

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida 1



Faculté des Science De La Nature et de la Vie
Département Agro- alimentaires

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master en

Spécialité : **Nutrition et Pathologies**

Filière : **Sciences Alimentaires**

Domaine : **Sciences de la Nature et de la Vie**

Thème :

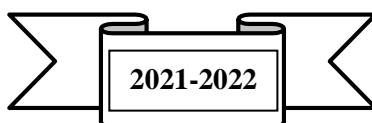
Etude de l'activité anti-oxydant du curcuma
(Curcuma longa)

Réalisé par :

ISSOUFI IDRISSE MOUHAMADOU
MESDOUR RIFKA

Sous la Direction :

Dr KOUIDRI. A	MCA U. Blida 1	Président
Dr MEZIANE. Z	MCB U. Blida 1	Examineur
Dr HADJADJ. N	MCA U. Blida 1	Promoteur



Remerciements

Ce mémoire est le résultat d'un travail qui a pu naître et se dérouler grâce à la confiance que m'a témoigné notre promotrice, **Madame Hadjadj**. Je tiens à lui remercier vivement pour son aide, ses conseils, sa compréhension et sa patience qui ont été très utiles tout au long de ce mémoire.

Mes remerciements s'adressent également à **Dr Kouidri** et **Dr. Meziane** pour avoir consacré leur temps précieux pour examiner ce travail.

Nos profonds remerciements vont également à tous nos enseignants, ainsi que tous les membres du département.

Je souhaiterais conclure en adressant un remerciement tout particulier au chef de Département de Sciences Alimentaires **madame Ben leman**.

Dédicace

Au nom de DIEU le clément et le Miséricordieux

Je dédie ce travail à l'homme, ma précieuse offre de Dieu, qui doit ma vie, mon succès et tout mon respect mon cher père **MOHAMED ALI**.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à nos âmes et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, mon adorable mère **FATIHA**.

A mon meilleur ami Mohamed qui est aussi mon binôme qui n'est pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir.

A mes chères sœurs **Soundousse** et **Rofaida** que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie. A ma famille : Amine ... et a tous mes incroyables amies qui sont toujours là pour moi.

Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

Dédicace

Au nom de DIEU le clément et le Miséricordieux ainsi que
notre Prophète (PSL).

Je dédie cet ouvrage à ma bien aimé ma mère AICHATOU MOUSSA,
qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études.

Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

À mon père, mes frères et sœurs, mes proches, ma famille qui m'ont
toujours soutenu.

À ma très chère RIFKA, ainsi que sa formidable famille pour leur
générosité et leur bonté.

A tous mes amis, camarades et connaissances Algériens comme
Nigériens qui me donnent de l'amour et de la vivacité.

À tous ceux que j'aime.

Merci beaucoup je vous aime du fond du cœur.

Résumé

On a choisi la plante de curcuma pour avoir ces activités biologiques et ses vertus.

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait non volatil brut de *Curcuma longa* afin de le proposer comme alternative aux conservateurs chimiques utilisés dans les industries alimentaires. Les résultats obtenus sont les suivants :

Le rendement en extrait non volatil brut est de l'ordre de 5,93%. Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait sont respectivement de 192,6 mg EAG/g d'extrait et 159,8 mg EQ/g d'extrait. De telles teneurs offrent à notre extrait un pouvoir antioxydant intéressant.

L'extrait manifeste une capacité de piégeage du radical DPPH même à la plus faible concentration de 10 mg/L avec un taux d'inhibition d'environ de 17%. L'activité maximale est d'environ 69,63 % mesurée à la concentration (600 mg/L). L'activité de piégeage du radical DPPH est dose dépendante car elle augmente avec la concentration de ce dernier. L'activité de piégeage du cation radicalaire ABTS^{•+} va de 29,51 % à la plus faible concentration (12,25mg/L) jusqu'à 94,66 % pour la plus grande concentration étudiée (600 mg/L). Cette activité dépasse même celle de l'antioxydant de référence (BHT) (86,35 mg/L) pour les plus grandes concentrations testées.

Les valeurs IC₅₀ calculées confirment l'activité de piégeage de l'extrait de curcuma vis à vis des deux radicaux libres testés DPPH et ABTS. ⁺, avec des valeurs respectives de 51,42±1,97 mg/L et 26,43±0,89 mg/L. La plus faible IC₅₀ est enregistrée pour le radical ABTS traduisant ainsi la plus grande capacité de piégeage de celui-ci par extrait non volatil brut de *Curcuma longa*.

En perspective, il serait fort intéressant de compléter cette étude par :

Le développement des conservateurs contre l'oxydation et le rancissement dans le domaine agro- alimentaire à base de cette espèce.

