGETALES
MAVEL	Sylvie	CHIMIE THERAPEUTIQUE
ODIN	Audrey	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
POUPET	Cyril	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
PASQUALIN	Côme	PHARMACOLOGIE
PRIE	Gildas	CHIMIE ORGANIQUE
SOUCE	Martin	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
TAUBER	Clovis	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
VELGE-ROUSSEL	Florence	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
VERCOILLIE	Johnny	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
VERGOTE	Jackie	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
VIERRON	Emilie	SANTÉ PUBLIQUE, BIOSTATISTIQUES & ÉPIDÉMIOLOGIE
ZHANG	Bei-Li	PHARMACOLOGIE

3 MAITRES DE CONFÉRENCES ET PRATICIENS HOSPITALIERS

FOUCAULT-FRUCHARD	Laura	PHARMACIE CLINIQUE
FOUCAULT	Amélie	HEMATOLOGIE
MARLET	Julien	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

3 AHU (Assistant Hospitalier Universitaire)

POUPIN	Pierre	BIOSTATISTIQUES ET SANTE PUBLIQUE
RAMDANI	Yanis	IMMUNOLOGIE
TULOUP	Vianney	PHARMACIE CLINIQUE

3 ATER (Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche)

AMRANE	Dyhia	CHIMIE ORGANIQUE
MEHENNI	Lyes	CHIMIE ANALYTIQUE
VERGER	Alexis	PHARMACIE GALENIQUE

1 PRAG

WALTERS-GALOPIN	Susan	ANGLAIS
-----------------	-------	---------

1 contrat d'enseignement

GERBIER (contrat enseig)	Soledad	ANGLAIS
--------------------------	---------	---------

3 CHARGÉS DE RECHERCHE

EPARDAUD	Mathieu	INRAE
MEVELEC	Marie-Noëlle	INRAE
MOIRE	Nathalie	INRAE



SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes quim'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, maisaussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon étatpour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels ;

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dontj'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession ;

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens ;

De coopérer avec les autres professionnels de santé ;

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Date :27 juin 2022

L'étudiant

Mme BIEHLER Olga

Le Doyen de la Faculté Professeur

Professeur Denys BRAND

Table des matières

Table des figures	6
Table des tableaux	6
Table des abréviations	6
Glossaire des termes botaniques.....	8
Introduction	11
1. Partie théorique : <i>Hydnora abyssinica</i>	13
1.1. Classification	13
1.2. Description morphologique	14
1.2.1 Rhizome	14
1.2.2 Fleur	16
1.2.2.1 Fleur	16
1.2.2.2 Androcée.....	18
1.2.2.3 Gynécée	19
1.2.3 Fruit.....	19
1.2.3.1 Graines.....	20
1.3. Cycle de vie	20
1.4. Plante hôte.....	22
1.5. Implantation géographique	23
1.6. Analyse phytochimique.....	24
1.6.1. Organe souterrain.....	24
1.6.2 Fleurs	26
1.7. Usage traditionnel	27
1.8. Activité pharmacologique	28
1.8.1 Rhizome	28
1.8.2 Fleurs	30
1.9. Toxicité.....	30
1.9.1 Rhizome	30
1.9.2 Fleurs	31

1.10 Description organoleptique et analyse microscopique de la poudre du rhizome d' <i>Hydnora abyssinica</i>	32
2. Etude phytochimique réalisée au laboratoire	33
2.1 Extraction, fractionnement et caractérisation.....	33
2.1.1 Extraction de la plante	33
2.1.2 Chromatographie sur colonne LH-20.....	33
2.1.3 Regroupement des fractions (CCM-1)	33
2.1.4 Caractérisation des extraits	34
2.1.4.1 CCM des extraits aqueux, acétate d'éthyle et butanol.....	34
2.1.4.2 CCM Haute Performance des fractions F5 à F13 (CCMHP-1 et 2)	34
2.1.4.3 CLHP des fractions F5 à F13.....	35
2.1.4.4 CL-MS des fractions F5 à F13.....	35
2.2 Résultats	36
2.2.1 Screening préliminaire des extraits d' <i>Hydnora abyssinica</i>	36
2.2.2 Caractérisation des PAC dans l'extrait d'acétate d'éthyle d' <i>Hydnora abyssinica</i>	36
2.2.2.1 Caractérisation des monomères de PAC dans l'extrait acétate d'éthyle d' <i>Hydnora abyssinica</i>	37
2.2.2.1.1 Catéchine	37
2.2.2.1.2 Epicatéchine	38
2.2.2.2 Caractérisation des oligomères de PAC dans l'extrait acétate d'éthyle d' <i>Hydnora abyssinica</i>	38
La présence des procyanidines A2 et B2 a été confirmée par les 3 méthodes citées ci-dessus.	38
2.2.2.2.1 PAC A : Procyanidine dimère de type A	38
2.2.2.2.2 PAC B : Procyanidine dimère de type B	39
3. Discussion	41
Conclusion.....	46
Annexes.....	47
Bibliographie	53

Table des figures

FIGURE 1: RHIZOME SEC DE HYDNORA ABYSSINICA	15
FIGURE 2: ASPECT VERRUQUEUX DU PERIDERME DE HYDNORA ABYSSINICA	15
FIGURE 3: RHIZOME DE HYDNORA ABYSSINICA AVEC DES RACINES D'UNE PLANTE HOTE ATTACHEES A SA SURFACE	15
FIGURE 4: FLEURS DE HYDNORA ABYSSINICA EMERGEANTES DU SOL	16
FIGURE 5: TEPALES INCURVES DE HYDNORA ABYSSINICA	17
FIGURE 6: COTE VENTRALE D'UN TEPALE DE HYDNORA ABYSSINICA AVEC SON OSMOPHORE AU SOMMET	17
FIGURE 7: COUPE LONGITUDINALE DE LA FLEUR DE HYDNORA ABYSSINICA	18
FIGURE 8: FLEUR DE HYDNORA ABYSSINICA, LES ANTHERES DE COULEUR JAUNE FORMANT UN "V" INVERSE EN FACE DE CHAQUE TEPALE	18
FIGURE 9: FLEUR DE HYDNORA ABYSSINICA, LES ANTHERES FORMANT UN ANNEAU SINUEUX	18
FIGURE 10: FLEUR DE HYDNORA ABYSSINICA, STIGMATE TETRALOBE ET SESSILE	19
FIGURE 11: FRUIT EPIGYNE DE L'HYDNORA ABYSSINICA	19
FIGURE 12: FRUITS SECS DE HYDNORA ABYSSINICA AVEC LES TRACES DU STIGMATE TETRALOBE	20
FIGURE 13: COUPE LONGITUDINALE D'UN FRUIT DE HYDNORA ABYSSINICA	20
FIGURE 14: OUVERTURE COMPLETE DES TEPALES DE HYDNORA ABYSSINICA APRES LA POLLINISATION	21
FIGURE 15: CARTE DE GEOLOCALISATION DE HYDNORA ABYSSINICA SUR LE CONTINENT AFRICAIN	23
FIGURE 16: RHIZOME SEC DE HYDNORA ABYSSINICA ECRASE ET BROYE	32
FIGURE 17: ANALYSE MICROSCOPIQUE DES ELEMENTS DU RHIZOME DE HYDNORA ABYSSINICA	32
FIGURE 18: CCM DE 3 EXTRAITS : AQUEUX, ACETATE D'ETHYLE ET BUTANOLIQUE A 254 NM ET APRES LA REVELATION PAR FECL3 DE 2%.	36
FIGURE 19: CCMHP-2 (SYSTEME DE SOLVANTS DICHLOROMETHANE/ACETATE D'ETHYLE/ACIDE FORMIQUE 6/10/2) APRES LA REVELATION PAR ANISALDEHYDE AVEC 4 TEMOINS (CAT = CATECHINE, EPI = EPICATECHINE, PAC A2, PAC B2)	37
FIGURE 20: CHROMATOGRAMME DE CLHP DE LA FRACTION 7 AVEC LE SPECTRE UV A 210 NM	38
FIGURE 21: CHROMATOGRAMME DE CLHP LA FRACTION 13 AVEC LE SPECTRE UV A 210 NM	39
FIGURE 22: CHROMATOGRAMME DE CLHP DE LA FRACTION 9 AVEC LE SPECTRE UV A 210 NM	40

Table des tableaux

TABEAU I: CLASSIFICATION PHYLOGENETIQUE DU GENRE HYDNORA	13
TABEAU II: NOMS VERNACULAIRES DE L'HYDNORA ABYSSINICA	14
TABEAU III: LES ESPECES D'ACACIA SPP. CITEES EN TANT QUE "PLANTE-HOTE" DE HYDNORA ABYSSINICA	22
TABEAU IV: REGROUPEMENT DES FRACTIONS APRES CCM	34
TABEAU V: LES 2 SYSTEMES D'ELUTION UTILISES POUR LA RECHERCHE DES TANINS ET DES PAC	34
TABEAU VI: CLHP: GRADIENT D'ELUTION DE LA PHASE MOBILE (SOLVANT A: EAU, 0.01% TFA ET SOLVANT B: ACETONITRILE)	35
TABEAU VII: LISTE DES PACS DETECTES PAR CL-MS EN FONCTION DE TEMPS DE RETENTION	39

Table des abréviations

ABTS : acide 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique
 AE : acétate d'éthyle
 ASAT : aspartate aminotransférases
 AGE : advanced glycation end product
 ALAT : alanine aminotransférase
 CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
 CES : chromatographie d'exclusion stérique

CI₅₀ : concentration inhibitrice à 50%
CMI : concentration minimum inhibitrice
DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle
Hb : hémoglobine
IL : interleukine
MMP : métalloprotéases matricielles
MTT : bromure de 3- (4,5-diméthylthiazol-2-yl) -2,5-diphényltétrazolium
PAC : proanthocyanidines
PCR : Polymerase chain reaction
TFA : acide trifluoroacétique
tR : temps de rétention
TNF- α : facteur de nécrose tumorale alpha
TCMH : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine
VGM : volume globulaire moyen

Glossaire des termes botaniques

A

Actinomorphe (fleur) (*adj*)- qualifie une fleur dont les pièces sont disposées de manière symétrique par rapport à son axe (1).

Androcée- ensemble des pièces fertiles mâles d'une fleur (étamines) (2).

Angiosperme- plantes spermaphytes caractérisées entre autres par la présence de fleurs, carpelles et d'une double fécondation (1).

Anthèse (*nf*)- partie terminale du développement de la fleur depuis l'épanouissement jusqu'au flétrissement (1).

Autogamie (*nf*)- possibilité qu'a une fleur d'être fécondée par son propre pollen, de façon obligatoire ou facultative (1).

B

Binucléé (pollen)(*adj.*) -syn. bicellulaire ; qualifie les grains de pollen qui sont constitués d'une cellule végétative (celle du futur tube pollinique) et de la cellule spermatogène à partir de laquelle se formeront, dans le tube pollinique, les deux gamètes mâles, lors de la germination (3).

Bisexué (fleur) (*adj*)- hermaphrodite- qualifie une fleur possédant à la fois des étamines et des carpelles fonctionnels (1).

C

Carpelle (*nm*)- structure renfermant les ovules et constituée d'un ovaire, d'un stigmate et parfois d'un style (1).

D

Déhiscence (*nf*)-processus d'ouverture d'une structure close par fission (1).

E

Embryon (*nm*)- ensemble de cellules diploïdes, indifférenciées, dérivant d'un zygote (1).

Endosperme (*n.m*) - le tissu nourricier contenu dans les graines (4).

Epigé (*adj*)- qualifie tout ce qui pousse au-dessus du sol (1).

Epigyne (insertion de tépales) (*adj*)- qualifie une fleur dont l'ovaire immergé ou non dans le réceptacle est surmonté par les autres verticilles floraux (1).

Extrorse (*adj*)- il qualifie une étamine dont l'anthère s'ouvre vers l'extérieur de la fleur (5).

G

Glabre (*adj*)- dépourvu de poils (1).

Gynécée (*nm*)- ensemble des organes femelles, c'est-à-dire des carpelles (2).

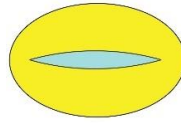
H

Haustorium- une racine modifiée, qui pénètre dans la plante hôte et se connecte à son système vasculaire ; il sert à la fois d'attachement et d'alimentation (6).

Holoparasite (*n.m*) - est un parasite obligatoire (la croissance et le développement dépendent de l'hôte) qui a perdu toute la chlorophylle et qui ne peut assimiler à lui seul le carbone et l'azote inorganique (6).

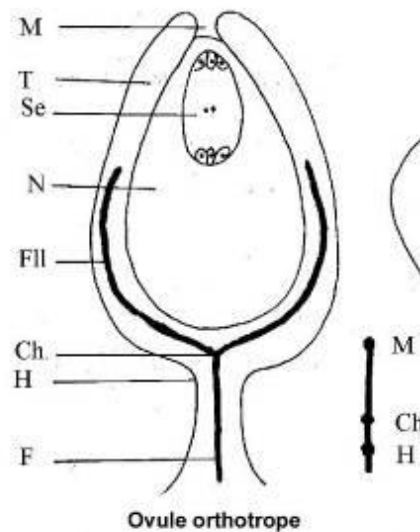
M

Monocolpé (pollen) (adj)- une forme longitudinale d'une aperture. L'aperture est une zone d'amincissement de la paroi pollinique (1).



O

Orthotrope (ovule) (adj)- qualifie un ovule dans lequel le hile, le micropyle et la chalaze sont alignés (1).



Ovaire (nm)- partie renflée du pistil qui contient les ovules et évoluera en fruit après fécondation (2).

P

Paléo-herbe- lignée primitive de l'herbacée (angiospermes) qui inclut l'ordre Pipérales (7).

Pédoncule (nm)- axe né à l'aisselle d'une bractée et portant la fleur, puis le fruit (2).

Péricarpe (nm)- partie externe d'un fruit, produit du développement de la paroi de l'ovaire, qui protège la graine (2).

Périderme (nm)- couche imperméable de cellules qui remplacent l'épiderme à la périphérie des vieilles tiges et des racines (8).

Périgone (nm)- périanthe formé de tépales (1).

Placenta (nm)- bourrelet plus ou moins saillant de la paroi de l'ovaire qui porte les ovules (1).

Pollen (nm)- élément reproducteur mâle, formé dans les anthères des étamines (2).

Pollinisation (nf)- transport du pollen depuis les étamines jusqu'aux stigmates (1).

Préfloraison (nf)-disposition des pétales dans le bouton floral (1).

Protogyne (adj)- qualifie une plante chez laquelle le gynécée est mature avant l'androcée de manière à éviter l'autopollinisation (1).

R

Rhizome (nm)- tige souterraine (1).

S

Sac pollinique (nm)- chacun des deux compartiments des loges polliniques de l'anthere (1).

Sessile (adj)- qualifie tout organe (feuille, fleur) dépourvu de pétiole ou de pédoncule (2).

Stigmate (nm)- extrémité du style destinée à la réception du pollen et lieu de sa germination (1).

Synandre (nm)- masse d'étamines (incluant les anthères) (9).

T

Ténuinucellé (ovule)(*adj*)- Qualifie les plantes à graines dont le nucelle est réduit à une mince couche de cellules, ou est complètement absorbé par l'albumen (10).

Tépale (nm)- désigne une pièce du périanthe quand celui-ci n'est pas différencié en calice et corolle (1).

Testa (nf)- Tégument externe de l'ovule et de la graine (11).

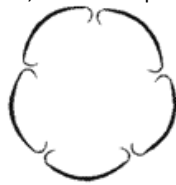
U

Uniloculaire (ovaire) (*adj*)- qualifie un gynécée dont l'ovaire possède une seule loge (2).

Unitegminé (*adj*)- qualifie un ovule ne possédant qu'un seul tégument (1).

V

Valvaire (préfloraison) (*adj*)- qualifie une préfloraison ou une estivation dans laquelle les pétales ou les sépales ne se recouvrent pas, tout au plus se touchant par leur marge (1).



Préfloraison valvaire

Verruqueux (adj)- hérissé de petites excroissances (2).

Vivace (adj)- qualifie une plante qui vit plusieurs années et qui a développé des structures particulières en relation avec ce mode de vie (1).

Introduction

Voici quelques exemples courants de questions posées quotidiennement par les clients en officine :

- « Avez-vous un sirop à base de plante contre la toux, pour mon enfant ? »
- « Je n'arrive pas à bien dormir ni à me détendre, que pourriez-vous me conseiller de naturel ? »
- « Mon père est âgé, il prend beaucoup de médicaments, il est tout le temps fatigué, que puis-je lui donner pour le booster, mais plutôt naturel ? »
- « J'allaite et je voudrais une tisane pour stimuler ma lactation »

Dans ce cadre, le pharmacien est amené à avoir une base solide de connaissances en phytothérapie pour donner un conseil bien adapté et personnalisé, cas de l'enfant-malade, femme enceinte, personne âgée et polymédiquée.

La phytothérapie moderne s'appuie sur les connaissances d'utilisation traditionnelle des plantes médicinales ; elles ont été approfondies grâce à des recherches en botanique, en phytochimie et parfois grâce à des études cliniques.

La pharmacognosie, en tant que science multidisciplinaire, intègre en soi toutes les données concernant une plante : son identification, sa description morphologique et anatomique, son origine et son mode de production, l'analyse de sa composition phytochimique et les facteurs qui peuvent l'influencer, ses propriétés physico-chimiques, pharmacologiques et sa toxicité (12).

Grâce aux études en phytochimie, deux types des métabolismes ont été découverts. Le métabolisme primaire caractérise les deux mondes, végétal et animal, tandis que le métabolisme secondaire est propre aux végétaux.

On distingue actuellement plusieurs classes de métabolites secondaires : phénylpropanoïdes, alcaloïdes, terpènes et stéroïdes (13)

Parmi des phénylpropanoïdes, un groupe attire particulièrement l'attention des scientifiques dans différents domaines, ce sont les tanins.

La structure chimique de ceux-ci est très variable, et se compose de plusieurs centaines de molécules uniques issues des plantes. Il est rare que deux espèces végétales partagent le même groupe de tanins. Même au sein d'un spécimen de plante une composition en tanins se différencie d'un organe à l'autre (feuille, racine, fruit). Pour autant, la composition en tanins de nombreuses espèces végétales reste encore inconnue.

Du point de vue biologique, les tanins jouent un rôle important dans la défense des plantes contre les insectes et les herbivores. Ainsi, les tanins condensés et les tanins hydrolysables précipitent des protéines qui rendent les tissus végétaux non nutritifs et désagréables pour les herbivores ; ou encore l'activité oxydante des ellagitannins est susceptible de provoquer un stress oxydatif chez les herbivores (14).

Les plantes à tanins sont utilisées largement en phytothérapie car elles possèdent des propriétés thérapeutiques ; les plus connues étant antidiarrhéique, antiseptique, antioxydante (12).

Parmi les plantes riches en tanins, on peut citer l'acacia, le quebracho, la vigne, le ratanhia, le chêne, les châtaigniers (12), (13). Toutes ces plantes ont un mode de vie photoautotrophe. Il existe néanmoins des plantes à tanins qui sont dénuées de chlorophylle, et qui mènent une vie parasitaire. Une de ces plantes-parasites, *Hydnora abyssinica*, va être au centre du sujet de ma thèse.

Le genre *Hydnora* appartient aux plantes holoparasites remarquables, néanmoins encore mal connues. Elle se répand sur des zones géographiques semi-arides : l'Afrique, Madagascar et l'Arabie méridionale. Le caractère morphologique extrêmement réduit du corps végétatif souterrain dépourvu de feuilles, avec apparition saisonnière de fleurs émergeantes du sol, procure à ce genre sa réputation : « the strangest plant in the world ». Elle appartient à l'une des branches de plantes parasites les plus anciennes parmi « les plantes à fleur » d'un point de vue phylogénétique (15). Bien que pratiquement inconnue en culture, cette plante est capable d'endommager les constructions immobilières, voire les infrastructures, par éclatement et craquement des murs et des chaussées (16). Sa floraison, imprévisible et totalement incernable, ainsi que sa capacité de propagation, évoque l'existence d'espèces encore inconnues et intéressantes à étudier.