Mots clés : *Curcuma longa*, polyphénols, flavonoïdes, extrait non volatil, activité antioxydante, DPPH, ABTS.

Abstract

The presents work aims to evaluate the antioxidant activity of the non-volatile crude extract of *Curcuma longa* in order to propose it as an alternative to the chemical preservatives used in the food industries. The results obtained are as follows:

The yield of crude non-volatile extract is about 5.93%. The contents of total polyphenols and flavonoids in the extract are respectively 192.6 mg EAG/g extract and 159.8 mg EQ/g extract. Such contents offer to our extract an interesting antioxidant power.

The extract exhibits DPPH radical scavenging ability even at the lowest concentration of 10 mg/L with an inhibition rate of about 17%. The maximum activity is about 69.63% measured at the concentration (600 mg/L). The DPPH radical scavenging activity is dose dependent as it increases with DPPH concentration. The scavenging activity of the radical cation ABTS^{•+} ranges from 29.51% at the lowest concentration (12.25mg/L) to 94.66% for the highest concentration studied (600 mg/L). This activity even exceeds that of the reference antioxidant (BHT) (86.35 mg/L) for the highest concentrations tested.

The calculated IC₅₀ values confirm the scavenging activity of turmeric extract towards the two tested free radicals' DPPH and ABTS^{•+}, with respective values of 51.42±1.97 mg/L and 26.43±0.89 mg/L. The lowest IC₅₀ is recorded for the ABTS radical, thus reflecting the greater trapping capacity of this radical by crude non-volatile extract of *Curcuma longa*.

Keywords: *Curcuma long*, polyphenols, flavonoids, non-volatile extract, antioxidant activity, DPPH, ABTS.

ملخص

يهدف العمل الحالي إلى تقييم النشاط المضاد لألكسدة لمستخلص خام كركم لونجا غير المتطاير من أجل اقتراحه كبديل للمواد الحافظة الكيميائية المستخدمة في الصناعات الغذائية، وكانت النتائج المتحصل عليها كما يلي:

يبلغ عائد المستخلص الخام غير المتطاير حوالي 5.93%. محتويات البولي فينول الكلي والفالفونويد من المستخلص هي على التوالي 192.6 مجم من خالصة EAG / جم و 159.8 مجم من خالصة EQ / جم. تعطي هذه المستويات خالصتنا قوة مثيرة لاهتمام من مضادات الألكسدة.

يُظهر المستخلص قدرة على تنظيف جذور DPPH حتى عند أقل تركيز قدره 10 مجم / لتر مع معدل تثبيط يبلغ حوالي 17%. يبلغ الحد الأقصى للنشاط حوالي 69.63% (قُاسًا عند التركيز) 600 مجم / لتر). يعتمد نشاط الكسح الجذري لـ DPPH على الجرعة لأنه يزداد مع تركيز الأخير. يتراوح نشاط ABTS • + كسح الكاتيون الجذري من 29.51% بأقل تركيز (12.25 مجم / لتر) إلى 94.66% أعلى تركيز تمت دراسته (600 مجم / لتر). يتجاوز هذا النشاط نشاط مضادات الألكسدة المرجعية (86.35 مجم / لتر) أعلى تركيزات تم اختبارها. تؤكد قيم 50IC المحسوبة نشاط الكسح لمستخلص الكركم فيما يتعلق بالجذور الحرة المختبرة DPPH و ABTS • + بقيم كل منها 51.42 ± 1.97 مجم / لتر و 26.43 ± 0.89 مجم / لتر. تم تسجيل أدنى 50IC لجذر ABTS، مما يعكس قدرة الصطياد الأكبر لأخير بواسطة المستخلص الخام غير المتطاير من *Curcuma longa*.

الكلمات المفتاحية: كركم لونجا، بولي فينول، فالفونويد، مستخلص غير متطاير، نشاط مضاد لألكسدة،

ABTS، DPPH

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Page
Tableau 1	Principaux composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne	31
Tableau 2	Classification botanique de la plante <i>Curcuma longa</i>	42
Tableau 3	Contenu biochimique des rhizomes de curcuma séchés	43
Tableau 4	Formule chimique de quelques colorants alimentaires synthétique	55
Tableau 5	Stéroïdes du <i>curcuma longa</i>	59
Tableau 6	Acides gras contenus dans <i>Curcuma longa</i> ...	59
Tableau 7	Composition biochimique et nutritionnelle de 100 g de <i>Curcuma longa</i>	61
Tableau 8	Matériel végétal utilisé	76
Tableau 9	Caractéristiques physiques et rendements d'extraction de <i>Curcuma longa</i> en (%)	83
Tableau 10	Rendements en extrait sec non volatil de <i>Curcuma longa</i> . (%) rapportés par la bibliographie	83
Tableau 11	Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait non volatil brut de <i>Curcuma longa</i>	84
Tableau 12	Concentrations inhibitrices de 50% des radicaux libres (DPPH• et ABTS•+) de l'extrait non volatil brut de <i>Curcuma longa</i> exprimée en mg/L	89
Tableau 13	Concentrations inhibitrices de 50% des radicaux libres de l'extrait de <i>Curcuma longa</i> rapportées par dans la littérature	90

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
Figure 1	La plante sacrée : l'éphédra dans le zoroastrisme et dalle d'argile sumérienne vieille de 5000 ans à Nagpur	03
Figure 2	Le Pen T'Sao, 1249 EC Imprimé avec des gravures sur bois, ce livre illustré traite de la phytothérapie chinoise	04
Figure 3	Le processus traditionnel de découverte des médicaments naturels	08
Figure 4	Le processus moderne de découverte de médicaments naturels	09
Figure 5	Evolution de l'inflammation aiguë	11
Figure 6	Initiation de l'inflammation	12
Figure 7	Migration de monocyte vers le foyer inflammatoire	13
Figure 8	Processus de résolution et de réparation tissulaire	14
Figure 9	Site d'inhibition des cyclo-oxygénases par l'aspirine et les AINS	16
Figure 10	Principales circonstances pathologiques accompagnant le stress oxydant. ARDS : Syndrome de détresse respiratoires aigüe ; Sida : Syndrome d'immunodéficience acquise ; ALS : Sclérose latéral amyotrophique	19
Figure 11	Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote intervenant dans le phénomène du stress oxydant	22
Figure 12	Sources endogènes des espèces réactives oxygénées	22

Figure 13	Cibles biologiques et dommages induits par les ROS	25
Figure 14	Réaction de la peroxydation lipidique	26
Figure 15	Principales stratégies mises par les bactéries pour résister à l'action des antibiotiques	29
Figure 16	La curcumine inhibe la croissance de cellules cancéreuses variées	32
Figure 17	Etapes de la progression tumorale inhibées par la curcumine	33
Figure 18	Différentes espèces de <i>Curcuma longa</i>	40
Figure 19	Les différents noms de <i>Curcuma longa</i>	41
Figure 20	Rhizomes et feuillage du curcuma (<i>Curcuma longa</i>)	43
Figure 21	Feuillage de <i>Curcuma longa</i>	44
Figure 22	Structure chimique et division des monoterpénoïdes (acyclique, monocyclique, bicyclique)	45
Figure 23	La reproduction végétative de <i>Curcuma longa</i> ..	46
Figure 24	Fleur de <i>Curcuma longa</i>	47
Figure 25	Termite blanc (<i>Odontotermes obesus</i>)	47
Figure 26	Structure chimique des principaux curcuminoïdes	54
Figure 27	Structure chimique des monoterpènes	57
Figure 28	Structure chimique du sesquiterpène cétonique majeur	58
Figure 29	Structure chimique des diterpènes et triterpènes ..	58

Figure 30	Structure chimique des stéroïdes de <i>Curcuma longa</i>	59
Figure 31	Structure chimique des acides gras de <i>Curcuma longa</i>	60
Figure 32	Composés chimiques trouvés au curcuma	60
Figure 33	Eléments métalliques dans le curcuma	61
Figure 34	Composés actifs des extraits et de la poudre de <i>Curcuma longa</i>	62
Figure 35	Les deux fractions majoritaires dans l'oléorésine de Curcuma	62
Figure 36	Extraction par entraînement à la vapeur	64
Figure 37	Extraction par hydrodistillation	65
Figure 38	Extraction assistée par micro-ondes	69
Figure 39	Montage d'extraction selon le principe « VMHD » (Vacuum Microwave Hydrodistillation)	70
Figure 40	Schéma d'extraction selon le principe (Solvant Free Extraction Microwave) SFME	71
Figure 41	La méthode d'extraction à froid (macération) ...	74
Figure 42	Extraction des flavonoïdes par décoction	74
Figure 43	Appareil de Soxhlet	75
Figure 44	Transformation du rhizomes en poudre	76
Figure 45	Dispositif de macération à gauche, Rotavapor à droite	77
Figure 46	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	79
Figure 47	Courbe d'étalonnage de la Quercétine	88
Figure 48	Les dilutions préparées à partir de la solution mère	80