Mon travail est composé de trois parties :

- Dans une première partie théorique, je vais décrire la classification phylogénétique de *Hydnora abyssinica*, sa géolocalisation, sa description morphologique, sa composition phytochimique ainsi que son activité pharmacologique et son usage traditionnel.
- Puis dans une deuxième partie pratique, je présenterai les travaux de phytochimie que j'ai réalisés au laboratoire EA 7502 SIMBA (méthode d'extraction, fractionnement des tanins, analyses instrumentales appliquées à la recherche des nouvelles molécules).
- Elle sera suivie d'une partie discussion sur les résultats obtenus.

1. Partie théorique : *Hydnora abyssinica*

1.1. Classification

Selon l'APG (l'Angiosperm Phylogeny Group), une classification phylogénétique du monde végétal, le genre *Hydnora* est placé de la manière suivante (17):

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheophyta</i> (Plantes vasculaires)
Super division	<i>Spermatophyta</i> (Plantes à graines)
Division	<i>Magnoliophyta</i> (Plantes à fleur)
Classe	<i>Magnoliopsida</i> (Dicotyledones)
Sous-classe	<i>Magnoliidae</i>
Ordre	<i>Pipérales</i>
Famille	<i>Hydnoraceae</i>
Sous-famille	<i>Hydnoroideae</i>
Genre	<i>Hydnora</i>

Tableau I: Classification phylogénétique du genre *Hydnora*

Il existe deux genres de plantes holoparasites obligatoires, les genres *Prosopanche* et *Hydnora*, qui étaient auparavant répertoriées dans la famille des *Hydnoraceae*, et qui appartiennent désormais à la famille *Aristolochiaceae* selon l'APG IV (2016) (18). Ce changement est basé sur les données de la génétique moléculaire (3).

D'après « The World Flora Online », le genre *Hydnora* compte aujourd'hui 7 espèces (19) :

- *Hydnora abyssinica* A. Braun (1867)
- *Hydnora africana* Thunberg (1775)
- *Hydnora esculenta* Jumell et Perrier (1912)
- *Hydnora longicollis* (Welwitsch) Bolin (1869)
- *Hydnora sinandevu* Beentje et Luke (2002)
- *Hydnora triceps* Drège et Meyer (1833)
- *Hydnora visseri* Bolin, Maass et Musselman (2011)

En 2018, une nouvelle espèce *Hydnora arabica* a été décrite (18).

Le tableau suivant présente à titre informatif quelques noms vernaculaires de *Hydnora* selon le pays, la langue ou le dialecte.

Territoire	Nom vernaculaire
Soudan	Tartous (17)
Afrique du sud (<i>Zulu et Xhosa</i>)	uMavumbuka « Pousse sous » (20)
Afrique du sud, mozambique (<i>xitsonga et xichangana</i>)	Mavumbule (20)
Botswana, Afrique du sud, Zimbabwe, Namibia (<i>Setswana /Tswana</i>)	Lethole (21)
Zaïre (dialecte <i>kisela</i>)	Tutu-muji (22)
Péninsule arabique	Dhanuna (18)
Kenya (<i>kamba/kikamba/ Embu</i>)	Kimela (23) /Ndonga (24) /mutumurathi (25)

Nigeria (<i>ngas et haoussa</i>)	Kurshim et Kaushekasa (26)
Ethiopie (<i>oromo/somali</i>)	Tuka/ likki, likeh, dise (21)

Tableau II: Noms vernaculaires de l'*hydнора abyssinica*

Les synonymes de *Hydnora abyssinica* A.Braun pouvant être retrouvés dans la littérature sont (19):

- *Hydnora abyssinica* var. *quinquefida* Engl.
- *Hydnora aethiopica* Decne.
- *Hydnora angolensis* Decne.
- *Hydnora bogosensis* Becc.
- *Hydnora cornii* Vaccaneo
- *Hydnora gigantea* Chiov.
- *Hydnora gigantea* var. *trimera* Chiov.
- *Hydnora hanningtonii* Rendle
- *Hydnora johannis* Becc.
- *Hydnora johannis* f. *quinquefida* (Solms) Vaccaneo
- *Hydnora johannis* f. *trimera* (Chiov.) Vaccaneo
- *Hydnora johannis* var. *gigantea* (Chiov.) Vaccaneo
- *Hydnora johannis* var. *quinquefida* (Engl.) Solms
- *Hydnora michaelis* Peter
- *Hydnora ruspolii* Chiov.
- *Hydnora solmsiana* Dinter

1.2. Description morphologique

Hydnora abyssinica est une paléoherbe vivace avec des signes morphologiques propres à une plante holoparasite. Tout d'abord ses racines sont réduites en « haustoria », le tissu photosynthétique est absent et enfin ses organes de reproduction sont achlorophylles (26), (27).

On distingue 2 structures : végétative et reproductive. La végétative est représentée par un corps entièrement souterrain et la reproductive est une fleur partiellement épigée (28).

1.2.1 Rhizome

Le corps souterrain par sa structure morphologique est un rhizome qui peut atteindre 12 cm de diamètre(29). Une forme cylindrique ou parfois aplatie est apparente en coupe transversale (Fig. 1). Ce rhizome possède un système massif de ramifications propagées parallèlement et latéralement d'une plante-hôte ; il est fermement charnu et succulent. Sa couleur interne peut varier du rouge brique au rose rougeâtre ; son exsudat est rouge, collant, extrêmement amer et astringent à l'état frais. (28), (30).



Figure 1: Rhizome sec de *Hydnora abyssinica*

Le périoderme est brun foncé à beige clair avec un aspect verruqueux (Fig. 2) car il est orné de nombreux appendices tuberculés. Ils sont répartis sur le rhizome de façon irrégulière et aléatoire, d'une taille de 3-4 mm en forme d'étoile. La majorité des « bosses » est dormante (28), (29).



Figure 2: Aspect verruqueux du périoderme de *Hydnora abyssinica*

A l'occasion, elles peuvent se différencier en bourgeons floraux, branches latérales ou haustorium en cas de contact avec des racines d'une plante-hôte (Fig. 3) (28), (31).



Figure 3: Rhizome de *Hydnora abyssinica* avec des racines d'une plante hôte attachées à sa surface

1.2.2 Fleur

1.2.2.1 Fleur

Les fleurs sont solitaires ou dispersées à distance, en émergeant partiellement du sol (partiellement épigée) (Fig. 4) (18) (28).



Figure 4: Fleurs de *Hydnora abyssinica* émergentes du sol

Chaque fleur est actinomorphe, sessile ou subsessile (pédicelle 4-9 cm) dont la longueur varie de 18 à 30 cm et dépend de la profondeur de la racine.

Le périgone est composé de 4 (rarement 3 ou 5) tépales charnus à préfloraison valvaire et d'insertion épigyne (Fig. 5).

Les tépales sont soudés à la base de la fleur en formant une partie tubulaire qui reste dans le sol. Une partie apicale émergeant du sol se présente sous forme de 4 lobes légèrement ouverts au début de la floraison. Ces lobes sont trilatéraux, charnus, incurvés et valvulaires. Leur longueur est de 6 à 8 cm.

Les facettes externes de ces lobes sont brunes ou brun-rougeâtre et d'aspect écailleux.

Les facettes internes sont blanches à rose pâle, parfois rouges à orange et revêtues de soies partout sauf au sommet (Fig. 6).

Précisément, au sommet de chaque lobe se trouve un osmophore. Il s'agit-là d'un tissu glandulaire où aura lieu la synthèse de substances volatiles importantes pour le processus de la pollinisation. Cet osmophore est glabre. Il peut être de couleur abricot, crème ou blanc.



Figure 5: Tépales incurvés de *Hydnora abyssinica*



Figure 6: Côte ventrale d'un tépale de *Hydnora abyssinica* avec son osmophore au sommet

La fleur est protogyne et bisexuée. Ses organes reproducteurs se trouvent dans sa partie tubulaire (Fig.7). Ils se présentent sous forme de 2 « chambres » : la première dite « androeciale » est positionnée au-dessus de la deuxième dite « gynoeciale », les deux sont reliées par un orifice central. La surface interne des deux chambres est glabre, à noter la couleur blanc ou rose clair de la chambre « androeciale » (18), (28), (30), (31), (32).

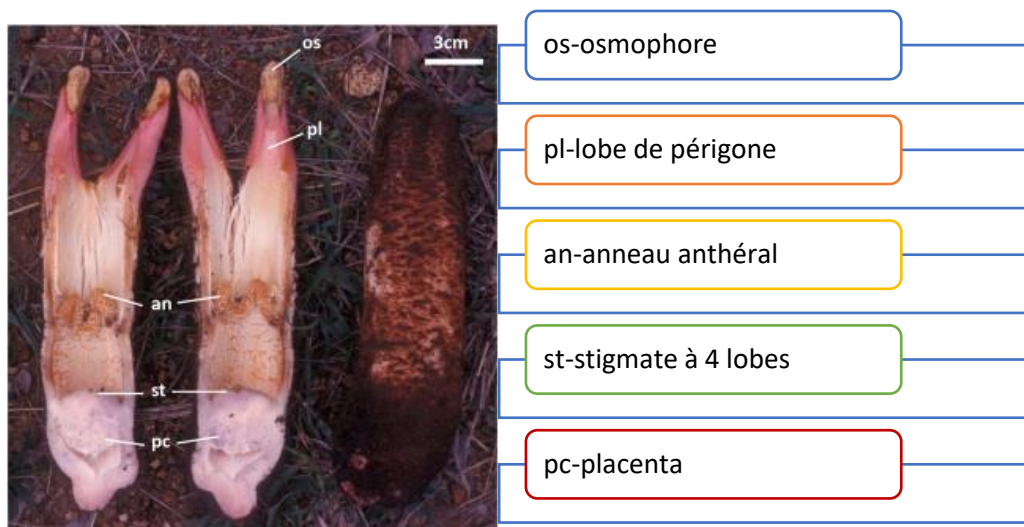


Figure 7: Coupe longitudinale de la fleur de *Hydnora abyssinica*

1.2.2.2 Androcée

L'androcée synandre est soudé au tube floral aux 2/3 de la hauteur.

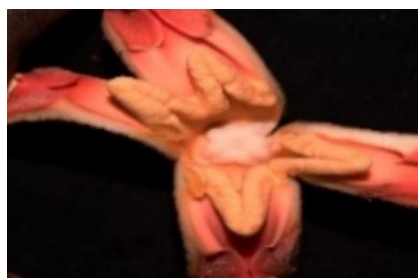


Figure 8: Fleur de *Hydnora abyssinica*, les anthères de couleur jaune formant un "V" inversé en face de chaque tépale

Les anthères nombreuses, sessiles se joignent continuellement à leurs bases dans une série de grands « V » inversés formant un anneau sinueux, et s'opposent face aux tépales (Fig. 8). Elles sont striées transversalement et divisées en de très nombreux sacs de pollen. Ces sacs polliniques sont horizontaux à la déhiscence longitudinale et extrorse (Fig. 9).



Figure 9: Fleur de *Hydnora abyssinica*, les anthères formant un anneau sinueux

Le pollen est monocolé, binucléé, et très collant ; il adhère aux anthères (32), (33), (34), (35).

1.2.2.3 Gynécée

Le gynécée est composé de 4 carpelles (rarement 3 ou 5) (Fig. 10). Le stigmate sessile est en forme de coussin tétralobé (rarement 3 ou 5) dont chaque lobe finement nervuré est recouvert d'un liquide brun.



Figure 10: Fleur de *Hydnora abyssinica*, stigmate tétralobé et sessile

L'ovaire est infère et uniloculaire avec de nombreux placentas repliés et localisés au sommet de la cavité ovarienne. Les ovules nombreux sont orthotropes, pendants, unitegminés et tenuinucellés (28), (31), (33), (34).

1.2.3 Fruit

Le fruit est généralement une baie entièrement hypogée ; néanmoins, il se trouve parfois dans la nature des cas de fruits épigés (Fig. 11). Elle est charnue globuleuse de 4-15 cm de diamètre. Le péricarpe externe est brun noirâtre, épais, coriace et écailleux. Le péricarpe interne est farineux, blanc, sucré et riche en amidon. Le goût et la texture du placenta fruitier sont similaires à ceux du péricarpe interne (28), (31), (36).



Figure 11: Fruit épigyne de l'*Hydnora abyssinica*

Une cicatrice reste visible au-dessus du fruit sec, et marque l'endroit du stigmate tétralobé et le lieu de fixation du tube floral (Fig. 12). (28)



Figure 12:Fruits secs de *Hydnora abyssinica* avec les traces du stigmate tétralobé

1.2.3.1 Graines

Les graines nombreuses, globuleuses ou oblongues, sont de très petite taille (1-1,7 mm), leur testa est dur et épais. L'embryon est petit, indifférencié et entouré d'endosperme (Fig. 13), (31), (33).



Figure 13:Coupe longitudinale d'un fruit de *Hydnora abyssinica*

1.3. Cycle de vie

Un pied de rhizome peut se propager sur une surface de 1,2 m de diamètre et donner de 20 à 40 fleurs en une saison (22).

La période d'émergence des fleurs suit généralement celle du début des pluies (36).

La période de floraison est composée de 4 étapes successives : le bourgeonnement, la maturation du gynécée, la transition (quand le pollen se libère partiellement) et la maturation de l'androcée (37).

Comme pour toutes les plantes à fleur, la pollinisation joue un rôle crucial pour la reproduction sexuée de *Hydnora abyssinica*. La réalisation de ce processus nécessite l'implication d'un vecteur pollinique externe (38).

Pour *Hydnora abyssinica*, ce sont des insectes (Fig. 14) tels le coléoptère ténébrionidé moisi (*Eurychora* sp.) et de nombreux scarabées (non identifiés). Les insectes attirés par les signaux visuels et olfactifs rampent alors dans la partie tubulaire de la fleur au stade de la maturation du gynécée. Ils peuvent se déplacer entre les 2 chambres androéciale et gynéciale, mais ils sont retenus temporairement dans la fleur à cause de la paroi glabre et verticale de la chambre androéciale. Puis la fleur arrive à l'étape de la maturation de l'androcée et le pollen est libéré,

les insectes peuvent s'échapper parce que la paroi intérieure de la chambre androéciale change sa texture (37).



Figure 14: Ouverture complète des tépales de *Hydnora abyssinica* après la pollinisation

Vu que la maturation de l'androcée arrive après la maturation du gynécée cela permet d'éviter l'autogamie et favoriser la pollinisation croisée (38).

Pour attirer les insectes les plantes appliquent des stratégies différentes.

La famille Hydnoracée est caractérisée par un type de stratégie bien particulier, défini comme « l'imitation du site de ponte » (39) ou « brood-site mimicry » (15). On peut trouver dans la littérature ainsi « une tromperie du site de couvain » ou « le mimétisme trompeur des sites de reproduction » (38).

La fleur trompeuse émet des signaux olfactifs, visuels, sensoriels, pour attirer les insectes, majoritairement femelles gravides, qui sont à la recherche d'un site de ponte des œufs. Parfois les mâles, en cherchant l'opportunité d'accouplement, peuvent être également attirés par ces signaux.

Le substrat de pont imité par *Hydnora* sp. appartient à la classe « charogne et chair pourrie ». Les signaux olfactifs jouent un rôle principal dans l'attraction des insectes. Au moment de l'anthèse, les osmophores libèrent les substances volatiles à l'odeur fétide, en mimant l'odeur de la charogne. Cette période de libération des substances volatiles s'accompagne d'une thermogenèse des osmophores surtout pendant la maturation du gynécée. Cette élévation de la température permet d'augmenter la volatilisation des substances attirant les insectes (38).

Les signaux visuels tels : la forme, la grande taille de la fleur, des couleurs ternes, sont là pour mimer un animal mort (38).

La maturation du fruit souterrain dure environ 5 mois après l'anthèse (28).

Les graines d'*Hydnora* spp. peuvent être dispersées par les porcs-épics, singes, chacals, rhinocéros et par l'Homme (33).

1.4. Plante hôte

L'*Acacia* est un genre de plante mentionnée dans plusieurs articles comme « hôte principal » de *Hydnora abyssinica*. Il appartient à la famille des *Fabaceae* (28).

Il est désigné parmi les espèces particulièrement riches en tanins. Ces métabolites secondaires se trouvent principalement dans l'écorce des arbres (40), (15).

1	<i>Acacia albida</i> Del.
2	<i>Acacia cyanophylla</i> Lindl
3	<i>Acacia luederitzii</i> Engl.
4	<i>Acacia nilotica</i> (L.) Willd.
5	<i>Acacia seyal</i> Del.
6	<i>Acacia tortilis</i> (Forssk.) Hayne (as A. "heteracantha")
7	<i>Acacia uncinata</i>
8	<i>Acacia xanthophloea</i> Benth
9	<i>Acacia karroo</i> Hayne
10	<i>Acacia caffra</i> (Thunb.) Willd
11	<i>Acacia robusta</i> Burch. subsp.
12	<i>Acacia burkei</i> Benth.
13	<i>Acacia nigrescens</i> Oliv
14	<i>Acacia ataxacantha</i>
15	<i>Acacia sieberiana</i> DC. var. <i>woodii</i> (Burt Davy) Keay & Brenan
16	<i>Acacia kraussiana</i> Meisn. ex Benth.
17	<i>Acacia grandicornuta</i>
18	<i>Acacia sieberiana</i> DC. var. <i>vermoeseni</i> (De Wild) Keay & Brenan
19	<i>Acacia polyacantha</i> subsp. <i>campylacantha</i> (Hochst. Ex A.Rich)
20	<i>Acacia glaucophylla</i> (Steud. Ex. A.Rich)

Tableau III: Les espèces d'*Acacia* spp. citées en tant que "plante-hôte" de *Hydnora abyssinica*

Sachant qu'une plante holoparasite dépend de son hôte, la connaissance de la répartition des espèces hôtes permet d'envisager les zones d'habitat de *H. abyssinica*.

Vu que *H. abyssinica* possède un vaste système de rhizomes souterrains qui se propage loin de l'hôte et que des systèmes racinaires latéraux d'une surface allant jusqu'à 16 m ont été observés chez *Acacia tortilis* (Forssk.) Hayne (41), il est probable que *H. abyssinica* poussera au-delà du bord de la cime de l'arbre hôte. Par conséquent, les espèces non *Fabaceae* pourraient être associées à tort en tant qu'hôtes à moins que les rhizomes ne soient excavés pour déterminer l'hôte réel.

Pour identifier à quelle espèce appartiennent les racines attachées au rhizome de *Hydnora* sp., la technologie du « code-barre ADN » peut être appliquée (18).

Elle est basée sur la détermination d'une séquence de l'ADN de l'espèce identifiée par des taxonomistes. Cette séquence doit être assez courte pour être facilement amplifiée par PCR. Elle peut être variable entre les espèces, mais elle doit être conservée au sein d'une même espèce. Cette méthode permet de reconstituer une base de données génétiques dans le monde vivant, et peut être utilisée lors d'une identification de spécimen.

Cette technologie peut être employée comme un outil médico-légal si le diagnostic des caractères morphologiques est insuffisant (42).

Le rhizome charnu et succulent d'*Hydnora abyssinica* peut jouer un rôle important dans un équilibre hydrique dans les zones semi-arides. Peu de choses sont connues sur l'interaction entre l'hôte et le parasite, néanmoins il est probable que le parasite fournisse de l'eau à l'hôte en échange de nutriments. Dans ce cas la relation est plutôt commensale que parasitaire.

L'osmose des rhizomes peut également aboutir à l'humidification du sol environnant, stimulant ainsi la croissance des racines de l'hôte vers le rhizome de *Hydnora*. Dès que le rhizome rentre en contact avec des racines, les « bosses » se différencient en haustorium (16).

1.5. Implantation géographique

Hydnora spp. est répandue dans les zones arides ou semi-arides de l'Afrique, la péninsule arabique et Madagascar (Fig. 15) (33).

Hydnora abyssinica a été observée en Namibie, en Afrique du Sud, au Swaziland, au Mozambique, en Ethiopie, en Somalie (43), au Botswana, au Zimbabwe, au Soudan (30), en Tanzanie (31), en Uganda (44), au Kenya (45), en République Démocratique du Congo, en Angola, au Malawi (46) et encore au Gabon, au Nigeria (26) et au sud de l'Arabie Saoudite (18).



Figure 15: Carte de géolocalisation de *Hydnora abyssinica* sur le continent africain

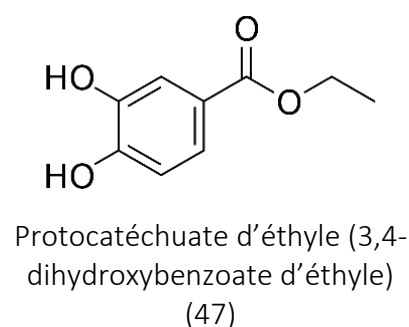
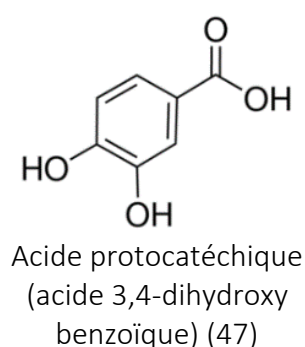
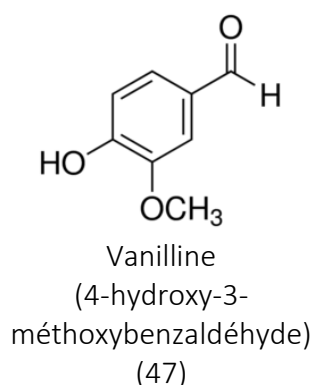
1.6. Analyse phytochimique

1.6.1. Organe souterrain

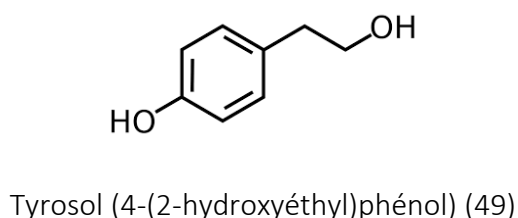
Un screening réalisé sur un extrait méthanolique (17), (45) et un extrait éthanolique (47) a confirmé la présence de composés phénoliques, flavonoïdes et tanins en particulier des proanthocyanidines. Selon l'étude(45), il a également été mis en évidence des alcaloïdes, des hétérosides cardiotoniques, des anthracénosides, des stéroïdes, des acides gras et des terpénoïdes. Des saponosides et des tanins ont été détectés dans l'extrait aqueux (48), alors qu'il n'a pas été démontré dans d'autres études de présence de saponosides et de coumarines (17), (45).

Différents composés ont pu être isolés de cette plante. Sept molécules ont été retrouvées dans un extrait éthanolique.

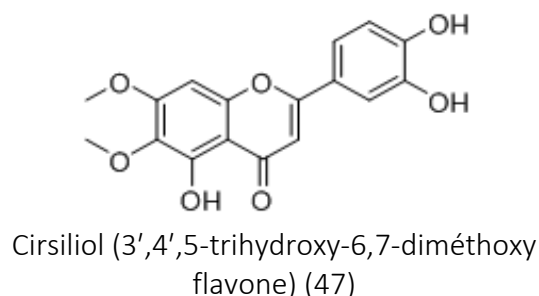
1. Dérivés de l'acide benzoïque



2. Alcools phénoliques



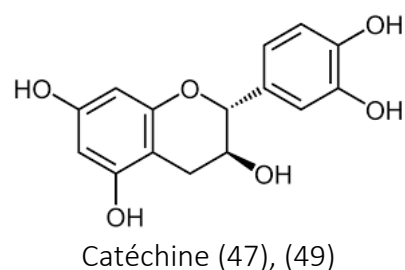
3. Flavones



4. Dihydroflavonol

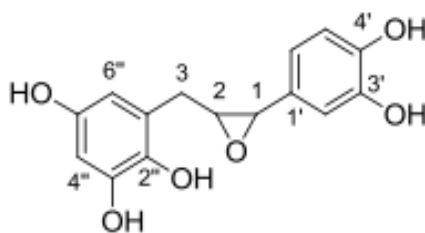


5. Flavanols



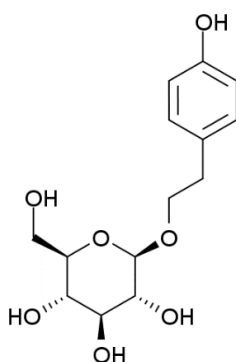
Au laboratoire de Pharmacognosie de la Faculté de Pharmacie à Tours, 2 nouvelles molécules ont été isolées à partir d'un extrait méthanolique, en 2016 (17).

1. Phénylpropanoïdes



Katsumadine (17)

2. Hétéroside d'alcool phénolique



Rhodioloside ou salidoside
(2-(4-Hydroxyphényl)éthyle- β -D-glucopyranoside) (17)

Quatre produits apolaires ont été mis en évidence après chromatographie de la fraction acétate d'éthyle (AE) sur colonne de silice «Supelco equity1» éluée par l'éther de pétrole (47).

1. Acides gras monoinsaturés



Acide oléique ou acide octadécanoïque (50)

2. Acides gras saturés

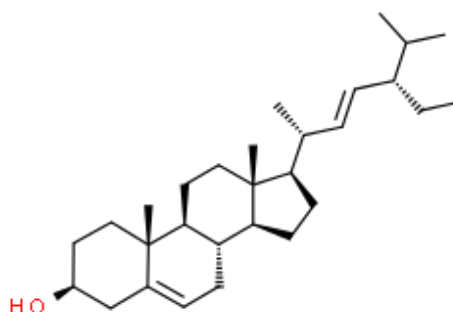


Acide myristique ou acide tétradécanoïque (51)



Acide palmitique ou acide hexadécanoïque ou acide cétylique (52)

3. Stéroïdes



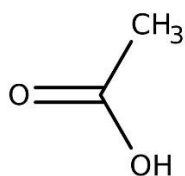
Stigmastérol ou 24-éthylcholesta-5,22-dien-3 β -ol (53)

1.6.2 Fleurs

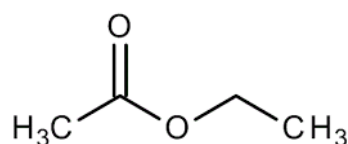
Le screening des différents extraits floraux montre les résultats suivants ; les extraits réalisés avec des solvants polaires (AE, éthanol et méthanol) donnent les réactions positives pour des composés phénoliques, flavonoïdes et tanins. Les extraits obtenus avec des solvants apolaires (*n*-hexane et dichlorométhane) contiennent des acides gras, triglycérides, monoterpènes et des huiles essentielles (54).

Plusieurs substances ont été isolées de la fraction AE des fleurs (54):

1. Acides carboxyliques et dérivés

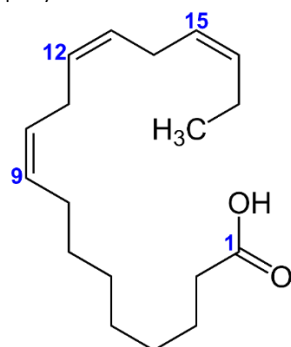


Acide acétique (55)



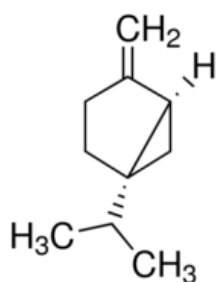
Acétate d'éthyle (56)

2. Acides gras polyinsaturés

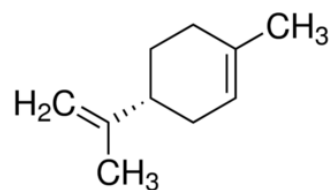


Acide alpha-linolénique (57)

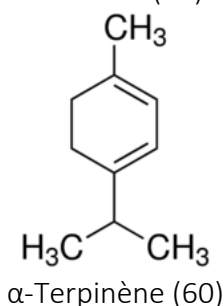
3. Monoterpènes cycliques



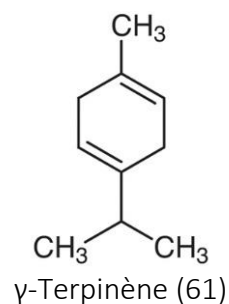
Sabinène (58)



D-Limonène (59)

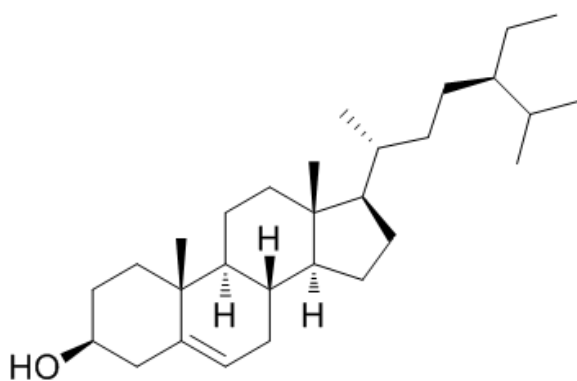


α-Terpinène (60)

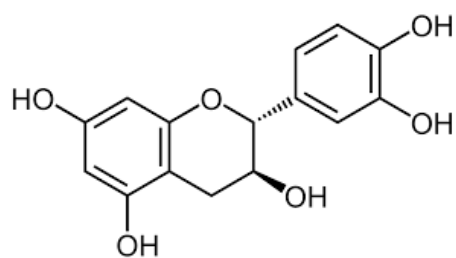


γ-Terpinène (61)

4. Stéroïdes



β-Sitostérol (62)



Catéchine

5. Flavanol

1.7. Usage traditionnel

La plante est largement utilisée dans la médecine traditionnelle. Dans certaines populations, les fruits et les fleurs sont utilisés pour un usage alimentaire (30), (54). Compte tenu de sa richesse en tanins, le rhizome d'*Hydnora abyssinica* est utilisé pour le tannage (18), (30). En Oman, on utilise les fruits dans ce but (54). Au Zaïre, la décoction du rhizome écrasé est utilisée pour la restauration de la fertilité du sol (22).

Les nombreuses études faites dans différents pays d'Afrique et de la péninsule arabique citent que la décoction ou l'infusion du rhizome écrasé ou broyé en poudre est majoritairement utilisée par la population dans un but médical (24), (45). Au Soudan, le rhizome sec peut être utilisé comme le charbon (probablement pour son effet absorbant) (30).

L'effet principal de cette plante est antidiarrhéique (26),(21).

En Afrique de sud, elle est utilisée contre des affections intestinales, acné, crampes d'estomac, saignements, hémorroïde, problèmes menstruels (43).

En Ethiopie, elle est indiquée contre des infections buccales, plaies, hémorragies, œdèmes douloureux (21).

Au Kenya, l'usage traditionnel de *Hydnora abyssinica* est très large. Par exemple, elle est recommandée en cas d'infections telles la dysenterie amibienne, typhoïde, anthrax, pneumonie et pour traiter les cancers du sein et de la prostate. Elle est aussi utilisée dans la pratique obstétricale pour enlever le placenta retenu pendant l'accouchement, en cas d'hémorragie du postpartum (25), (45) et en prévention des avortements pendant toute la période de la grossesse (63). Enfin, la population l'utilise pour traiter les maux de gorge, le muguet, les maux d'estomac et les plaies (24).

Au Nigeria, selon la médecine traditionnelle, *Hydnora abyssinica* est préconisée contre la dysenterie, maux d'estomac, hémorroïde, en cas de faible érection, et comme antibiotique (26).

Au Soudan, cette plante est indiquée en cas de choléra, dysenterie, angine et œdèmes (47), (48), (49).

Au Zaïre, la plante est administrée pour soulager les jambes et les pieds gonflés (22).

Au Yémen du Sud, des fleurs sèches broyées se mélangent avec du lait ou de l'eau pour traiter différentes maladies d'estomac, d'ulcère gastrique et le cancer (54).

Quelques études évoquent l'utilisation de cette plante dans le monde animal. Les singes utilisent les fruits dans leur nourriture, les chèvres mangent des bourgeons floraux. Les éléphants et rhinocéros excavent le rhizome et l'utilisent dans leur nourriture pendant la sécheresse du fait de son contenu hydrique important (30).

Au Kenya, le rhizome d'*Hydnora abyssinica* est utilisé contre « la fièvre de la côte orientale » : infection des bovins causée par un protozoaire-parasite *Theileria parva*, et transmise par les tiques (25), (64).

1.8. Activité pharmacologique

1.8.1 Rhizome

Plusieurs études *in vivo* et *in vitro* effectuées sur différents extraits d'*Hydnora abyssinica* démontrent une activité anti-diarrhéique, antioxydante, antiglycation, antifongique, antibactérienne, molluscicide, antiproliférative, immunosuppressive et anti-inflammatoire.

L'activité anti-diarrhéique dose dépendante de l'extrait aqueux d'*Hydnora abyssinica* a été démontrée *in vivo* sur des rates. La diarrhée expérimentale induite par l'huile de ricin a été traitée par différentes concentrations d'extrait aqueux (concentrations 100, 200 et 400 mg/kg). L'activité antidiarrhéique de *H. abyssinica* a été comparée à celle du lopéramide. Des résultats montrent que cet extrait aqueux agit sur deux paramètres : la diminution de la fréquence d'excrétions ainsi que de la masse fécale. L'autre observation intéressante de cette étude est que la dose minimale de l'extrait est déjà efficace dès les premières heures après la prise (44).

Deux études ont démontré les propriétés antioxydante et antiglycation des deux extraits aqueux et éthanolique (65), (66).

Pour estimer la capacité antioxydante des extraits éthanolique et aqueux, deux tests ont été effectués : test ABTS et test DPPH.

Cette capacité antioxydante se base sur le principe de piégeage des radicaux libres par des antioxydants issus des substances biologiques. Elle est mesurée par l'analyse spectrométrique. Selon les résultats de ces deux tests, l'extrait éthanolique possède une propriété antioxydante plus élevée que l'extrait aqueux.

La propriété de l'antiglycation est démontrée par un test de l'albumine sérique bovine glyquée (BSA-glucose).

L'hyperglycémie peut aboutir à la formation de protéines glyquées qui sont ensuite transformées en produits finaux de glycation avancée (AGE). L'accumulation de ces AGE cause un stress oxydatif et joue un rôle important dans la pathogenèse des complications du diabète (67).

Les deux extraits aqueux et éthanolique inhibent la formation des AGE (65),(66). Cette inhibition des AGE est plus forte avec l'extrait éthanolique (66).

L'activité antifongique d'*Hydnora abyssinica* est testée dans l'étude (68). Les trois extraits aqueux, méthanolique et chloroformique inhibent la croissance des souches suivantes : *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum audouinii*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton concentricum*, *Trichophyton tonsuran*, *Candida albicans*. Deux paramètres influencent cette activité. Le premier, c'est la concentration, où l'activité baisse avec la diminution de la concentration. Le deuxième, c'est le type d'extrait avec une bioactivité de l'extrait aqueux nettement supérieure à celles de l'extrait méthanolique et de l'extrait chloroformique.

L'extrait éthanolique à la concentration de 100 mg/mL a démontré par ailleurs une activité inhibitrice sur *Aspergillus niger* (69).

Enfin, selon l'étude (16) les deux extraits aqueux et éthanolique sont actifs contre *Microsporum canis*.

L'activité antibactérienne est confirmée par plusieurs études.

L'extrait aqueux est actif contre *Enterococcus faecalis* (CMI 16 µg/mL), *Staphylococcus aureus* (CMI 64 µg/mL), *Bacillus subtilis* (CMI 64 µg/mL), *Bacillus cereus* (CMI 64 µg/mL) (47). Ces activités ont été confirmées dans l'étude (65). De plus, l'activité contre les souches de *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* a été rapportée à la concentration de 100 mg/mL (68), (69). Cependant l'activité de l'extrait aqueux contre des agents pathogènes responsables de la diarrhée tels que *Salmonella spp*, *Shigella spp* et *Yersinia spp* n'a pas été démontrée (47). L'extrait alcoolique est également efficace contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (68), (69),(48) et *Enterococcus faecalis* (47).

Activité molluscicide de l'extrait aqueux d'*Hydnora abyssinica*, contre *Bulinus truncatus* (un hôte intermédiaire de *Schistosoma haematobium*) et *Biophalaria pfeifferi* (un hôte intermédiaire de *Schistosoma mansoni*), est citée dans les études (49) et (70).

L'activité anticancéreuse d'*Hydnora abyssinica* a été démontrée dans l'étude (71) sur deux lignées cellulaires de cancer du sein humain (HCC 1395) et une lignée cellulaire de souris (4T1). Deux extraits aqueux et méthanolique d'une concentration de 10 mg/ml ont été analysés. Le 5-fluorouracile et le cyclophosphamide ont été choisis comme molécules de référence.

L'extrait méthanolique montre une activité puissante contre la lignée cellulaire HCC 1395 avec une CI_{50} de $27,20 \pm 1,1$ µg / ml, en comparaison du 5-fluorouracile (CI_{50} de 38.8 ± 7.56 µg/ml) et

du cyclophosphamide (CI_{50} de $32.8 \pm 1.1 \mu\text{g/mL}$). Il est aussi actif contre la lignée cellulaire murine 4T1 avec une CI_{50} de $22,9 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$ tandis que le 5-fluorouracile et le cyclophosphamide ont été inactifs dans ce cas.

L'extrait aqueux également possède une activité contre la lignée cellulaire 4T1.

L'effet immunosuppresseur est évalué dans l'étude (49). Les deux essais réalisés sont un test de prolifération des lymphocytes T et un test de l'activité phagocytaire des leucocytes polynucléaires et mononucléaires (test de chimioluminescence). Cinq concentrations différentes de l'extrait éthanolique ont été testées ($6.25 \mu\text{g/mL}$, $12.5 \mu\text{g/mL}$, $25 \mu\text{g/mL}$, $50 \mu\text{g/mL}$ et $100 \mu\text{g/mL}$). Les résultats du premier test ont montré une inhibition dose-dépendante de la prolifération des lymphocytes entre 67% et 97%. Le deuxième test a démontré l'effet inhibiteur de la phagocytose sur les polynucléaires neutrophiles humains (de 45% à 90%) et sur les cellules mononucléées (de 30% à 65%).

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique est confirmée par le test de piégeage du radical anion superoxyde (49). La formation de ce radical superoxyde influence considérablement la réaction inflammatoire aigue dirigée par les neutrophiles (72). L'extrait éthanolique de *Hydnora abyssinica* inhibe la production de superoxyde de 42% à 72% en fonction de la concentration en extrait.

1.8.2 Fleurs

Les activités antibactérienne, antifongique et antioxydante ont été analysées dans l'étude (54).

Le test DPPH réalisé avec 5 extraits différents (dichlorométhane, acétate d'éthyle, éthanol, méthanol, eau) à des concentrations de 10, 50, 100, 500, 1000 $\mu\text{g/mL}$ a démontré que tous ces extraits possédaient une activité antioxydante, l'extrait méthanolique étant le plus actif et l'extrait aqueux le plus faible.

Les extraits acétate d'éthyle, méthanolique et aqueux sont actifs contre *Candida albicans* et *Candida krusei* (54).

Les extraits dichlorométhane, acétate d'éthyle, méthanol et éthanol inhibent la prolifération des *Bacillus subtilis*, *Micrococcus flavus* et *Staphylococcus aureus* (54).

Aucun extrait n'a démontré d'activité antibactérienne contre les bactéries Gram-négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) (54).