Figure 49	Inhibition du radical DPPH• par un antioxydant AH	85
Figure 50	Inhibition du radical DPPH• par un antioxydant AH	86
Figure 51	Activité de piégeage du radical DPPH• par l'extrait de Curcuma Longa exprimée en %	86
Figure 52	Réaction du radical ABTS•+en présence d'un antioxydant	87
Figure 53	Réaction du radical ABTS•+en présence d'un antioxydant	88
Figure 54	Activité de piégeage du radical ABTS•+ l'extrait non volatil brut de Curcuma longa (%)	88

LISTE DES ABREVIATIONS

1. AINS: Anti-inflammatoires non stéroïdiens.
2. AIS: Anti-inflammatoires stéroïdiens.
3. ALAT: Alanine aminotransférase
4. ASK-1: Apoptosis signal regulating Kinase-1
5. ASAT: Aspartate transaminase
6. ATCC: American Type Culture Collection
7. BHT: butylatedhydroxytoluene
8. CAT: Catalase
9. COX: Cyclooxygenase
10. CSF: Colonies Stimulating Factor
11. DL₅₀: Dose létale 50
12. DMSO: Diméthyle sulfoxyde
13. DPPH: 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl
14. EAG: Equivalent d'acide gallique
15. E. Aq : Extrait aqueux
16. EAT: Equivalent acide tannique
17. EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid
18. EGF: Epidermal Growth Factor
19. ELAM: Molécules d'adhérence des leucocytes endothéliales
20. E. Met : Extrait méthanolique
21. EQ: Equivalent quercétine
22. ERK: Extracellular Signal Regulated Kinases
23. ERN: Espèce réactive d'azote
24. ERO: Espèce réactive d'oxygène
25. GLU: Glucose
26. GSH: Glutathion
27. GM-CSF: Granulocyte monocyte-colony stimulating factor
28. HPLC-TOF-MS: High Performance Liquid Chromatography Time of Flight-MassSpectrometry.
29. IC₅₀: Concentration inhibitrice à 50%
30. ICAM : Inter Cellular Adhesion Molecule

31. IFNγ : Interféron γ
32. IL : Interleukine
33. iNOS : Oxyde nitrique synthase inductible
34. JNK : Kinase-c-Jun N-terminal
35. LOX : Lipooxygénase
36. LPS : Lipopolysaccharides
37. Lh : Lymphocyte T helper
38. MAPK : Mitogen Activated Protein Kinase
39. MDA : Malondialdéhyde
40. MPO : Myeloperoxydase
41. MCP-1 : Monocyte Chemotactic Factor
42. NF-κB : Nuclear factor-kappaB.
43. NO : Nitric Oxyde
44. OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economiques
45. PAF : Facteur activateur des plaquettes
46. PAL : Phosphatase alcaline
47. PBMC : Cellules mononucléaires périphériques
48. PFG : Produits finaux de glycosylation
49. PGH₂ : Prostaglandine H ₂
50. PLA₂ : Phospholipase A ₂
51. PMNs : Polynucléaires morphonucleaires neutrophiles
52. SEM : Erreur standard de la moyenne
53. SD : Standard déviation
54. SDS-PAGE : Sodium dodecyl sulfate- polyacrylamid gel electrophoresis
55. SOD : Superoxyde dismutase
56. TEMED : Tetra Methyl Ethylene Diamine
57. TGF-β : Facteur de croissance transformant β
58. TNF : Facteur de necrose tumoral
59. VCAM : Vascular Cell Adhesion Molecule-1
60. VEGF : Vascular endothelial growth factor
61. XO : Xanthine oxidase.

Sommaire

INTRODUCTION GENERAL	01
CHAPITRE I : PLANTES MEDICINALES.....	
I. Histoire des plantes médicinales.....	02
I.1. Historiques de l'étude et de l'utilisation des plantes médicinales	03
I.2. Vertus des plantes médicinales	04
I.3. Usages des plantes médicinales.....	06
I.4. Processus de découverte de médicaments naturels	07
I.5. Processus modernes de découverte de médicaments naturels.....	08
CHAPITRE II : ACTIVITES BIOLOGIQUES DES PLANTES MEDICINALES ...	
II.1. Activité Inflammatoire.....	10
II.2. Inflammation aigue.....	10
II.2.1. Phase vasculaire	10
II.2.2. Phase cellulaire.....	11
II.2.3. Phase de résolution.....	13
II.2.4. Anti-inflammatoires stéroïdiens.....	15
II.2.5. Anti-inflammatoires d'origine végétale.....	16
II.3. Activité anti oxydante.....	18
II.3.1. Définition d'un antioxydant.....	18
II. 3.2. Enzymes antioxydants	18
II.3.3. Antioxydants non enzymatiques.....	18
II.3.4. Antioxydants exogènes.....	19
II.3.5. Vitamines.....	19
II.3.6. Autres antioxydants.....	20
II.4. Polyphénols.....	20
II.5. Espèces réactives de l'oxygène.....	21
II.5.1. Sources des espèces réactives oxygénées.....	21
II.5.1.1. Sources endogènes des ROS.....	23