1.9. Toxicité

1.9.1 Rhizome

La toxicité de *Hydnora abyssinica* a été évaluée *in vitro* par les tests de cytotoxicité et *in vivo*. Les trois types d'extraits (aqueux, éthanolique et méthanolique) ainsi que la poudre du rhizome pulvérisé ont été analysés.

Les tests de cytotoxicité ont été effectués dans trois études (47), (49), (71).

Les deux extraits aqueux et éthanolique à des concentrations de 1 $\mu\text{g/mL}$ et 10 $\mu\text{g/mL}$ ont été testés sur des cellules KB (lignée cellulaire d'un carcinome épidermoïde buccal humain) et des

cellules MRC5 (lignée cellulaire non-cancéreuse du poumon embryonnaire humain). L'extrait aqueux 10 µg/mL et l'extrait éthanolique 10 µg/mL montrent une toxicité modérée sur la lignée KB, avec un taux d'inhibition cellulaire de 65 ± 3 % et 41 ± 5 % respectivement. Les mêmes extraits à la concentration de 1 µg/mL n'étaient pas cytotoxiques. Tous ces extraits testés sur des cellules MRC5 n'ont pas démontré de cytotoxicité (47).

Dans l'étude (49), le test MTT est réalisé sur une lignée cellulaire de fibroblastes murins (3 T3). L'extrait éthanolique à des concentrations de 6.25, 12.5, 25 et 50 µg/mL n'a pas démontré d'activité cytotoxique.

Selon les résultats de l'étude (71), l'extrait aqueux est dénué de toxicité sur les cellules VERO E6 (lignée cellulaire de cellules épithéliales normales du singe vert africain) mais l'extrait méthanolique est légèrement toxique.

Les deux études *in vivo* sont effectuées sur les rats.

Selon étude (65), la poudre du rhizome pulvérisé (à 2%, 10% et 20% dans l'alimentation pendant 8 semaines), ainsi que l'extrait éthanolique (à 10, 100, 200 et 400 mg/kg/jour pendant 2 semaines) sont toxiques pour les tissus hépatiques et rénaux.

L'étude (44) évalue la toxicité d'un extrait aqueux administré aux rats en 3 doses différentes 400-800-1600 mg/kg du poids du rat/24 heures sur 7 jours. Plusieurs paramètres ont été surveillés : la mortalité, des signes toxiques (agilité, tremblement musculaire, convulsions), la respiration et l'alimentation. Un suivi des paramètres biologiques a inclus des données d'un hémogramme (le nombre des hématies, Hb, VGM, TMCH, CCMH), les enzymes hépatiques (ASAT et ALAT), les protéines sériques, l'albumine et les électrolytes (sodium, potassium, calcium). Au bout de sept jours, les résultats étaient les suivants : aucun cas de mortalité, ni de signes cliniques toxiques n'ont été enregistrés. Les valeurs de l'ALAT, des protéines sériques et de l'albumine ont montré un changement non significatif. L'augmentation du sodium, du potassium et de l'ASAT dans deux groupes de rats traités par l'extrait aqueux à 800 mg/kg/24h et 1600 mg/kg/24h a été enregistrée. L'hémogramme a montré une baisse du nombre des hématies ainsi que de la concentration en Hb, et une diminution du VGM. Tous ces résultats ont permis de conclure que l'extrait aqueux d'*Hydnora abyssinica* n'a pas démontré de toxicité et que son administration par voie orale est bien tolérée.

1.9.2 Fleurs

Selon l'étude (54), les extraits analysés (dichlorométhane, acétate d'éthyle et méthanol) ont démontré un faible effet cytotoxique contre des cellules FK (lignée des cellules amniotiques épithéliales humaines).

1.10 Description organoleptique et analyse microscopique de la poudre du rhizome d'*Hydnora abyssinica*

D'après l'analyse organoleptique, la poudre du rhizome se présente sous la forme de petits morceaux durs et de couleur brun-rouge (Fig. 16), sans odeur avec un gout amer et astringent.

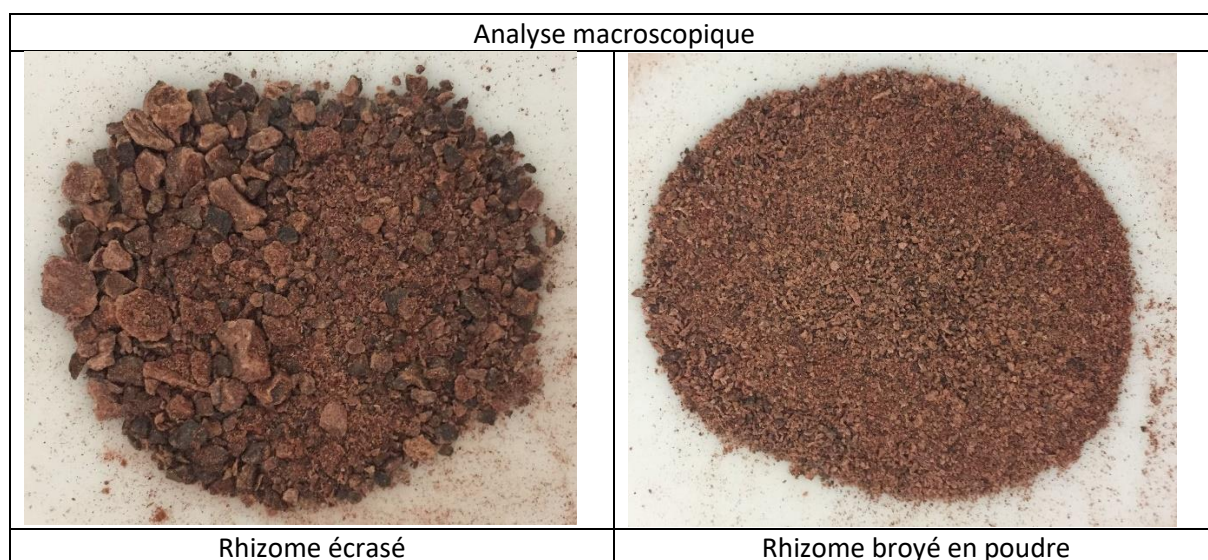


Figure 16: Rhizome sec de *Hydnora abyssinica* écrasé et broyé

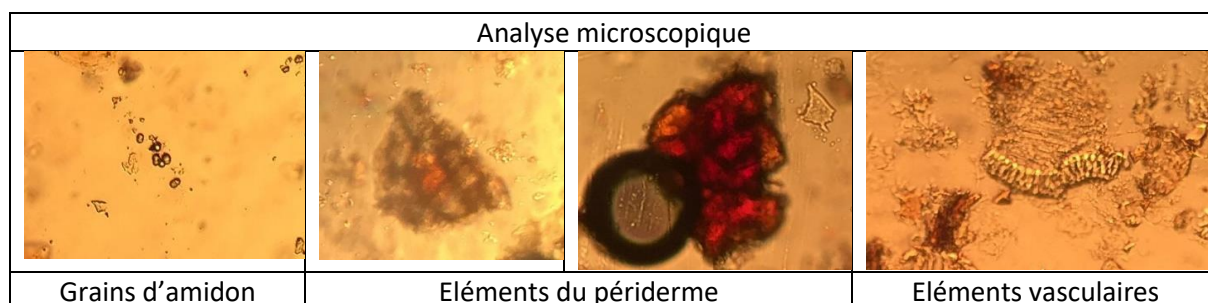


Figure 17: Analyse microscopique des éléments du rhizome de *Hydnora abyssinica*

2. Etude phytochimique réalisée au laboratoire

En 2016, dans le laboratoire de Pharmacognosie de la Faculté de Pharmacie de Tours (EA 7502 SIMBA), une thèse de doctorat rédigée par M. Abdelgadir a été soutenue. Dans cette thèse consacrée aux études phytochimiques de plantes africaines, M. Abdelgadir a entre-autre étudié *Hydnora abyssinica*. A partir de l'extrait méthanolique du rhizome de *Hydnora abyssinica*, en appliquant les deux méthodes de séparation sur colonnes LH-20 et CPC, deux molécules ont été isolées: katsumadine et salidroside.

Dans cette recherche, un screening préliminaire de l'extrait de rhizome de *Hydnora abyssinica* a relevé la présence des PAC.

J'ai poursuivi ce travail pour approfondir la recherche des tanins condensés de *Hydnora abyssinica*, dont les PAC font partie.

Au cours de mes travaux de recherche, j'ai modifié la nature des solvants d'élution pour réaliser l'extraction. Une méthode de chromatographie sur colonne LH-20 a été choisie pour séparer les tanins condensés en fonction de leur masse moléculaire et du degré de polymérisation (DP). Enfin, trois méthodes d'analyse structurale ont été appliquées pour élucider la composition des tanins condensés.

2.1 Extraction, fractionnement et caractérisation

2.1.1 Extraction de la plante

Un kilogramme du rhizome sec broyé d'*Hydnora abyssinica* collecté à l'Abu Hraz (Gezira, Sudan) est extrait 3 fois avec 3 L de solvant acétone-eau (70:30, v/v) par agitation à température ambiante pendant 36 heures. L'extrait obtenu est filtré à l'aide de coton posé sur un tamis, puis le filtrat est évaporé sous pressions réduite. La poudre obtenue est rediluée dans l'eau, puis extraite d'abord avec l'acétate d'éthyle 3 fois puis avec le butanol.

2.1.2 Chromatographie sur colonne LH-20

L'extrait AE d'*Hydnora abyssinica* est dilué dans une petite quantité d'éthanol et déposé par petites portions à l'aide d'une pipette Pasteur en verre à la surface du gel LH-20. L'élution est débutée avec de l'éthanol, pour terminer par un mélange acétone-eau (70:30, v/v). 20 fractions de 50 mL ont été obtenues avec l'éthanol et 9 fractions de 50 mL avec le mélange acétone-eau. Le débit d'élution est d'environ 50mL/15 min, obtenu à l'aide d'une pompe.

2.1.3 Regroupement des fractions (CCM-1)

Les 29 fractions obtenues après LH-20 ont été monitorées sur une plaque de chromatographie couche mince (CCM) avec un système de solvants CH₂Cl₂-AE-acide formique (6:10:2) puis révélées par l'anisaldéhyde. (Annexe 1 : CCM-1)

A la fin, ces fractions ont été regroupées en 17 fractions de façon suivante :

Fractions initiales	Fractions regroupées	Poids (mg)
1	1	0.8686
2	2	0.8744
3	3	0.9757

4	4	0.9193
5	5	0.9161
6	6	1.0929
7 et 8	7	1.1186
9 et 10	8	1.0025
11	9	0.9148
12	10	0.9044
13-15	11	0.9744
16-20	12	0.9952
21	13	0.8971
22	14	0.8943
23 et 24	15	1.3985
25	16	1.4621
26-29	17	0.9666

Tableau IV: Regroupement des fractions après CCM

Les fractions ont été diluées initialement dans un mélange acétone-eau (70/30, v/v) et filtrées à l'aide d'une seringue sur un filtre en PTFE 0.45µm Fisherbrand™ stérile. La concentration initiale de dépôt est de 5 mg/mL.

Les 9 fractions (de F5 à F13) ont été choisies pour effectuer d'autres examens.

2.1.4 Caractérisation des extraits

2.1.4.1 CCM des extraits aqueux, acétate d'éthyle et butanol

Les 3 extraits (aqueux, AE, butanol) ont été déposés à l'aide d'une seringue microlitre en bande de 0.5 cm avec une distance d'un cm sur une plaque CCM. Cette plaque est alors séchée puis déposée dans la chambre de développement ADC2 qui a été saturée préalablement par l'éluant pendant 20 min à la température ambiante. Deux phases mobiles ont été testées. (Tableau 5)

Système d'élution	Groupe phytochimique recherché
Toluène/acétone/acide formique 6/6/1 (v/v/v)	Tanins
CH ₂ Cl ₂ /AE/acide formique 6/10/2 (v/v/v)	PAC

Tableau V: Les 2 systèmes d'élution utilisés pour la recherche des tanins et des PAC

La distance parcourue par phase mobile est de 8 cm. Après avoir séché la plaque, celle-ci a été analysée à l'aide d'un scanner de plaque-densitomètre Reprostar 3 à la lumière blanche et en mode absorbant à 254 et 366 nm puis révélée par la suite soit à l'anisaldéhyde, soit au chlorure ferrique aqueux à 2%.

2.1.4.2 CCM Haute Performance des fractions F5 à F13 (CCMHP-1 et 2)

Les 9 fractions F5 à F13 ainsi que les 4 standards (catéchine, épicatechine, PAC B2 et PAC A2) sont déposés à l'aide du déposeur CAMAG Linomat 5 en bandes de 7 mm de largeur, à un volume de 5 µL, avec une distance entre les bandes de 14 mm, et à 10 mm du bord inférieur et 20 mm du bord gauche.

La plaque est développée dans une chambre de développement automatique Camag ADC2 avec le mélange toluène/acétone/acide formique 6/6/1 (CCMHP-1) ou le mélange

CH₂Cl₂/acétate d'éthyle/acide formique (6/10/2-v/v/v) (CCMHP-2) comme phase mobile (distance de migration 85 mm), à température 19,6°C et une humidité de 46.2%, après 15 min de préconditionnement des plaques avec la phase mobile et la saturation du réservoir.

La plaque est ensuite révélée par pulvérisation d'anisaldéhyde, puis séchée à 110°C sur un réchauffeur pour plaques Camag TLC 3.

Les standards sont dilués à 0.2 mg/mL pour la catéchine, 0.05 mg/mL pour l'épicatéchine, 0.02 mg/mL pour la PAC B2 et 0.2 mg/mL pour la PAC A2.

L'identification des composés est effectuée par comparaison avec des témoins.

L'analyse des CCM est réalisée au moyen d'un scanner de plaque-densitomètre Reprostar 3 à la longueur d'onde 200 nm, 254 nm, 280 nm, 366 nm et à la lumière blanche.

2.1.4.3 CLHP des fractions F5 à F13

La séparation est réalisée sur une colonne analytique « Accucore aQ »TM (2.6µm*3mm*150mm) (Thermo Fisher Scientific, Illkirch, France).

La phase mobile est composée de solvant A (eau, 0.1% TFA) et solvant B (acétonitrile).

Le gradient d'élution est le suivant :

		Temps (min)	Débit (mL/min)	Solvant A%	Solvant B %	Curve
1		0.000	Run			
2		0.000	1.000	100.0	0.0	5
3		15.250	1.000	40.0	60.0	5
4		15.50	1.000	0.0	100.0	5
5		17.350	1.000	0.0	100.0	5
6		14.450	1.000	100.0	0.00	5
7		20.000	1.000	100.0	0.00	5
8		New row	1.000			
9		20.000	Stop Run			

Tableau VI: CLHP: gradient d'élution de la phase mobile (solvant A: eau, 0.01%TFA et solvant B:acétonitrile)

Le débit d'élution est de 1mL/min. La température de la colonne est de 40°C. Le volume d'injection est de 15 µL. La détection en UV-DAD est réalisée à 210 nm.

2.1.4.4 CL-MS des fractions F5 à F13

Le profil des PAC est déterminé par chromatographie liquide couplée à la spectroscopie de masse (LC-ESI-MS), réalisée sur un appareil Acquity H-Class avec un détecteur SQD (Waters, Saint Quentin en Yvelines, France). Ce système est équipé d'une colonne chromatographique Accucore aQ C18 (150 mm x 3 mm ; taille de particules de 2,6 µm) à 40 ° C avec un débit de 0,5 ml/min. Les phases mobiles sont composées d'un solvant A (eau avec 0,1% d'acide formique) et d'un solvant B (acétonitrile). Le gradient d'élution est le suivant : la teneur initiale en solvant B est de 0%, augmentée à 60% en 15,5 min et 100% en 0,5 min et maintenue pendant 2 min.

L'ionisation par électronébuliseur (de l'anglais *Electrospray Ionization* ESI) en mode négatif est réalisée avec une tension de cône réglée à 30 V et une tension capillaire à 3 kV.

L'analyse des composés est réalisée en mode « balayage complet » (full scan) négatif et positif ainsi qu'en mode SIR (single ion recording) négatif et positif, en plage de masse entre 150 et 2000m/z.

2.2 Résultats

2.2.1 Screening préliminaire des extraits d'*Hydnora abyssinica*

Un screening préliminaire des trois extraits du rhizome d'*Hydnora abyssinica* (aqueux, AE, butanolique) a été effectué pour rechercher des tanins notamment des proanthocyanidines (Fig. 18).

Deux systèmes d'élution ont été testés :

- Toluène/acétone/acide formique 6/6/1 (v/v/v) pour la mise en évidence des tanins
- CH₂Cl₂/AE/acide formique 6/10/2 (v/v/v) pour la mise en évidence des PACs.

Compte tenu des résultats positifs de ces deux tests avec l'extrait AE, celui-ci a été choisi pour continuer une analyse plus approfondie.

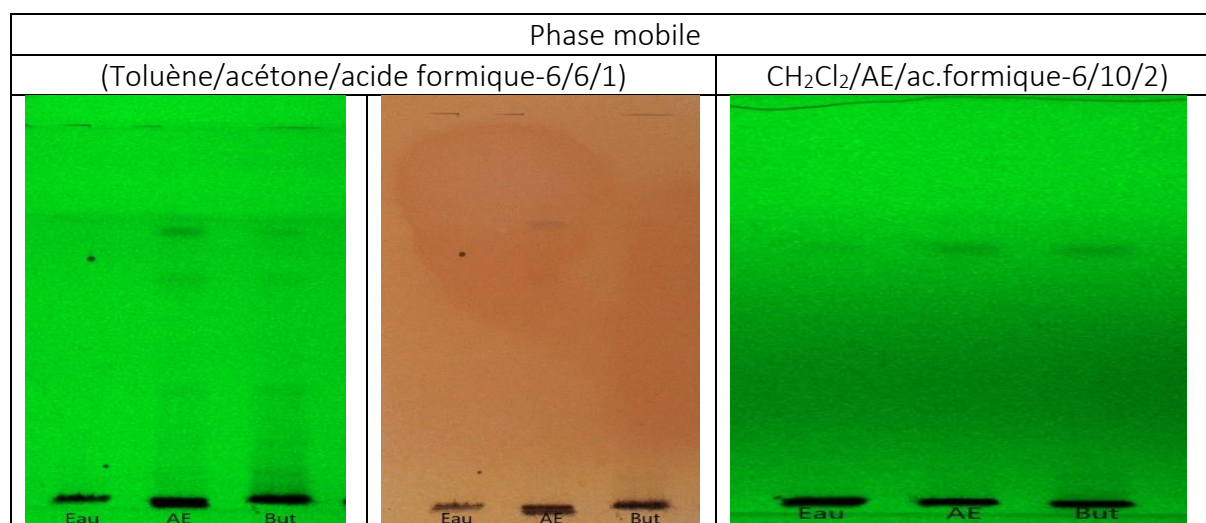


Figure 18:CCM de 3 extraits : aqueux, acétate d'éthyle et butanolique à 254 nm et après la révélation par FeCl₃ de 2%.

Après fractionnement de l'extrait AE sur colonne LH-20, les 9 fractions F5-F13 potentiellement riches en tanins ont été choisies pour une exploration plus poussée (annexe1).

2.2.2 Caractérisation des PAC dans l'extrait d'acétate d'éthyle d'*Hydnora abyssinica*

Les proanthocyanidines ou tanins condensés incluent trois types de polymères/oligomères dont les procyanidines font partie (73). Les procyanidines sont composées des 2 monomères, la catéchine et son stéréo-isomère l'épicatéchine (74).

Pour analyser les 9 fractions d'extrait d'*Hydnora abyssinica*, trois méthodes ont été appliquées ; ce sont la Chromatographie Couche Mince Haute Performance (CCMHP), la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) et la Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse (CLSM).

La CLSM a été effectuée en mode négatif car il a été démontré que l'ionisation négative était plus sensible et sélective que l'ionisation positive pour l'analyse des proanthocyanidines (75).

2.2.2.1 Caractérisation des monomères de PAC dans l'extrait acétate d'éthyle d'*Hydnora abyssinica*

La présence de catéchine dans l'extrait AE d'*Hydnora abyssinica* a été confirmée par CCMHP, CLHP et CLSM contrairement à l'épicatéchine dont l'absence a été démontrée par CCMHP et CLSM.

2.2.2.1.1 Catéchine

Les deux phases mobiles, citées précédemment, ont été testées sur des plaques de CCMHP.

La première phase mobile composée de toluène/acétone/acide formique 6/6/1 (annexe 2 : CCMHP-1) a mis en évidence la présence de catéchine et/ou d'épicatéchine sans distinction, car leur facteur de rétention est le même.

C'est pourquoi nous avons testé le deuxième système de solvants (CCMHP-2) : dichlorométhane/acétate d'éthyle/acide formique (6/10/2). Cette phase mobile permet de distinguer les deux stéréo-isomères entre eux.

Nous avons déposé sur les deux plaques de CCMHP, les deux témoins (catéchine, épicatéchine) et les 9 fractions étudiées (Fig. 19).

Sur la CCMHP-2, Le rapport frontal (Rf) de la catéchine est de 0.76. Les résultats du scanner et le spectre UV à 215 nm confirment que la catéchine est contenue dans les fractions F7-F13 (annexes 3,4,5).

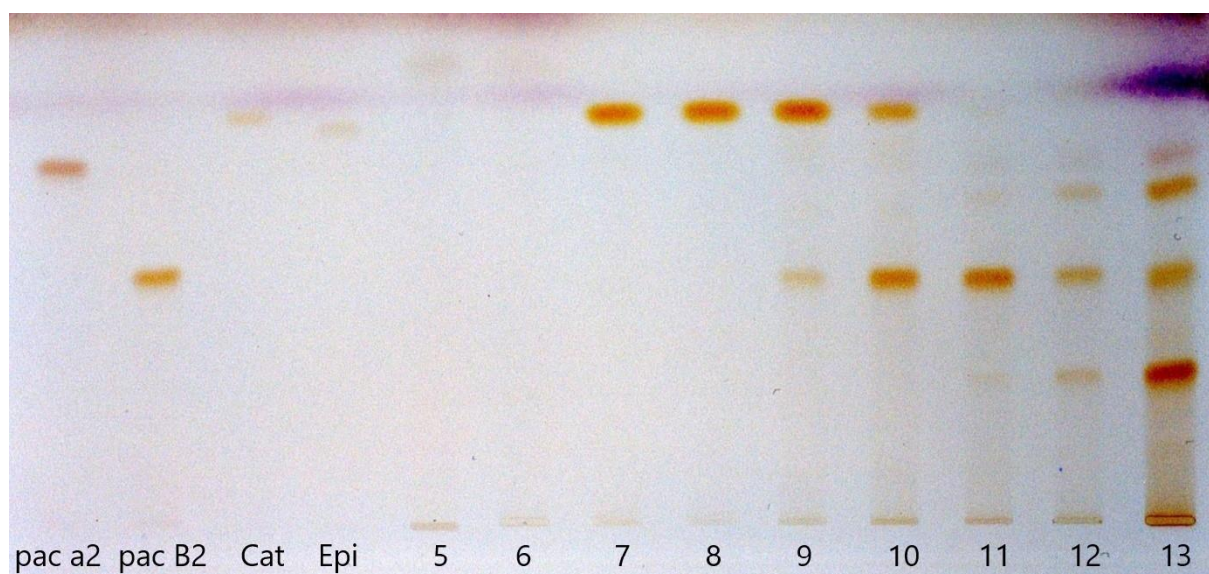


Figure 19:CCMHP-2 (système de solvants dichlorométhane/acétate d'éthyle/acide formique 6/10/2) après la révélation par anisaldéhyde avec 4 témoins (cat = catéchine, épi = épicatéchine, PAC A2, PAC B2)

La CLHP avec un système de solvants A (eau, 0.1% TFA) et B (acétonitrile), sur colonne « Accucore™ C18 aQ » apporte une meilleure séparation entre les deux monomères, ce qui permet d'éviter la confusion. Le spectre UV à 200 nm montre une courbe assez caractéristique pour les procyanidines (Fig. 20).

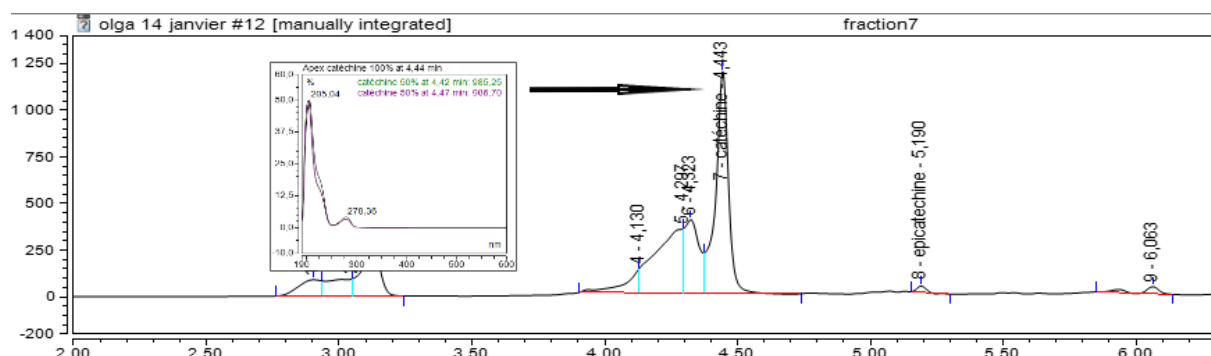


Figure 20: Chromatogramme de CLHP de la fraction 7 avec le spectre UV à 210 nm

Selon les résultats de la CL-SM, le pic 5 (annexe 10) au temps de rétention $t_r = 5.35$ min correspondant à l'ion moléculaire négatif $[M-H]^-$ avec m/z 289, qui a été identifié comme la catéchine dans les fractions F7-F13.

2.2.2.1.2 Epicatechine

L'absence d'écatechine dans les échantillons étudiés a été confirmée par CCMHP-2 (Fig. 19) ; ainsi que par CLSM (annexe 10). Cependant, selon les résultats de CLHP, on peut penser que l'écatechine se trouve dans les fractions F9-F13, car le t_r et le spectre UV à 210 nm correspondent à ceux du témoin écatechine. Néanmoins, le spectre UV est très caractéristique des monomères, mais aussi des oligomères de procyanidines. Donc le risque d'utiliser uniquement la méthode d'analyse CLHP peut conduire à attribuer à tort la présence d'écatechine dans l'extrait d'*Hydnora abyssinica*. D'où l'intérêt d'associer la méthode CLHP avec les autres méthodes d'analyse pour une meilleure fiabilité des résultats.

2.2.2.2 Caractérisation des oligomères de PAC dans l'extrait acétate d'éthyle d'*Hydnora abyssinica*

Les oligomères de procyanidines sont regroupés en deux groupes : 1) les PACs de type B, caractérisés par une seule liaison entre deux monomères, en position soit C4-C6, soit C4-C8 et 2) les PACs de type A caractérisés par une liaison interflavanique double, en positions C4-C8 et C2-O-C-7.

La présence des procyanidines A2 et B2 a été confirmée par les 3 méthodes citées ci-dessus.

2.2.2.2.1 PAC A : Procyanidine dimère de type A

La CCMHP-1 (annexe 2) réalisée avec le système de solvants toluène/acétone/acide formique (6/6/1), ainsi que la CCMHP-2 (Fig. 19) effectuée avec le mélange dichlorométhane/acétate d'éthyle/acide formique (6/10/2) ont mis en évidence la présence de procyanidine A2.

Elle a été détectée dans les fractions F11 à F13. L'analyse par le scanner détecte des pics dans ces 3 fractions à un R_f de 0.67 (annexe 8) qui correspondent au pic du témoin PAC A2 avec un spectre UV à 200 nm comparable (annexe 9).

Selon la méthode CLHP on peut constater que la procyanidine A2 est présente dans les 2 fractions F12 et F13 en quantités insignifiantes avec un t_r de 6,8 min (Fig. 21).

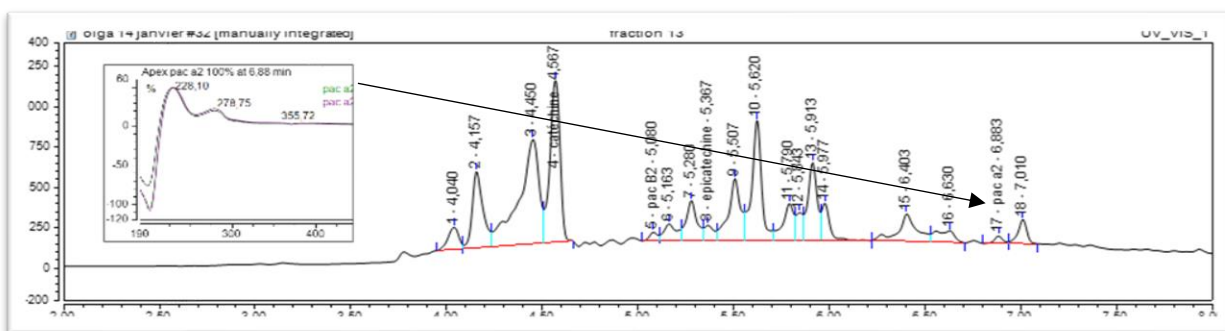


Figure 21:Chromatogramme de CLHP la fraction 13 avec le spectre UV à 210 nm

Les résultats de spectrométrie de masse montrent un pic 11 avec une valeur de m/z de 575 qui correspond au dimère A2 dans les fractions 12 et 13. (tableau 7)

Pics	tR(min)	m/z en $[M-H]^-$	Fraction	Identification
1	4.60	577	10-13	Procyanidine dimère type B
2	4.80	577	10-13	Procyanidine dimère type B
		865	13	Procyanidine dimère type B
3	5.08	577	10-13	Procyanidine dimère type B
		865	11	Procyanidine trimère
4	5.15	577	9	Procyanidine dimère type B
5	5.40	865	13	Procyanidine trimère
6	6.00	577	10-13	Procyanidine dimère type B
7	6.20	577	12,13	Procyanidine dimère type B
8	6.48/6.49	577	11-13	PAC B-2
9	6.90	575	11-13	Procyanidine dimère type A
10	7.30	575	12,13	Procyanidine dimère type A
11	8.00	575	12,13	PAC A-2

Tableau VII:Liste des PACs détectés par CL-MS en fonction de temps de rétention

On observe également la présence des autres dimères de type A avec $m/z=575$ dans les fractions F11-F13 (annexe 10).

Le système de solvants, dans la méthode CCMHP-2, composé de dichlorométhane/acétate d'éthyle/acide formique (6/10/2) n'est probablement pas bien adapté pour séparer des procyanidines de type A entre elles, c'est pourquoi on pense détecter, à tort, la PAC A2 dans la fraction 11.

2.2.2.2.2 PAC B : Procyanidine dimère de type B

La CCMHP-1 (annexe 2) et la CCMHP-2 (Fig. 19) ont relevé la présence de procyanidine B2 dans les fractions F 9-F13. Cela a été confirmé par le scanner de plaque et le spectre UV à 200 nm (Annexes 6,7).

Le même résultat est confirmé par la méthode CLHP, le pic de PAC B2 est enregistré à un t_r entre 4.8-5.0 min (Fig. 22).

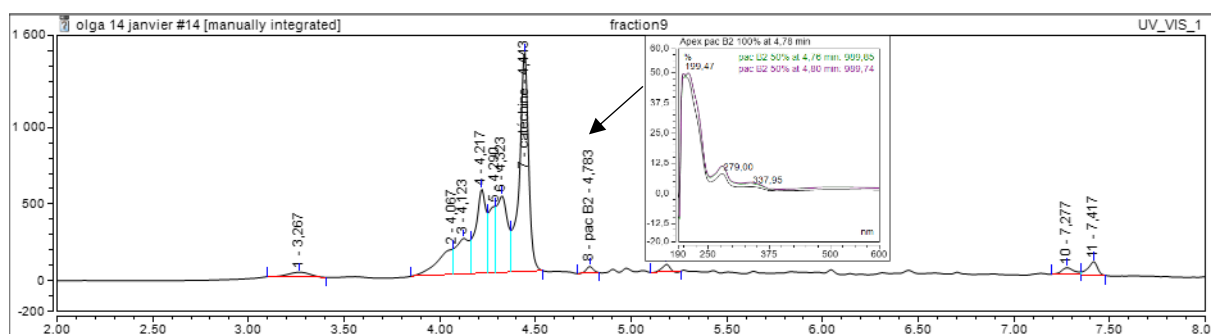


Figure 22: Chromatogramme de CLHP de la fraction 9 avec le spectre UV à 210 nm

Néanmoins le résultat de la spectrométrie de masse a montré que seules les fractions F11-F13 contiennent de la procyanidine B2, caractérisée par un pic $m/z=577$ à un t_r de 6.48/6.49 (Tableau 7, annexe 10).

La présence des autres dimères de type B ainsi que des procyanidines trimères a été enregistré par cette méthode (Tableau 7).

De la même façon comme pour des dimères de type A, on peut constater que la séparation des dimères de type B est variée en fonction de la méthode appliquée. La méthode CLSM permet de mieux séparer les procyanidines de type B entre elles.

Nous avons réussi à mettre en évidence uniquement les procyanidines de bas poids moléculaires tels que dimères et trimères. Cela est dû probablement à l'utilisation d'une colonne chromatographique Sephadex LH-20 qui absorbe fortement les tanins condensés de haut poids moléculaire (un degré de polymérisation au-dessus de 3)(75).

3. Discussion

Dans cette partie de mon travail je souhaite relier l'usage traditionnel qui est fait d'*Hydnora abyssinica*, avec la composition phytochimique de la plante, au travers de ses activités pharmacologiques.

Les domaines d'utilisation dans la médecine traditionnelle du rhizome d'*Hydnora abyssinica* sont :

1. Les affections gastro-intestinales d'origine infectieuse telles que dysenterie, anthrax, choléra, typhoïde. Ces pathologies sont accompagnées par une diarrhée. Les autres affections gastro-intestinales non-infectieuses telles que des crampes et maux d'estomac sont aussi traitées par cette plante
2. Les affections ORL : maux de gorge, muguet, angine
3. Les affections pulmonaires : pneumonie
4. Les affections lympho-veineuses : hémorragies, œdèmes.
5. Les affections gynéco-obstétricales : problèmes menstruels, cancer du sein, élimination du placenta en post-partum, hémorragies du post-partum, prévention des fausses-couches pendant la grossesse.
6. Les affections de la sphère génitale masculine : faible érection, cancer de la prostate.
7. Les affections cutanées : plaies et acné.

Ces indications sont liées à certaines activités pharmacologiques du rhizome d'*Hydnora abyssinica*.

Activité antidiarrhéique

Au cours de la diarrhée, il y a une augmentation de la sécrétion intestinale d'eau et des électrolytes avec une augmentation de la perméabilité de la muqueuse intestinale. Cet effet peut être provoqué par les entérotoxines, la sérotonine ou des médiateurs inflammatoires (76). L'activité antidiarrhéique de l'extrait d'*Hydnora abyssinica* est due à la présence des tanins qui peuvent par un mécanisme de complexation, former une couche protectrice sur la muqueuse. Cela diminue sa perméabilité à l'eau et les électrolytes, et permet de protéger la muqueuse contre les toxines. (47),(77),(78).

Activité antibactérienne

L'extrait du rhizome d'*Hydnora abyssinica* est fréquemment utilisé contre des maladies infectieuses, en particulier provoquées par différentes bactéries.

Parmi les pathogènes, on peut définir les germes qui sont impliqués dans les troubles gastro-intestinaux tels que *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campilobacter*, *Yersinia* et *Vibrio cholerae*. Ces sont des bactéries Gram négatif. Un cas particulier est *Bacillus anthracis* qui donne la maladie du charbon, et est une bacille Gram positif.

Les maladies respiratoires en particulier la pneumonie peuvent être causées par *Streptococcus pneumoniae* (Gram positif) ou *Haemophilus influenzae type B* (coccobacille Gram négatif) (79).

Le traitement de la sphère ORL par l'extrait du rhizome d'*Hydnora abyssinica* est cité en cas de maux de gorge et d'angine dont les pathogènes sont les suivants : *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium diphtheriae* (bacille Gram positif) (80),(81).

Enfin, le traitement de l'acné fait partie des indications d'*Hydnora abyssinica*. L'agent pathogène responsable de cette infection est *Propionibacterium acnes* (bacille Gram positif).

On peut constater que la plante possède une activité antibactérienne contre les bactéries Gram positif telles que *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* (68),(47), (65) ,(48), (82).

Concernant les bactéries Gram négatif, une étude démontre l'absence d'activité antibactérienne (47) pourtant d'autres études confirment le contraire avec une efficacité contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* (48), (82).

Cette activité antibactérienne peut être expliquée en partie par la présence de l'acide protocatéchuique (83) et probablement du tyrosol (84).

De plus, on peut attribuer aux proanthocyanidines de type A une propriété antiadhésive contre *Escherichia coli*. Les PACs A se fixent sur les P-fimbriae de la bactérie et empêche sa fixation sur les tissus de l'hôte. D'où l'intérêt de traiter les infections urinaires provoquées par *Escherichia coli* avec des PAC A2 (85). De plus, ces oligomères de type A peuvent réduire la formation du biofilm et l'acidité induites par *Streptococcus mutans* (86).

Activité antifongique

Le muguet est une lésion de la cavité buccale induite par des levures *Candida albicans* (87). L'extract d'*Hydnora abyssinica* a démontré son efficacité contre cette levure (82), (88) probablement grâce au tyrosol (89) et les proanthocyanidines type A. Ces dernières perturbent la formation du biofilm, ce que diminue l'adhésion de *Candida albicans* aux cellules épithéliales de la cavité buccale. En outre, les proanthocyanidines type A diminuent la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires IL-6 et IL-8 (90).

Il est aussi démontré *in vitro* l'activité contre les autres souches fongiques telles que *Microsporum canis* (65), *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum audouinii*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton concentricum*, *Trichophyton tonsurans* (88).

Activité anti-inflammatoire.

Une réaction inflammatoire aigue est un processus physiologique qui permet à l'organisme vivant d'agir contre une agression, il s'accompagne d'une altération tissulaire. Elle est bénéfique pour l'organisme car elle permet d'éliminer un facteur pathogène (virus, bactérie, parasite ou tissu lésé) et réparer les tissus. Cependant, sa transformation en forme chronique devient nocive pour l'organisme (91).

L' inflammation chronique est impliquée dans le processus physiopathologique de différentes maladies telles que le cancer, l'arthrite, des maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et auto-immunes (89).

Plusieurs composants d'*Hydnora abyssinica* possèdent cette propriété anti-inflammatoire.

Le stigmasterol a démontré la capacité de s'opposer à l'expression des métalloprotéases matricielles (MMP) impliquées dans la dégradation du cartilage, il inhibe également les prostaglandines E2 via l'inhibition de la voie NF-κB (92).

Les proanthocyanidines inhibent également la synthèse des prostaglandines E2 (93). Elles peuvent diminuer la production de cytokine pro-inflammatoire IL-1 β et augmenter la synthèse de cytokines anti-inflammatoires IL-2, IL-4 (94).

Le cirsiol est un inhibiteur de la 5-lipoxygénase et diminue la synthèse des leucotriènes médiateurs d'inflammation (77).

L'acide protocatéchuique possède aussi cette propriété anti-inflammatoire (95).

Activité cytotoxique/anticancéreuse.

Dans la médecine traditionnelle, l'extrait du rhizome d'*Hydnora abyssinica* est utilisée pour le traitement du cancer de sein et cancer de la prostate.