II.5.1.2. Sources exogènes des ROS.....	23
II.5.2. Rôles physiologiques des ROS.....	24
II.5.3. Défense contre les infections.....	24
II.5.4. Oxydation des macromolécules.....	24
II.5.4.1. Peroxydation lipidique.....	25
II.5.4.2. Oxydation des protéines.....	26
II.5.4.3. Oxydation de l'AND.....	27
II.5.4.4. Oxydation des glucides.....	27
II.6. Activité microbienne	28
II.6.1. Définition d'un antimicrobienne.....	28
II.6.2. Mécanisme de l'activité anti-microbienne.....	28
II.6.3. Résistance aux antibiotiques.....	28
II.6.4. Traitement des infections bactériennes.....	29
II.6.4.1. Antibiotiques.....	29
II.6.4.2. Antimicrobiens naturels.....	30
II.7. Activité anti tumorale	32
II.7.1. Effet chemopreventif de la curcumine.....	35
II.7.2. Effet anti tumoral de la curcumine	35
II.8. Mécanisme d'action anti-cancéreux de la curcumine.....	38
CHAPITRE III : <i>CURCUMA LONGA</i>	39
III.1. Étymologie (origine du nom)	41
III.2. Classement botanique	41
III.3. Descriptif botanique	42
III.3.1. Rhizomes	42
III.3.2. Contenu biochimique des rhizomes de <i>curcuma longa</i> séchés.....	43
III.3.3. Principaux composants actifs du rhizome.....	44
III.3.4. Principaux composants actifs du feuillage.....	44
III.4 Fleurs.....	45
III.4.1. Composant principal et l'utilisation des fleurs de <i>Curcuma longa</i>	47

III.4.2. Usages médicinaux des rhizomes et du feuillage de <i>Curcuma longa</i>	47
III.4.2.1. Usages médicinaux des rhizomes	47
III.4.2.2. Usages médicinaux des huiles essentielles de feuillage	48
III. 5. Utilisations du <i>Curcuma longa</i>	48
III.5.1. Usages du <i>Curcuma longa</i> en psychopharmacologie	48
III.5.2. Usage Médicinal et Activités Biologiques	49
III.5.2.1. Anti-inflammatoire.....	49
III.5.2.2. Propriétés antidiabétiques	49
III.5.2.3. Propriétés antimicrobiennes	50
III.5.2.4. Effets gastro-intestinaux	50
III.5.2.5. Effets cardiovasculaires	51
III. 5.2.6. Effet anticancer	51
III.5.2.7. Effets antioxydants	52
III.6. Autres utilisations du <i>Curcuma longa</i>	52
III.6.1. Utilisation alimentaire et nutritionnelle	52
III.6.2. Usage cosmétique	53
III.7. La composition chimique du <i>Curcuma longa</i>	53
III.7.1. Des composés phénoliques	54
III.7.2. Huile essentiel.....	55
III.7.2.1. Phenylpropenes et autres composés phénoliques.....	55
III.7.2.2. Terpènes et terpénoïdes	56
III.7.2.2.1. Monoterpènes	56
III.7.2.2.2. Sesquiterpènes	57
III.7.2.2.3. Autres Terpènes	58
III.8. Stéroïdes	58
III.9. Acide gras	59
III.10. Autre composé chimique	60
III.11. Valeur nutritionnelle et énergétique du <i>Curcuma longa</i>	61
III.12. Fraction volatile et la fraction non volatile	62

III.12.1. Oléorésine	62
III.12.1.1. Fraction non volatile	63
III.12.1.2. Fraction volatile	63
CHAPITRE IV : METHODE DE PREPARATION DES EXTRAITS VOLATILES ET NON VOLATILES.....	
IV.1. Méthode de préparation des extraits volatils (huiles essentielles)	64
IV.1.1. Extraction par entrainement à la vapeur.....	64
IV.1.2. Extraction par hydrodistillation.....	65
IV.1.3. Extraction à froid.....	66
IV.1.4. Extraction par solvants.....	66
IV.1.5. Extraction par les fluides supercritiques.....	67
IV.1.6. Extraction par la technique de « l'espace de tête »	68
IV.1.7. Extraction assistée par micro ondes.....	68
IV.2. Extraction des composés non volatils.....	72
IV.2.1. Méthode d'extraction des composés phénoliques	72
IV.2.2. Extraction à froid ou Macération	73
IV.2.3. Extraction par décoctions et d'infusions	74
IV.2.3.1. Détermination du contenu phénolique total	74
IV.2.4. Extraction à chaude (Soxhlet)	74
CHAPITRE V : MATERIEL ET METHODES	
V.1. Objectif de travail	76
V.2. Lieu de travail.....	76
V.3. Matière végétale	76
V.4. Préparation de l'extrait non volatil	77
V.4.1.Principe.....	77
V.4.2. Mode opératoire.....	77
V.4.3 Rendement de l'extraction.....	78
V.5. Détermination de la composition chimique des composés non-volatils	78
V.5.1. Dosage des phénols totaux.....	78