La molécule potentiellement intéressante dans le traitement du cancer du sein est le salidroside. Il est démontré *in vitro*, que sur des lignées cellulaires MDA-MB-231 (carcinome mammaire humain à récepteurs aux œstrogènes négatifs) et MCF-7 (carcinome mammaire humain à récepteurs aux œstrogènes positifs), cette molécule permet d'inhiber la prolifération cellulaire et induire la mort cellulaire par apoptose (96).

Un rôle important des oligomères de procyanidines B1- B4 dans le cancer de la prostate est démontrée dans l'étude (97). En effet, ces procyanidines, et en particulier la PAC B2, agissent comme des agonistes des récepteurs membranaires des androgènes (mAR). Ces mAR sont principalement présents dans la zone tumorale. Donc l'action des procyanidines sur ces récepteurs *in vitro* permet de diminuer la croissance et induire l'apoptose des lignées cellulaires humaines de cancer de la prostate sensibles et résistantes aux androgènes.

Les PAC B2 et B4 ont démontré *in vitro* un effet inhibiteur de la prolifération cellulaire sur deux lignées cellulaires MCF-7 (lignée cellulaire de cancer du sein) et HELF (fibroblastes pulmonaires embryonnaires humains). La PAC B4 a montré un effet inhibiteur plus fort que la PAC B2 (98).

Activité cicatrisante

Grâce à la propriété des tanins de complexer les macromolécules (telles les protéines), ils forment une couche imperméable sur la peau ou les muqueuses. Les tanins également peuvent avoir un effet vasoconstricteur au niveau des petites vaisseaux superficiels en limitant ainsi une perte de liquide. En application externe sur la peau, on peut favoriser la cicatrisation des plaies. En usage interne, on peut utiliser cette effet pour agir sur les maux d'estomac (77).

Activité antiulcéreuse

Les maux d'estomac peuvent être provoqués par l'ulcère gastrique. La présence du protocatéchuate d'éthyle dans la composition phytochimique d'*Hydnora abyssinica* permet de justifier son utilisation pour traiter cette pathologie.

Le protocatéchuate d'éthyle a prouvé son activité antiulcéreuse dans une étude menée sur les rats chez lesquels l'ulcère gastrique est induit par l'administration par voie orale d'éthanol, d'aspirine ou par une ligature du pylore.

Cette propriété antiulcéreuse est probablement due soit à l'action cytoprotectrice, soit au renforcement de la muqueuse gastrique ou bien à l'amélioration de la défense de la muqueuse (99).

Activité antispasmodique

L'activité antispasmodique sur les muscles lisses de l'intestin est probablement due au cirsiol. Ce flavone bloque l'entrée du calcium dans le milieu intracellulaire via des canaux calciques voltage dépendants. L'inhibition de l'influx du calcium du compartiment extracellulaire aboutit à la relaxation des muscles lisses (100).

Activité veinotonique.

Les troubles de la circulations veineuse tels que hémorragie et œdème des membres inférieurs, sont liés à l'hyperperméabilité des capillaires sanguins. L'usage de l'extrait du rhizome d'*Hydnora abyssinica* pour traiter ces pathologies/troubles peut être justifié par la présence des flavonoïdes dans sa composition. Ils permettent de diminuer cette perméabilité d'une part et d'augmenter la résistance capillaire d'autre part (77).

Amélioration de la fonction érectile.

L'usage d'*Hydnora abyssinica* dans cette indication peut être expliqué par l'action du salidroside sur les cellules des muscles lisses du corps caverneux. En effet, le salidroside permet de lutter contre l'hypoxie et s'oppose à la transformation phénotypique de ces cellules induite par l'hypoxie. Il permet de maintenir des muscles lisses caverneux dans l'état contractile, cela est bénéfique au fonctionnement normal de ces muscles (101).

Il faut noter que le salidroside est également utilisé en cas de fatigue, stress, dépression (101).

La composition phytochimique du rhizome d'*Hydnora abyssinica* permet d'envisager des applications dans d'autres pathologies que celles citées traditionnellement.

Activité antioxydante.

Le stress oxydatif est à l'origine de certaines pathologies telles que les maladies neurodégénératives (Parkinson et Alzheimer), les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète, l'obésité, la cataracte ainsi que le vieillissement. L'apport des antioxydants permet de renforcer le système de défense contre ces pathologies (102).

Plusieurs molécules détectées dans la composition phytochimique de *Hydnora abyssinica* possèdent cette propriété antioxydante : la vanilline, l'acide procathéchuique, la 3,5-dihydroxy-4',7-diméthoxyflavone, la catéchine et les proanthocyanidines.

La catéchine et les proanthocyanidines exercent leur activité antioxydante par voie directe et indirecte. Par voie directe, ces molécules peuvent piéger les espèces radicalaires de l'oxygène (ERO) et chélater des ions métalliques. Par voie indirecte, elles stimulent la synthèse des enzymes antioxydantes (la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase) et elles inhibent les enzymes pro-oxydantes. Elles modulent l'interaction entre les cytokines pro-inflammatoires TNF- α et leurs récepteurs, et l'activité des facteurs de transcription impliqués dans les réactions d'oxydoréduction (NF- κ B et AP-1), qui jouent un rôle important dans la réponse à la pathogenèse associée au stress oxydatif (103).

La vanilline, l'acide procathéchuique et la 3,5-dihydroxy-4',7-diméthoxyflavone possèdent une capacité à piéger les radicaux libres. De plus, l'acide procathéchuique peut chélater des ions métalliques (104), (105), (106).

Activité antiglycation

La catéchine et l'acide procatéchuïque inhibent la formation de produits de glycation avancée, cela peut être bénéfique dans la prévention et le traitement des complications du diabète (66).

Activité antityrosinase.

Les proanthocyanidines sont capables d'inhiber efficacement la tyrosinase, une enzyme qui catalyse deux réactions consécutives de la conversion de tyrosine en mélanine. La surproduction de ce pigment peut provoquer un certain nombre de maladies dermatologiques telles que le mélasma, la mélanodermie post-inflammatoire, le lentigo solaire, les taches de rousseur, le chloasma ainsi que les taches de vieillesse (73).

Conclusion

Hydnora abyssinica est répandue sur le continent africain ainsi que sur la péninsule arabique. Sa morphologie extrêmement réduite est liée à son mode de vie. Cette plante holoparasite, complètement dépourvue de chlorophylle, prélève des métabolites sur son hôte *Acacia* spp., donc sa composition phytochimique est proche de celle d'*Acacia* spp.

Dans la partie expérimentale de ce travail, j'ai étudié la composition en PACs et en monomères qui les composent. La catéchine est largement présente dans le rhizome d'*Hydnora abyssinica* contrairement à son stéréo-isomère l'épicatéchine, dont l'absence a été confirmée par CCMHP et CL-MS.

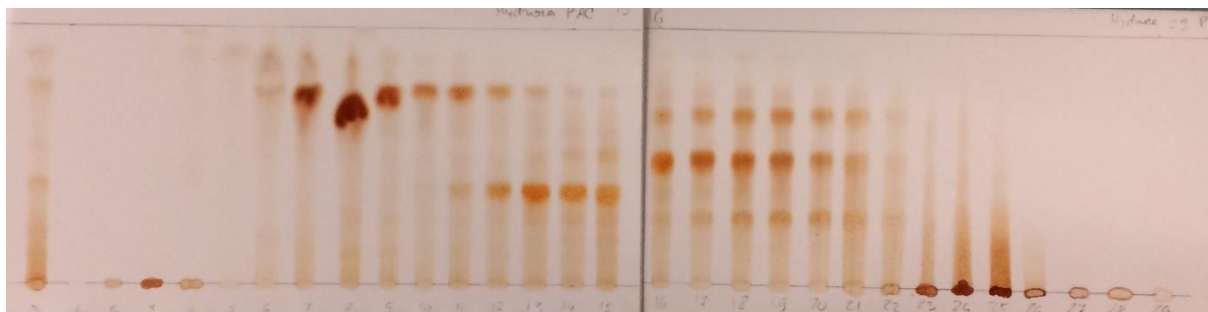
La composition des PACs est représentée principalement par des dimères de type B (majoritairement) et type A ainsi que par une trace d'un trimère. Les deux dimères PAC A-2 et PAC-B2 ont été mis en évidence par la méthode de CL-MS. Il est fortement probable que les autres oligomères (avec $DP \geq 2$) sont présents dans l'extrait d'*Hydnora abyssinica*. Leur recherche nécessite l'application d'autres méthodes de séparation.

Le rhizome d'*Hydnora abyssinica* possède un spectre d'usage relativement large dans la médecine traditionnelle grâce à ses multiples activités pharmacologiques.

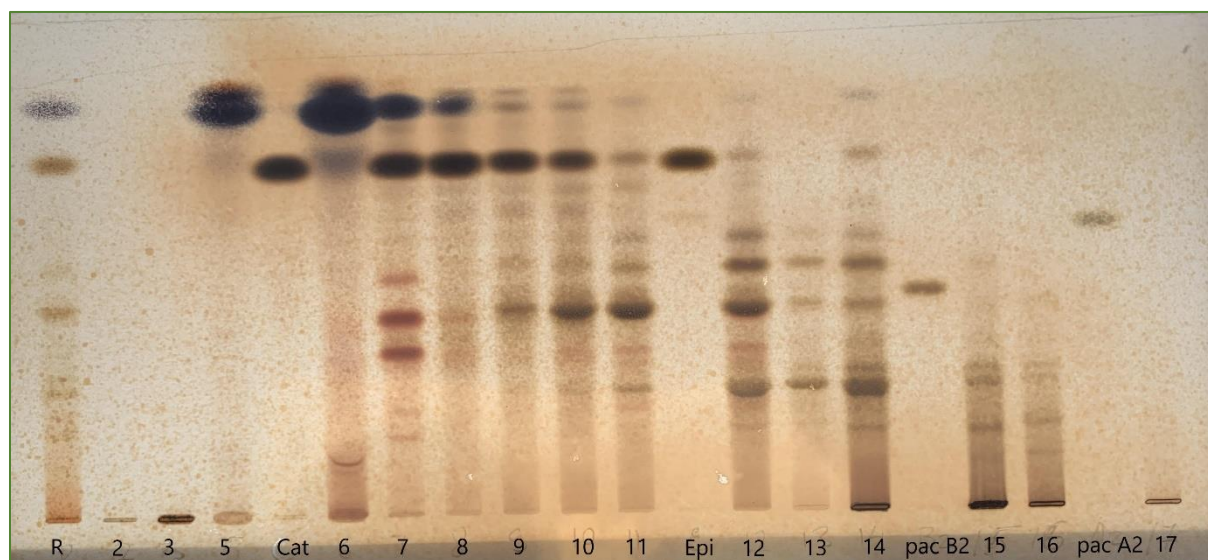
Ses principes actifs mis en évidence peuvent agir en synergie, ce qui renforce leur effets pharmacologiques, de même que différents principes actifs peuvent traiter plusieurs symptômes d'une maladie en allopathie.

L'identification complète de sa composition phytochimique permettra de mieux comprendre son usage dans certaines pathologies.

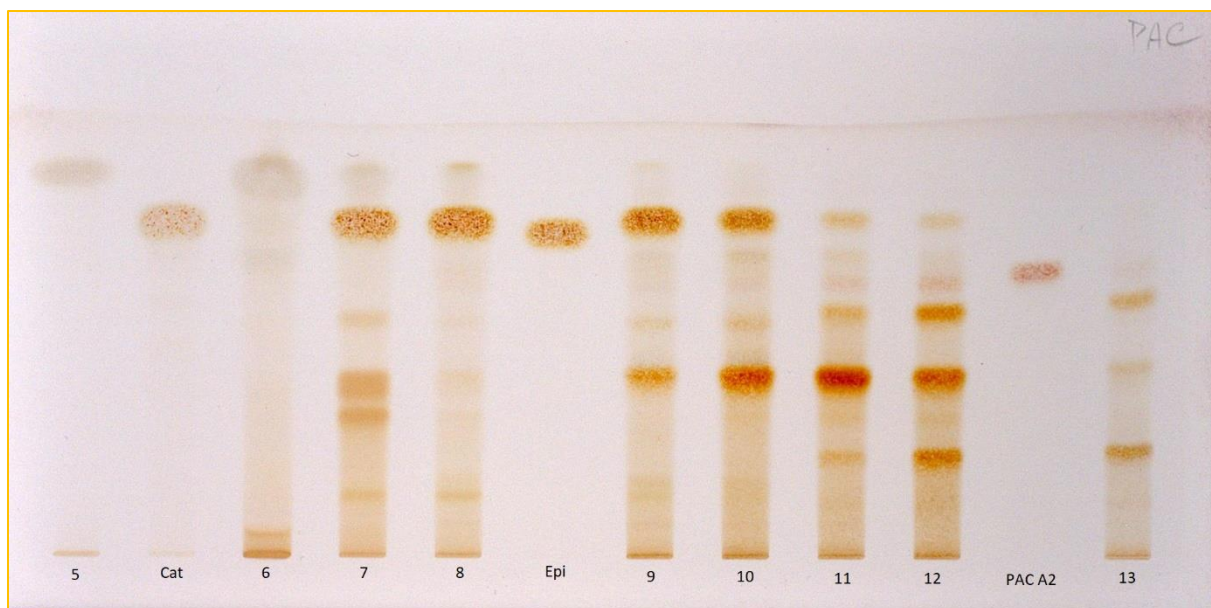
Annexes



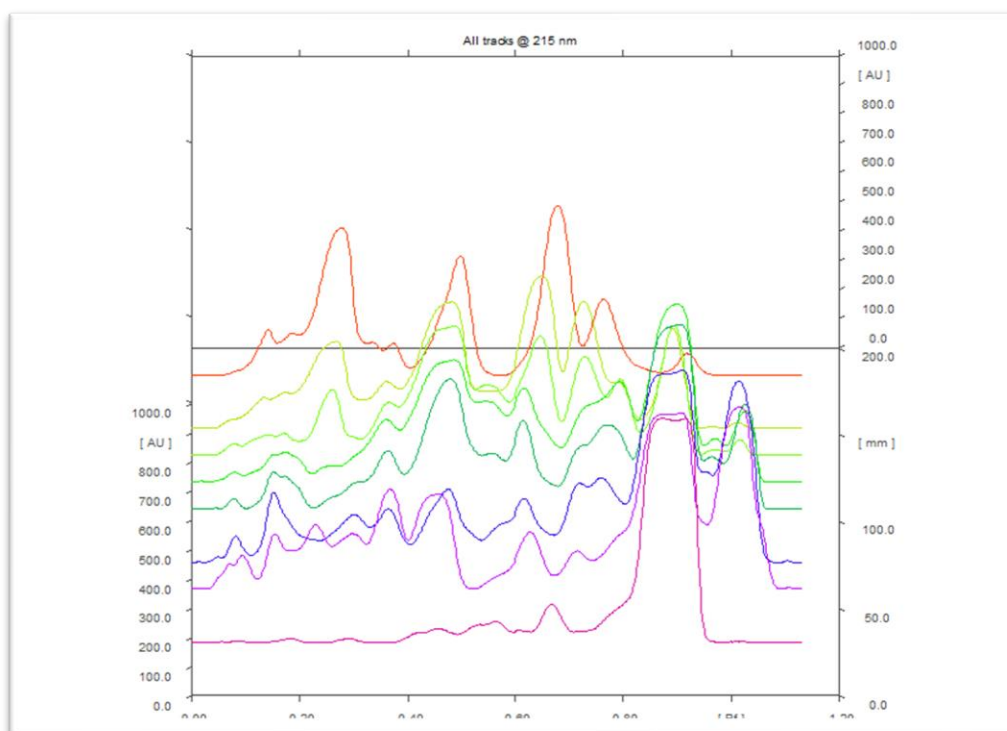
Annexe 1 : CCM-1 des 29 fractions d'*Hydnora abyssinica* après élution sur colonne LH-20 (système de solvants $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AE}/\text{ac. formique}$ 6/10/2 ; révélation avec anisaldéhyde)



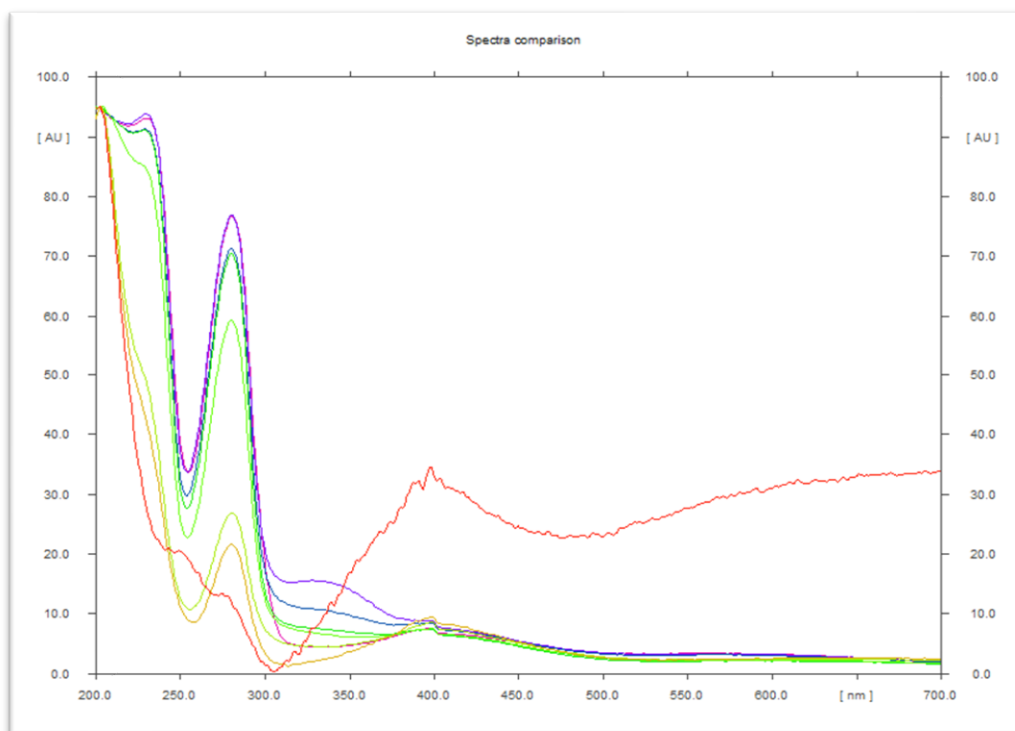
Annexe 2 : HPTLC-1 éluee avec le système de solvants (toluène/acétone/ac.formique 6/6/1) après révélation par FeCl_3



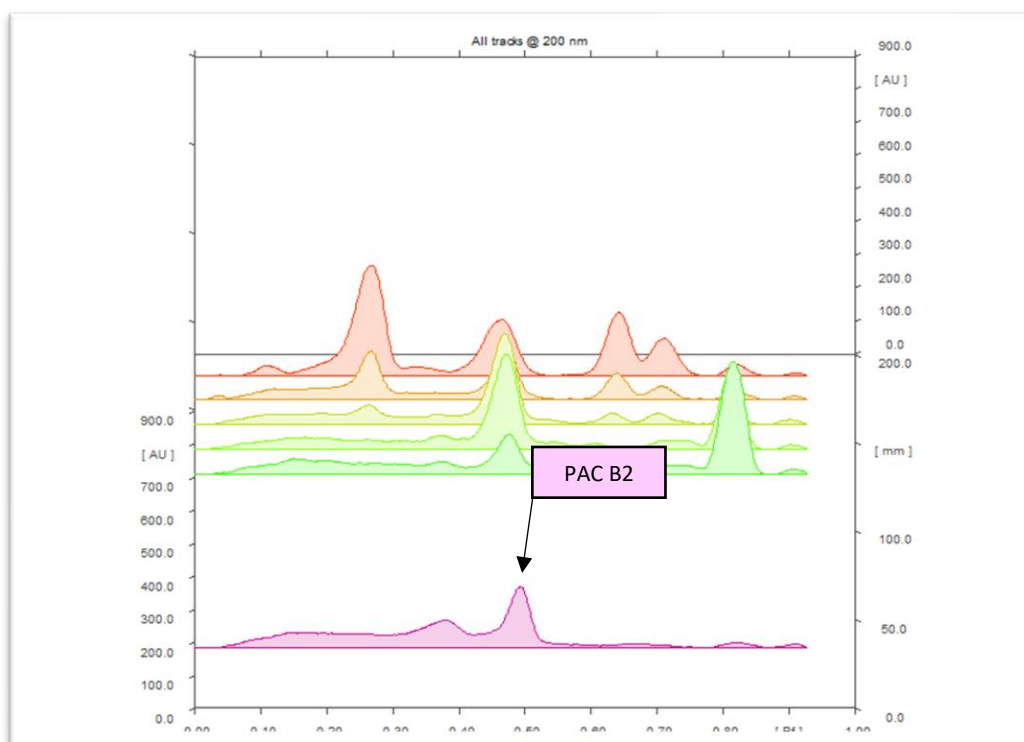
Annexe 3 : HPTLC-2 (système de solvants $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AE}/\text{ac. formique} / 10/2$) après révélation avec l'anisaldéhyde avec 3 témoins (catéchine, épicatechine et PAC A2).