V.5.1.1. Principe.....	78
V.5.1.2. Mode opératoire.....	78
V.5.2. Dosage des flavonoïdes	79
V.5.2.1. Principe.....	79
V.5.2.2. Mode opératoire.....	79
V.5.3. Préparation de la solution mère et les dilutions	80
V.6. Evaluation de l'activité antioxydante.....	81
V.6.1. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH'.....	81
V.6.1.1 Principe.....	81
V.6.1.2. Mode opératoire.....	81
V.6.2. Test de réduction du radical-cation ABTS*+.....	82
V.6.2.1. Principe.....	82
V.6.2.2. Mode opératoire.....	82
V.6.3. Concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC ₅₀)	82
RESULTATS ET DISCUSSION.....	
1.Taux d'extraction et caractéristiques physiques de l'extrait non volatils brut.	83
2. Composition chimique des composés non-volatils.....	84
3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	84
3.1. Activité de piégeage du radical DPPH'	85
3.2. Activité de piégeage du radical-cation ABTS*+	87
3.3. Concentration inhibitrice de 50% des radicaux libres (IC₅₀)	89
Conclusion générale.....	91

INTRODUCTION GENERALE

Depuis l'antiquité les propriétés biologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser.

En effet durant ces dernières décennies, il y a eu un intérêt accru pour l'étude et l'usage de ces plantes phytothérapeutiques dans des différentes régions du monde. **(Mahmoud et al., 2020)**.

Parmi ces plantes le *Curcuma longa*, appelé Curcuma dans le monde entier, est utilisé depuis plus de 6000 ans dans la médecine traditionnelle et comme épice dans la cuisine quotidienne. Le *Curcuma longa* est une plante à rhizome originaire d'Asie de sud. Le genre *Curcuma* comprend environ 70 espèces connues parmi les herbes médicinales ayant des valeurs thérapeutiques médicinales, et sont couramment utilisées comme conservateurs alimentaires, colorants et épices depuis longtemps **(Sultana et al., 2021)**.

D'autre part, il est indiqué que le curcuma a été largement utilisé pour les traitements médicaux de diverses maladies depuis au moins 2500 ans dans les pays d'Asie principalement **(Gupta et al., 2009)** et il a de nombreuses vertus pour la prévention et le traitement de nombreuses maladies dans l'Ayurveda et la médecine traditionnelle chinoise **(Deogade et Ghate, 2015)**.

L'importance du curcuma dans le traitement médical repose sur la présence de la curcumine qui est le fameux principe actif du curcuma. C'est une substance polyphénoliques lipophile **(Jurenka, 2009)**, qui constitue les 2-5% de la poudre de curcuma **(Deogade et Ghate, 2015)**. Il a été déterminé que la structure chimique de cette substance polyphénoliques possède des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antiangiogéniques, antimutagènes et antiagrégations plaquettaires **(Prasad et al., 2014 ; Deogade and Ghate, 2015)**.

Plusieurs études ont confirmé que grâce à ces propriétés, la curcumine a un effet protecteur et préventif contre diverses maladies telles que le cancer, les maladies auto-immunes, neurologiques, métaboliques, pulmonaires, hépatiques et cardiovasculaires (CVD) **(Gupta et al., 2013 ; Prasad et al., 2014)**.

C'est dans ce contexte que nous avons réalisé le présent travail qui s'inscrit dans le domaine de la valorisation des ressources végétales et dont l'objectif est : « l'évaluation de l'activité anti-oxydant de l'extrait non volatils de *Curcuma longa* ».