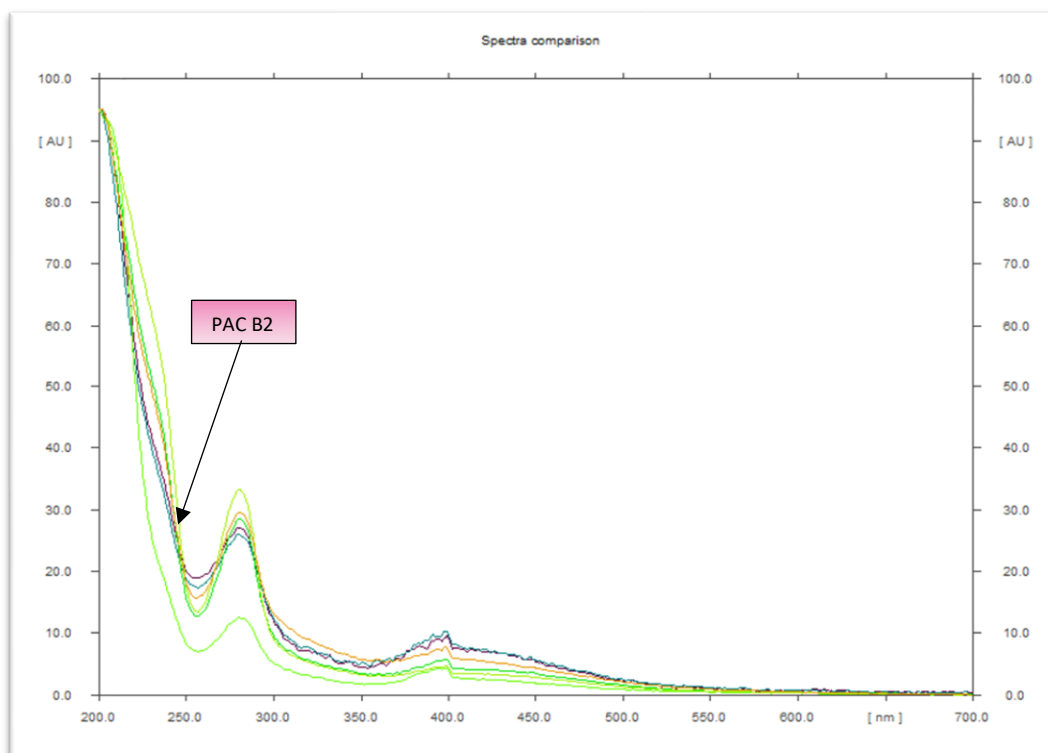
Annexe 4 : HPTLC 2- analyse par le scanner de plaque des fractions F7-F13 avec le témoin-catéchine à 215nm.



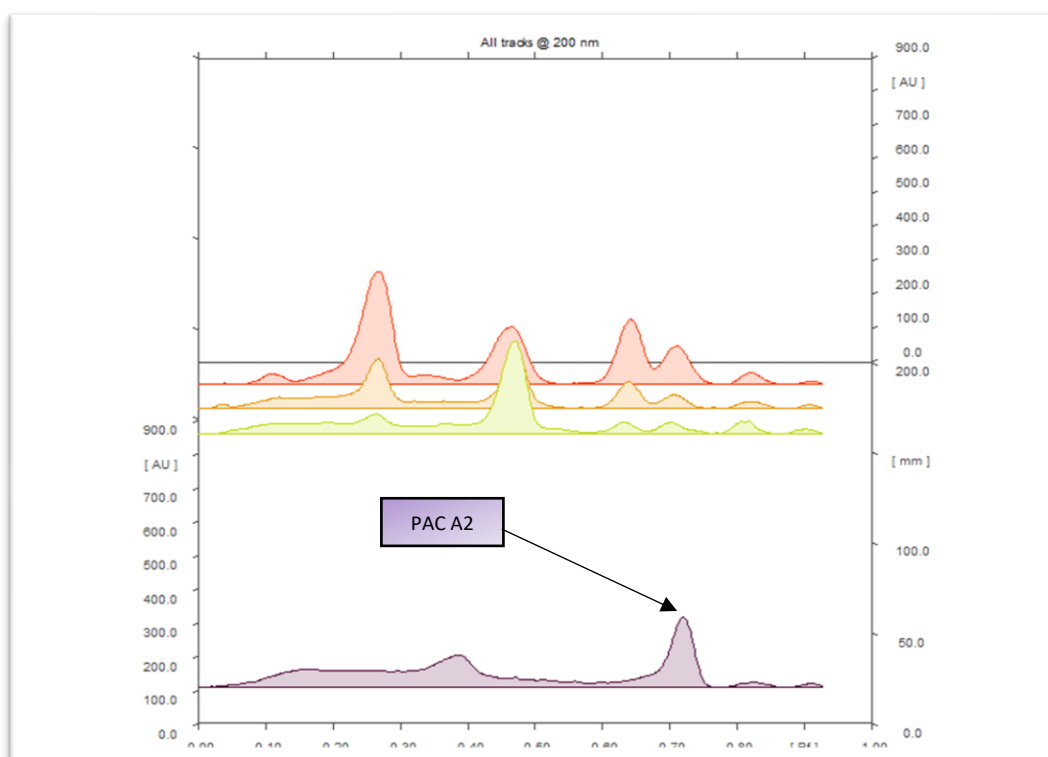
Annexe 5 : HPTLC 2-spectre UV des fractions F7-F13 avec le témoin catéchine à 215 nm.



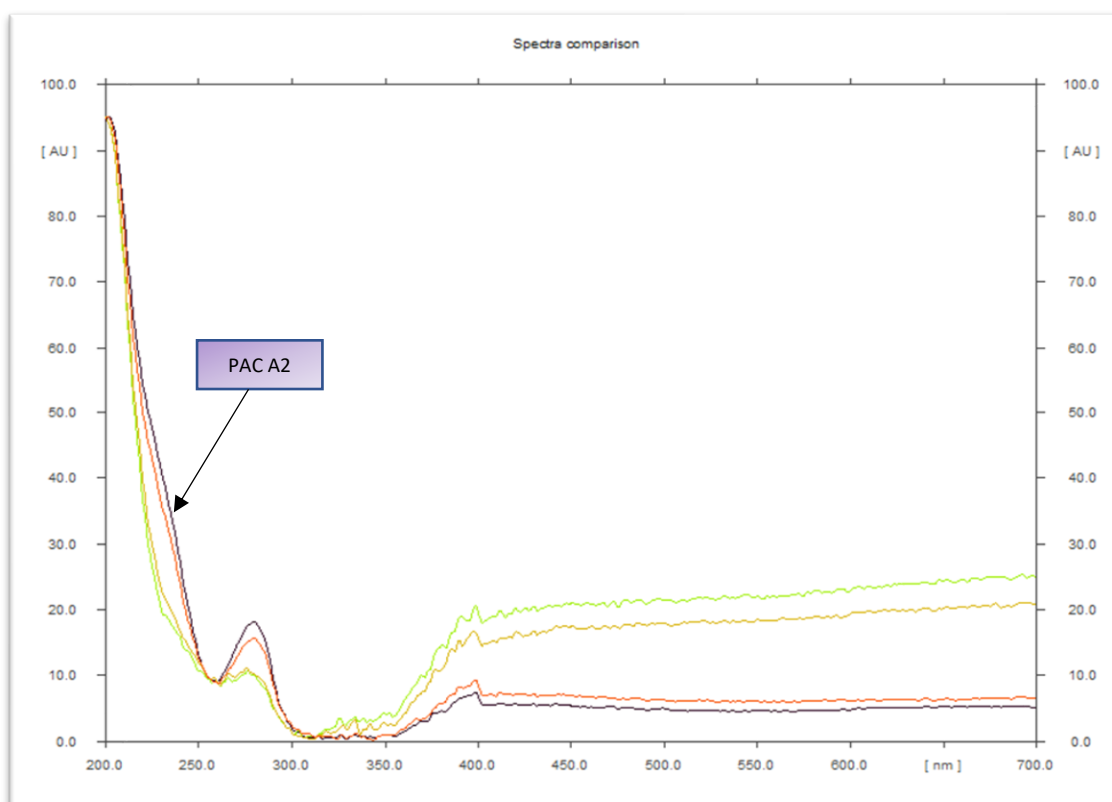
Annexe 6: HPTLC 3- analyse par le scanner de plaque des fractions F9-F13 avec le témoin PAC B2 à 200 nm



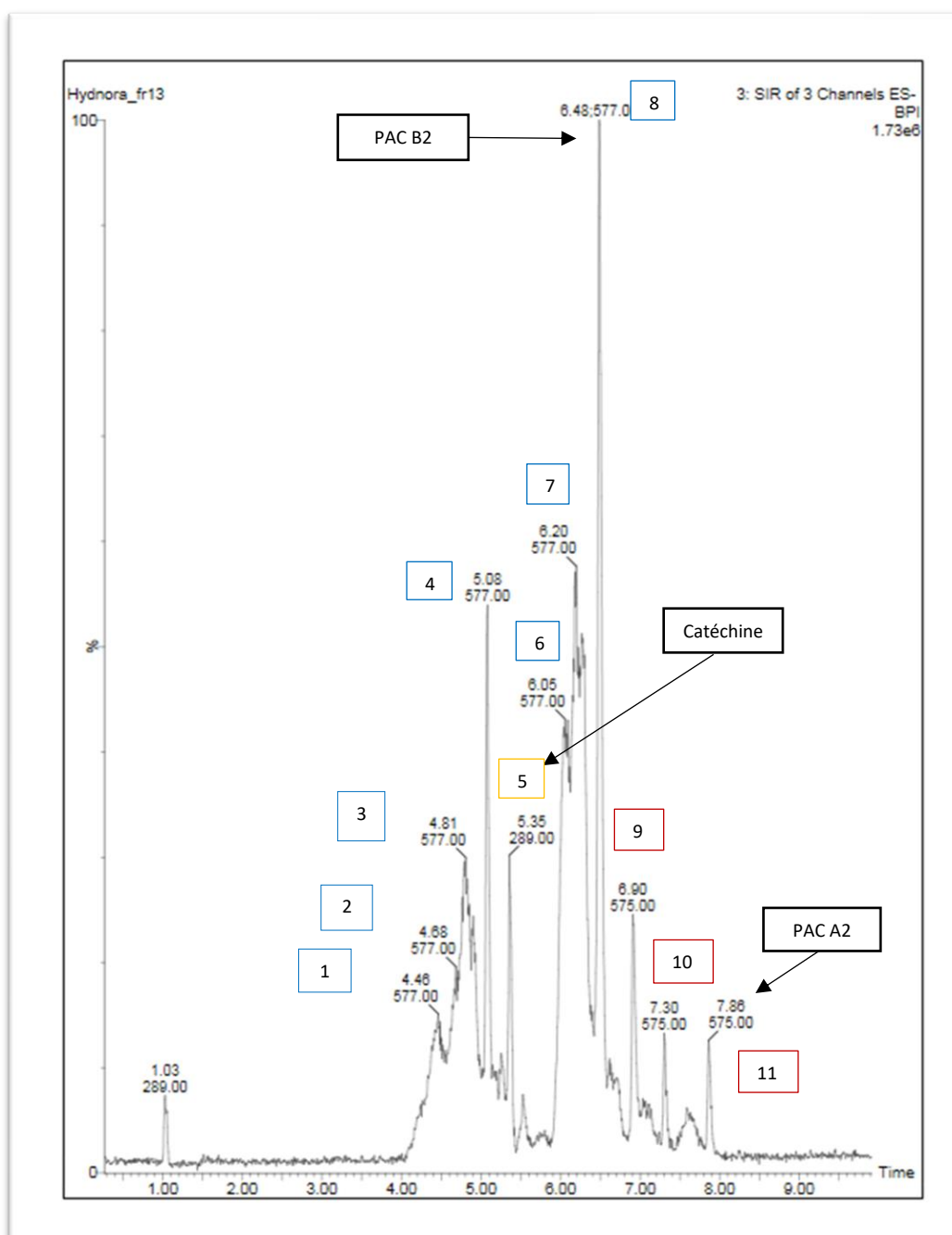
Annexe 7 : HPTLC 3-spectre UV des fractions 9-13 avec le témoin PAC B2 à 200 nm.



Annexe 8 : HPTLC 3- analyse par le scanner de plaque des fractions F11-F13 avec le témoin PAC A2 à 200nm.



Annexe 9 : HPTLC 3-spectre UV des fractions F11-F13 avec le témoin PAC A2 à 200nm.



Annexe 10 : LC-MS de la fraction 13 en mode SIR.

Bibliographie

1. Douzet R. Petit lexique de botanique à l'usage de débutant [Internet]. 2007. Disponible sur: <http://gentiana.org/sites/commun/generique/fckeditor/File/Systematique/LexiqueDouzet2007.pdf>
2. 2deca36b64ba94159f7affc2d0db9b17.pdf [Internet]. [cité 14 mars 2021]. Disponible sur: https://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/2deca36b64ba94159f7affc2d0db9b17.pdf
3. bicellulaire :: FloraQuebeca [Internet]. [cité 16 avr 2021]. Disponible sur: <https://www.floraquebeca.qc.ca/bicellulaire-2/>
4. Vallade J. Endosperme ou albumen? Petite histoire d'un choix terminologique relatif à l'organisation de l'ovule et de la graine chez les Phanérogames. *Acta Botanica Gallica*. 1 juin 2004;151(2):205-19.
5. Définition de extrorse - Encyclopædia Universalis [Internet]. [cité 7 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.universalis.fr/dictionnaire/extrorse/>
6. Holoparasite - un aperçu | Sujets ScienceDirect [Internet]. [cité 13 avr 2021]. Disponible sur: <https://www-sciencedirect-com.proxy.scd.univ-tours.fr/topics/agricultural-and-biological-sciences/holoparasite>
7. Endress PK. Floral structure and evolution of primitive angiosperms: Recent advances. *Pl Syst Evol*. 1994;192(1-2):79-97.
8. Glossaire :: FloraQuebeca [Internet]. [cité 16 avr 2021]. Disponible sur: https://www.floraquebeca.qc.ca/glossaire-2/?r_term=periderme&r_domain=tous#
9. Glossaire :: FloraQuebeca [Internet]. [cité 16 avr 2021]. Disponible sur: https://www.floraquebeca.qc.ca/glossaire-2/?r_term=synandre&r_domain=tous#
10. Glossaire :: FloraQuebeca [Internet]. [cité 16 avr 2021]. Disponible sur: https://www.floraquebeca.qc.ca/glossaire-2/?r_term=t%C3%A9nuinucelle&r_domain=tous#
11. Glossaire :: FloraQuebeca [Internet]. [cité 16 avr 2021]. Disponible sur: https://www.floraquebeca.qc.ca/glossaire-2/?r_term=testa&r_domain=tous#
12. Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3. éd. rev. et augm. Paris: Ed. Tec & doc-Lavoisier [u.a.]; 1999. 1120 p.
13. Shahin Hassanpour, Naser Maheri-Sis, Behrad Eshratkhah, Farhad Baghbani Mehmandar. Plants and secondary metabolites (Tannins). *Int J Forest, Soil and Erosion*. 2011;47-53.
14. Salminen JP, Karonen M. Chemical ecology of tannins and other phenolics: we need a change in approach. *Functional Ecology*. 2011;25(2):325-38.
15. Thorogood C. Hydnora: The strangest plant in the world? *Plants, People, Planet*. 2019;1(1):5-7.
16. Maass Erika E, Musselman L John. PARASITIC PLANTS PUMMEL PAVEMENT HYDNORA ABYSSINICA (HYDNORACEAE. *Economic Botany*. 2001;55(1):7-8.
17. abdelgadir.amin_6661.pdf [Internet]. [cité 22 mars 2020]. Disponible sur: http://www.applis.univ-tours.fr/theses/2016/abdelgadir.amin_6661.pdf

18. Bolin JF, Lupton D, Musselman LJ. *Hydnora -arabica* (Aristolochiaceae), a new species from the Arabian Peninsula and a key to *Hydnora*. *Phytotaxa*. 9 févr 2018;338(1):99-108.
19. Liste des plantes WFO | Flore du monde en ligne [Internet]. [cité 10 janv 2022]. Disponible sur: <https://wfo-about.rbge.info/plant-list/taxon/wfo-4000018506-2021-12>
20. Williams VL, Falcão MP, Wojtasik EM. *Hydnora abyssinica*: Ethnobotanical evidence for its occurrence in southern Mozambique. *South African Journal of Botany*. 1 avr 2011;77(2):474-8.
21. Belayneh A, Asfaw Z, Demissew S, Bussa NF. Medicinal plants potential and use by pastoral and agro-pastoral communities in Erer Valley of Babile Wereda, Eastern Ethiopia. *J Ethnobiology Ethnomedicine*. déc 2012;8(1):1-11.
22. Malaisse F. Les *Hydnoraceae*, nouvelle famille pour la flore phanérogamique du Zaïre. *Bulletin du Jardin botanique national de Belgique / Bulletin van de National Plantentuin van België*. 1982;52(1/2):115-8.
23. Musila W, Kisangau D, Muema J. Conservation status and use of medicinal plants by traditional medical practitioners in Machakos District, Kenya. *National Museums of Kenya*. 2002;22:12-8.
24. Wanzala W, Syombua SM, Alwala JO. A survey of the applications and use of ethnomedicinal plants and plant products for healthcare from the Ukambani region in Eastern Kenya. 2016;
25. Onyancha J, Gikonyo N, Wachira S, Wangui, Muita G. An ethnobotanical survey of plants used for the treatment and management of cancer in Embu County, Kenya. *Journal of Medicinal Plants Studies*. Vol. 4. 2019. 39-46 p.
26. Agyeno OE, Aigbokhan EI, Jayeola AA, Elisha EB, Dawurung CJ, Gosomji YJ, et al. Incidence of *Hydnora Thunb.* in Nigeria: First report. *Nigerian Field*. 2018;83:5-14.
27. Molecular Evolution of Plastid Genomes in Parasitic Flowering Plants. *Advances in Botanical Research*. 1 janv 2018;85:315-47.
28. Williams VL, Wojtasik EM, Witkowski ETF. Ethno-ecological evidence for *Hydnora abyssinica* occurring in Johannesburg and Durban traditional medicine markets. *South African Journal of Botany*. 1 avr 2011;77(2):268-79.
29. Wagner ST, Hesse L, Isnard S, Samain MS, Bolin J, Maass E, et al. Major trends in stem anatomy and growth forms in the perianth-bearing Piperales, with special focus on *Aristolochia*. *Annals of Botany*. 1 juin 2014;113(7):1139-54.
30. Musselman LJ, Visser JH. Taxonomy and natural history of *Hydnora* (*Hydnoraceae*). *Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany*. 1989;12(2):317-26.
31. Musselman JH. *Hydnora johannis* in southern Africa. *Dinteria*. 1987;1987(19):77-82.
32. Nickrent DL, Blarer A, Qiu YL, Soltis DE, Soltis PS, Zanis M. Molecular data place *Hydnoraceae* with *Aristolochiaceae*. *American Journal of Botany*. 1 nov 2002;89(11):1809-17.
33. Meijer W. *Hydnoraceae*. In: Kubitzki K, Rohwer JG, Bittrich V, éditeurs. *Flowering Plants · Dicotyledons: Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid Families* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer; 1993 [cité 17 avr 2020]. p. 341-3. (The Families and Genera of Vascular Plants). Disponible sur: https://doi.org/10.1007/978-3-662-02899-5_41