Notre manuscrit s'articule sur deux parties :

- I. La première concerne les travaux antérieurs menés sur les plantes médicinales et leurs activités biologiques, entre autres le *Curcuma longa*
 - II. La seconde traite la démarche expérimentale que nous avons adoptée pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait non volatil brut de *Curcuma longa*.
- Enfin, une conclusion qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Chapitre I :

LES PLANTES MEDICINALES

Introduction :

Les plantes médicinales et aromatiques ont soutenu la vie des humains et des animaux, soulagé des maux, amélioré la qualité de vie. L'histoire des plantes médicinales et aromatiques en tant que médicaments était incroyablement longue et leur utilisation basée sur de vastes réalisations empiriques. Alors que les remèdes traditionnels et ethnobotaniques ont été transmis oralement et dans les livres, la science moderne a connu une croissance rapide. En particulier, les deuxièmes composés de plantes médicinales et aromatiques ont été des médicaments naturels puissants et magiques pour l'homme, ce qui a finalement été prouvé en raison de l'isolement et de l'application pratique au cours des 200 dernières années et pourtant une partie des plantes. Des remèdes simples et peu coûteux utilisant des plantes médicinales et aromatiques familières sont utiles pour l'homme et les animaux, ce qui n'a pas changé depuis tout ce temps. Peut-être qu'un soupçon de découverte d'une nouvelle médecine pourrait être dans les plantes traditionnelles, l'ethnobotanique ou la forêt tropicale. (Inoue M., Hayashi S, 2021).

I. Histoire des plantes médicinales :

La guérison par les plantes médicinales est aussi ancienne que l'humanité elle-même. Le lien entre l'homme et sa recherche de drogues dans la nature remonte à un passé lointain, dont il existe de nombreuses preuves provenant de diverses sources : documents écrits, monuments conservés et même plantes médicinales originales. La prise de conscience de l'utilisation des plantes médicinales est le résultat de nombreuses années de lutte contre les maladies grâce auxquelles l'homme a appris à rechercher des médicaments dans les écorces, les graines, les fructifications et d'autres parties des plantes. La science contemporaine a reconnu leur action active et a inclus dans la pharmacothérapie moderne une gamme de médicaments d'origine végétale, connus des civilisations anciennes et utilisés au cours des millénaires. La connaissance de l'évolution des idées liées à l'utilisation des plantes médicinales ainsi que l'évolution de la prise de conscience ont augmenté la capacité des pharmaciens et des médecins à répondre aux défis qui ont émergé avec la diffusion des services professionnels dans la facilitation de la vie de l'homme. (Biljana, 2012).

Depuis les temps anciens, à la recherche de secours pour leur maladie, les gens ont cherché des médicaments dans la nature. Les débuts de l'utilisation des plantes médicinales étaient instinctifs, comme c'est le cas chez les animaux (Stojanoski ,1999). Compte tenu du fait qu'à l'époque il n'y avait pas suffisamment d'informations ni sur les causes des maladies ni sur quelle plante et

comment elle pouvait être utilisée comme remède, tout était basé sur l'expérience. Avec le temps, les raisons de l'utilisation de plantes médicinales spécifiques pour le traitement de certaines maladies ont été découvertes ; ainsi, l'usage des plantes médicinales abandonne peu à peu le cadre empirique et se fonde sur des faits explicatifs. Jusqu'à l'avènement de l'iatrochimie au XVI^{ème} siècle, les plantes étaient à l'origine du traitement et de la prophylaxie (Kelly, 2009). Néanmoins, l'efficacité décroissante des drogues de synthèse et les contre-indications croissantes de leur utilisation rendent l'usage des drogues naturelles à nouveau d'actualité.

I.1. Historiques de l'étude et de l'utilisation des plantes médicinales :

La plus ancienne preuve écrite de l'utilisation des plantes médicinales pour la préparation de médicaments a été trouvée sur une dalle d'argile sumérienne de Nagpur, vieille d'environ 5000 ans. Il comprenait 12 recettes de préparation de médicaments faisant référence à plus de 250 plantes différentes, dont certains alcaloïdes telles que la jusquiame et la mandragore (Kelly, 2009), (Figure 1).



Figure 01 : La plante sacrée : l'éphédra dans le zoroastrisme (Rios J et Recio M, 2005), et dalle d'argile sumérienne vieille de 5000 ans à Nagpur.

- Le livre chinois sur les racines et les graminées « Pen T'Sao », écrit par l'empereur Shen Nung vers 2500 avant l'ère chrétienne, traite de 365 médicaments (parties séchées de plantes médicinales), dont beaucoup sont encore utilisés de nos jours tels que les suivants : le grand gentiane jaune, ginseng, stramoine, écorce de cannelle et éphédra (Bottcher,1965 ; Wiart,2006). (Figure 2).