34. Plantes et botanique - famille des Hydnoraceae [Internet]. Plantes et botanique. Plantes et botanique; 2020 [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: https://www.plantes-botanique.org/famille_hydnoraceae
35. Takhtajan A, éditeur. Class Magnoliopsida (Dicotyledons). In: Flowering Plants [Internet]. Dordrecht: Springer Netherlands; 2009 [cité 23 juin 2022]. p. 7-588. Disponible sur: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9609-9_2
36. Leemann AC. The anatomical and physiological relation between *Hydnora solmsiana* Dinter and its host. *Annals of Botany*. 1933;47(185):159-62.
37. Seymour RS, Maass E, Bolin JF. Floral thermogenesis of three species of *Hydnora* (Hydnoraceae) in Africa. *Ann Bot*. 1 oct 2009;104(5):823-32.
38. Urru I, Stensmyr MC, Hansson BS. Pollination by brood-site deception. *Phytochemistry*. 1 sept 2011;72(13):1655-66.
39. Juillet N, Dormont L, Schatz B. Facilitation de pollinisation chez les orchidées trompeuses trompeuses. In 2010.
40. Jean B. Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants (2e ed. - tirage broché). Lavoisier; 2008. 883 p.
41. Coughenour MB, Ellis JE, Popp RG. Morphometric Relationships and Developmental Patterns of *Acacia tortilis* and *Acacia reficiens* in Southern Turkana, Kenya. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. 1990;117(1):8-17.
42. Code-barres ADN pour caractériser la biodiversité [Internet]. Encyclopédie de l'environnement. 2016 [cité 23 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.encyclopedie-environnement.org/vivant/metabarcoding-codes-barres-adn-caracteriser-biodiversite/>
43. Williams VL, Falcão MP, Wojtasik EM. *Hydnora abyssinica*: Ethnobotanical evidence for its occurrence in southern Mozambique. *South African Journal of Botany*. 1 avr 2011;77(2):474-8.
44. Osman HMY. Anti-diarrhoeal Activity of *Hydnora abyssinica* Aqueous Root Extract in Rats [PhD Thesis]. Department of Preventive Medicine and Veterinary Public Health, Faculty of ...; 2010.
45. Onyancha JM, Cherongis CN, Nzivo JM. Phytochemical screening and evaluation of antioxidant activity of methanolic extract of kenyan *hydnora abyssinica* A. Braun (Hydnoraceae). *JIPBS*. 2015;2(1):1-6.
46. Williams VL, Wojtasik EM, Witkowski ETF. Ethno-ecological evidence for *Hydnora abyssinica* occurring in Johannesburg and Durban traditional medicine markets. *South African Journal of Botany*. 1 avr 2011;77(2):268-79.
47. Yagi S, Chrétien F, Duval RE, Fontanay S, Maldini M, Piacente S, et al. Antibacterial activity, cytotoxicity and chemical constituents of *Hydnora johannis* roots. *South African Journal of Botany*. janv 2012;78:228-34.
48. Elegami AA, Almagboul AZ, Omer MEA, El Tohami MS. Sudanese plants used in folkloric medicine: screening for antibacterial activity. Part X. *Fitoterapia (Milano)*. 2001;72(7):810-7.
49. Koko WS, Mesaik MA, Ranjitt R, Galal M, Choudhary MI. Immunosuppressive phenolic compounds from *Hydnora abyssinica* A. Braun. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 9 nov 2015;15(1):400.

50. acide oleique [Internet]. Disponible sur: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.393217.html?rid=51db5db8-80a4-431f-b55e-4caae50f9df7>
51. acide myristique [Internet]. Disponible sur: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.10539.html?rid=931dfafb-bff2-4670-b994-2af995323367>
52. Acide palmitique [Internet]. Disponible sur: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.960.html?rid=feded1bb-ffbf-44f3-998d-81ed77a20779>
53. 24-éthylcholesta-5,22-dien-3β-ol [Internet]. Disponible sur: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4444352.html>
54. Al-Fatimi M, Ali N a. A, Kilian N, Franke K, Arnold N, Kuhnt C, et al. Ethnobotany, chemical constituents and biological activities of the flowers of *Hydnora abyssinica* A.Br. (Hydnoraceae). *Pharmazie*. avr 2016;71(4):222-6.
55. Acide acétique, 99,5 %, pur, ACROS Organics®; - Construction des éléments organiques Produits chimiques [Internet]. [cité 8 avr 2021]. Disponible sur: <https://www.fishersci.fr/shop/products/acetic-acid-99-5-pure-acros-organics-4/p-3212329>
56. Acétate d'éthyle (FT 18). Généralités - Fiche toxicologique - INRS [Internet]. [cité 8 avr 2021]. Disponible sur: https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_18
57. Acide alpha-linolénique – Recherche Google [Internet]. [cité 9 avr 2021]. Disponible sur: https://www.google.com/search?q=Acide+alpha-linol%C3%A9nique&rlz=1C1CHBF_frFR875FR875&sxsrf=ALeKk01lw4WWa9jNegcgh3AbUOL8mBoMVA:1617917955336&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjtkYOIzu_vAhUa_7slHYkzAk0Q_AUoAnoECAEQBA&biw=1600&bih=732#imgsrc=fAf34LrQxoL2tM
58. (+)-Sabinene 84085 [Internet]. Sigma-Aldrich. [cité 8 avr 2021]. Disponible sur: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/84085>
59. (<I>R</I>)-(+)-Limonene 183164 [Internet]. 5989-27-5. [cité 8 avr 2021]. Disponible sur: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/183164>
60. α-Terpinene 86473 [Internet]. 99-86-5. [cité 8 avr 2021]. Disponible sur: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/86473>
61. γ-terpinene [Internet]. [cité 11 avr 2021]. Disponible sur: <https://www.wikidata.org/wiki/Q423975>
62. beta-Sitosterol [Internet]. [cité 8 avr 2021]. Disponible sur: https://www.chemsrc.com/en/cas/83-46-5_749358.html
63. Kaingu CK, Oduma JA, Kanui TI. Practices of Traditional Birth Attendants in Machakos District, Kenya. *Journal of Ethnopharmacology*. 1 sept 2011;137(1):495-502.
64. Gachohi J, Skilton R, Hansen F, Ngumi P, Kitale P. Epidemiology of East Coast fever (*Theileria parva* infection) in Kenya: past, present and the future. *Parasites & Vectors*. 7 sept 2012;5(1):194.
65. Yagi S. Etudes phytochimique et biologique de plantes soudanaises: *Hydnora johannis* Beccari (Hydnoraceae) et *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai var. *citroides* (Bailey) Mansf.(Cucurbitaceae) [PhD Thesis]. Nancy 1; 2011.

66. Yagi S, Drouart N, Bourgaud F, Henry M, Chapleur Y, Laurain-Mattar D. Antioxidant and antiglycation properties of *Hydnora johannis* roots. *South African Journal of Botany*. 1 janv 2013;84:124-7.
67. Ahmad MS, Ahmed N. Antiglycation Properties of Aged Garlic Extract: Possible Role in Prevention of Diabetic Complications. *The Journal of Nutrition*. 1 mars 2006;136(3):796S-799S.
68. Saadabi A, Ayoub S. Comparative bioactivity of *Hydnora abyssinica* A. Braun against different groups of fungi and bacteria. *Journal of Medicinal Plants Research*. 1 mai 2009;3:262-5.
69. Ayoub SMH. Evaluation of phytochemical and antimicrobial activities of some Sudanese medicinal plants. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014;3(12):1769-76.
70. Klutse A, Baleux B. Survival of *Bulinus truncatus* and *Biomphalaria pfeifferi* in sewer water purified in stabilization ponds in a Sudanese-Saharan zone. *Medecine tropicale: revue du corps de santé colonial*. 1996;56(1):41-7.
71. Onyancha JM, Gikonyo NK, Wachira SW, Mwitari PG, Gicheru MM. Anticancer activities and safety evaluation of selected Kenyan plant extracts against breast cancer cell lines. *J Pharmacognosy Phytother*. 28 févr 2018;10(2):21-6.
72. McCord JM, Roy RS. The pathophysiology of superoxide: roles in inflammation and ischemia. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* [Internet]. 1982 [cité 8 avr 2021];60(11). Disponible sur: <https://cdnsiencepub.com/doi/abs/10.1139/y82-201>
73. Deng YT, Liang G, Shi Y, Li HL, Zhang J, Mao XM, et al. Condensed tannins from *Ficus altissima* leaves: Structural, antioxidant, and antityrosinase properties. *Process Biochemistry*. 1 août 2016;51(8):1092-9.
74. Gaulejac NV de, Vivas N, Absalon C, Nonier MF. Identification of procyanidin A2 in grape and wine of *Vitis vinifera* L. cv: Merlot noir and Cabernet Sauvignon. *OENO One*. 31 mars 2001;35(1):51-6.
75. Mari A, Eletto D, Pizza C, Montoro P, Piacente S. Integrated mass spectrometry approach to profile proanthocyanidins occurring in food supplements: Analysis of *Potentilla erecta* L. rhizomes. *Food Chemistry*. 15 déc 2013;141(4):4171-8.
76. Belaiche J. Physiopathologie des diarrhées aiguës infectieuses. *Acta endoscopica*. 2000;30(3):177-84.
77. Jean B. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.). Lavoisier; 2009. 1289 p.
78. Dawurung C, Gotep J, Usman J, Elisha I, Lombin L, Pyne S. Antidiarrheal activity of some selected Nigerian plants used in traditional medicine. *Phcog Res*. 2019;11(4):371.
79. Pneumonie [Internet]. [cité 16 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/pneumonia>
80. Alexandre J, Balian A, Bensoussan L, Chaïb A, Gridel G, Kinugawa K, et al. Angine. Le tout en un révisions IFSI. 2009;1091-4.
81. Angines - Médecine d'urgence - Urgences médicales [Internet]. [cité 16 nov 2021]. Disponible sur: <https://urgences-serveur.fr/angines,2162.html>

82. Ndwigah SN. Phytochemical Antibacterial And Antifungal Study Of *Dombeya Torrida* (JF Gmel) And *Hydnora Abyssinica* (A. Braun) [PhD Thesis]. University of Nairobi; 2013.
83. Chao CY, Yin MC. Antibacterial Effects of Roselle Calyx Extracts and Protocatechuic Acid in Ground Beef and Apple Juice. *Foodborne Pathogens and Disease*. 1 mars 2009;6(2):201-6.
84. Medina E, de Castro A, Romero C, Brenes M. Comparison of the Concentrations of Phenolic Compounds in Olive Oils and Other Plant Oils: Correlation with Antimicrobial Activity. *J Agric Food Chem*. 1 juill 2006;54(14):4954-61.
85. Foo LY, Lu Y, Howell AB, Vorsa N. A-Type Proanthocyanidin Trimers from Cranberry that Inhibit Adherence of Uropathogenic P-Fimbriated *Escherichia coli*. *J Nat Prod*. 1 sept 2000;63(9):1225-8.
86. Nowack R. Cranberry juice – a well-characterized folk-remedy against bacterial urinary tract infection. *Wien Med Wochenschr*. juill 2007;157(13-14):325-30.
87. Laurent M, Gogly B, Tahmasebi F, Paillaud E. Les candidoses oropharyngées des personnes âgées. *Gériatrie et Psychologie Neuropsychiatrie du Vieillissement*. 1 mars 2011;9(1):21-8.
88. Saadabi AMA, Ayoub SMH. Comparative bioactivity of *Hydnora abyssinica* A. Braun against different groups of fungi and bacteria. 2009;
89. Cicerale S, Lucas L, Keast R. Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *Current Opinion in Biotechnology*. avr 2012;23(2):129-35.
90. Feldman M, Tanabe S, Howell A, Grenier D. Cranberry proanthocyanidins inhibit the adherence properties of *Candida albicans* and cytokine secretion by oral epithelial cells. *BMC Complement Altern Med*. déc 2012;12(1):1-12.
91. Immunopathologie et réactions inflammatoires [Internet]. [cité 5 déc 2021]. Disponible sur: https://books.google.com/books/about/Immunopathologie_et_r%C3%A9actions_inflammat.html?hl=fr&id=W6PXMdcyWPOC
92. Gabay O, Sanchez C, Salvat C, Chevy F, Breton M, Nourissat G, et al. Stigmasterol: a phytosterol with potential anti-osteoarthritic properties. *Osteoarthritis and Cartilage*. 1 janv 2010;18(1):106-16.
93. Ho SC, Hwang LS, Shen YJ, Lin CC. Suppressive Effect of a Proanthocyanidin-rich Extract from Longan (*Dimocarpus longan* Lour.) Flowers on Nitric Oxide Production in LPS-Stimulated Macrophage Cells. *J Agric Food Chem*. 1 déc 2007;55(26):10664-70.
94. Li XL, Cai YQ, Qin H, Wu YJ. Therapeutic effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds in rats with TNBS-induced ulcerative colitis. *Can J Physiol Pharmacol*. 1 déc 2008;86(12):841-9.
95. Lende AB, Kshirsagar AD, Deshpande AD, Muley MM, Patil RR, Bafna PA, et al. Anti-inflammatory and analgesic activity of protocatechuic acid in rats and mice. *Inflammopharmacol*. 12 juill 2011;19(5):255.
96. Hu X, Zhang X, Qiu S, Yu D, Lin S. Salidroside induces cell-cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 16 juill 2010;398(1):62-7.
97. Kampa M, Theodoropoulou K, Mavromati F, Pelekanou V, Notas G, Lagoudaki ED, et al. Novel Oligomeric Proanthocyanidin Derivatives Interact with Membrane Androgen Sites and Induce Regression of Hormone-Independent Prostate Cancer. *J Pharmacol Exp Ther*. 1 avr 2011;337(1):24-32.

98. Rauf A, Imran M, Abu-Izneid T, Iqbal-Ul-Haq, Patel S, Pan X, et al. Proanthocyanidins: A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 1 août 2019;116:108999.
99. Kore KJ, Bramhakule PP, Rachhadiya RM, Shete RV. Evaluation of antiulcer activity of protocatechuic acid ethyl ester in rats. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*. 2011;2(7):p909-915. 7p.
100. Mustafa EH, Abu Zarga M, Abdalla S. Effects of cirsiol, a flavone isolated from *Achillea fragrantissima*, on rat isolated ileum. *General Pharmacology: The Vascular System*. 1 mai 1992;23(3):555-60.
101. Zhang X, Zhao J feng, Zhao F, Yan J feng, Yang F, Huang X jun, et al. The Protective Effect of Salidroside on Hypoxia-Induced Corpus Cavernosum Smooth Muscle Cell Phenotypic Transformation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 17 juill 2017;2017:e3530281.
102. de la Iglesia R, Milagro FI, Campión J, Boqué N, Martínez JA. Healthy properties of proanthocyanidins. *BioFactors*. 2010;36(3):159-68.
103. Bernatoniene J, Kopustinskiene DM. The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress. *Molecules*. 20 avr 2018;23(4):965.
104. Anand A, Khurana R, Wahal N, Mahajan S, Mehta M, Satija S, et al. Vanillin: A comprehensive review of pharmacological activities. *Plant Arch*. 2019;19(2):1000-4.
105. Kakkar S, Bais S. A Review on Protocatechuic Acid and Its Pharmacological Potential. *ISRN Pharmacology*. 26 mars 2014;2014:1-9.
106. Gupta MK, Senthilkumar S, Chiranjivi AK, Banik K, Girisa S, Kunnumakkara AB, et al. Antioxidant, anti-tyrosinase and anti-inflammatory activities of 3, 5-dihydroxy-4', 7-dimethoxyflavone isolated from the leaves of *Alpinia nigra*. *Phytomedicine Plus*. 2021;1(3):100097.

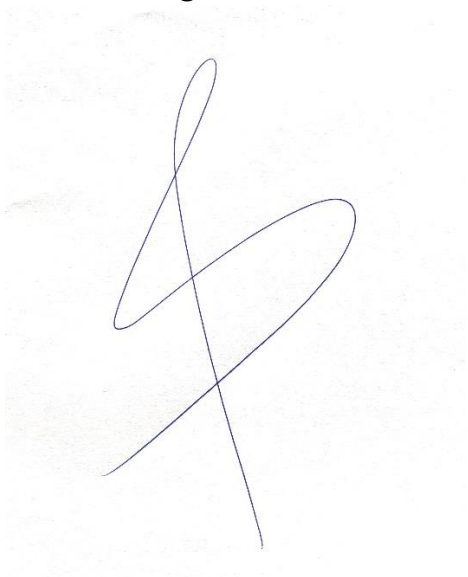
ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné (e) BIEHLER Olga

Déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. (Décret n°92-657 du 13 juillet 1992)

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

signature :



SIGNATURES DU DIRECTEUR DE THESE ET DU DOYEN

N° Étudiant : 20907935

N° Thèse : 34

Nom et Prénom : BIEHLER Olga

Sujet : Composition phytochimique en tanins
condensés de *Hydnora abyssinica*

Tours, le : 29 juin 2022

Le(s) Directeur(s) de Thèse :

Professeur ENGUEHARD-GUEFFIER Cecile



Vu et Transmis :
Le Doyen

POUR LE PRÉSIDENT
et par délégation
Le directeur de la Faculté

Pr Denys BRAND





TITRE DE LA THESE

RESUME DE LA THESE

L'Hydnora abyssinica est une plante holoparasite répandue sur le continent africain. Sa morphologie est réduite jusqu'au rhizome souterrain. Dépourvue de chlorophylle, elle ne synthétise les métabolites primaires et secondaires. De ce fait cette plante les prélève sur les racines de l'Acacia spp.

Cette plante est utilisée dans la médecine traditionnelle dans différents pays africains. Elle possède les propriétés pharmacologiques suivantes : antidiarrhéique, antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoire, cicatrisante, antiulcéreuse, antispasmodique, veinotonique, antioxydante, anticancéreuse.

Dans la composition phytochimique de son rhizome, on retrouve un certain nombre de molécules telle que : vanilline, acide protocatéchique, procatéchuate d'éthyle, tyrosol, cirsiol, catéchine, *Trans* 3,5-dihydroxy-4',7-diméthoxyflavone, katsumadine, salidroside, acide oléique, acide myristique, acide palmitique, stigmastérol.

Grace aux trois méthodes de la chromatographie (CHLP, CCHLP, CLMS) au laboratoire de la Pharmacognosie de la Faculté de Pharmacie de Tours (EA 7502 SIMBA), deux nouvelles molécules ont été mises en évidence : PAC A2 et PAC B2.....

MOTS CLES SIGNIFICATIFS DE SON CONTENU, ATTRIBUES PAR LE CANDIDAT EN LIAISON
AVEC LA BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE ET LES MEMBRES DU JURY

Hydnora abyssinica, plante holoparasite, tanins condensés, : procyanidine PAC A2,
PAC B2.

JURY

PRESIDENT :

ENGUEHARD-GUEIFFIER Cécile Professeur d'université de Tours

MEMBRES :

BOUDESOCQUE-DELAYE Leslie Professeur d'université de Tours

LANOUE Arnaud Maître de conférences d'université de Tours

ANQUETIL-BEHRA Carole pharmacienne titulaire, pharmacie de la Petite Arche

FOUCHET Frederic pharmacien titulaire, pharmacie de la Petite Arche