Figure 02 : Le Pen T'Sao, 1249 EC Imprimé avec des gravures sur bois, ce livre illustré traite de la phytothérapie chinoise (Meggs et al., 1998)

- Au VIIe siècle, les peuples slaves utilisaient *Rosmarinus officinalis*, *Ocimum basilicum*, *Iris germanica* et *Mentha viridis* en cosmétique, *Sambuci flos* contre plusieurs insectes nuisibles par exemple : puces, mites, moustiques et araignées comme poison de chasse (Bojadziewski ,1992).
- Les Arabes ont introduit de nombreuses nouvelles plantes en pharmacothérapie, la plupart en provenance d'Inde, pays avec lequel ils entretenaient des relations commerciales, alors que la majorité des plantes avaient une réelle valeur médicinale et qu'elles ont persisté dans toutes les pharmacopées du monde jusqu'à aujourd'hui. Les Arabes utilisaient l'aloë Vera, le café, le gingembre, le safran, le curcuma, le poivre, la cannelle. Certains médicaments à action forte ont été remplacés par des médicaments à action douce, par exemple, *Sennae folium* a été utilisé comme laxatif doux (Inoue et Hayashi, 2021).

I.2. Vertus des plantes médicinales :

Les plantes renferment toute une panoplie de molécules ayant des principes d'actifs très précieux pour la prévention et le traitement. Leurs vertus thérapeutiques ont permis de développer de nombreux médicaments.

La connaissance des plantes médicinales est un savoir à préserver et à transmettre pour permettre à chacun de prendre soin de sa santé.

Quelques bienfaits de la phytothérapie :

CHAPITRE I : Plantes médicinales

❖ Effets secondaires réduits :

Parce que les plantes médicinales sont naturelles, le corps y répond souvent favorablement. Malheureusement, ce n'est souvent pas le cas avec les médicaments sur ordonnance. En remplaçant un médicament sur ordonnance par un médicament naturel, les patients peuvent lentement réduire, voire éliminer, le nombre d'effets secondaires liés à la prescription ressentis au quotidien.

❖ Plus abordable que la médecine conventionnelle :

Les médicaments sur ordonnance coûtent cher. La phytothérapie est souvent moins chère à produire car les médicaments sont fabriqués à partir de ressources naturelles abondantes et faciles à produire. Un coût de production inférieur équivaut souvent à un coût de détail inférieur **(Pinkham, 2022)**.

❖ En plus d'aider les patients à économiser de l'argent sur les coûts initiaux des médicaments, les remèdes à base de plantes aident également à enseigner aux individus comment gérer les conditions et développer les outils et les connaissances nécessaires pour prévenir la maladie et favoriser l'auto-guérison. Les individus peuvent utiliser ces connaissances pour mener des modes de vie plus sains et, espérons-le, éviter que des maladies chroniques très coûteuses, qui s'accompagnent souvent de factures médicales exorbitantes, de coûts de prescription et d'arrêts de travail, ne se développent à l'avenir.

❖ Auto-guérison naturelle :

Les médicaments sur ordonnance sont souvent conçus pour masquer les symptômes et pas nécessairement pour guérir la maladie sous-jacente. La phytothérapie, d'autre part, peut obliger les individus à écouter ce que le corps dit et à cibler la source de la douleur ou de l'inconfort. Avec l'aide d'un professionnel de la santé qui travaille spécifiquement en médecine alternative, un patient peut se mettre sur la voie d'une meilleure santé plus tôt que prévu.

❖ Responsabilisation :

L'utilisation de la phytothérapie consiste davantage à prendre le contrôle de sa santé personnelle qu'autre chose. Un bon guérisseur naturel éduquera les individus sur ce dont le corps a besoin et comment le garder en bonne santé. Le guérisseur ne se contentera pas de remettre au patient une ordonnance pour cacher la douleur.

❖ Amélioration de la santé globale :

Les médicaments naturels présentent plusieurs avantages notables pour la santé. Pour commencer, les remèdes naturels visent souvent à identifier et à éradiquer la maladie plutôt qu'à supprimer les symptômes. Cette approche est plus susceptible d'améliorer la santé que l'utilisation de produits pharmaceutiques.

- ❖ De plus, comme la phytothérapie englobe des vitamines, des anticorps et d'autres agents bénéfiques pour la santé, elle sert à renforcer l'ensemble de l'organisme et pas seulement à combattre la maladie.
- ❖ Enfin, la médecine naturelle favorise la santé intestinale. Pour ce faire, il améliore la digestion et favorise un environnement dans lequel les microbes bénéfiques peuvent prospérer.

I.3. Usages des plantes médicinales :

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que plus de 80% de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle, principalement basée sur les plantes médicinales. Dans certains pays, les professionnels de santé recommandent l'utilisation des plantes médicinales comme traitement alternatif (Alonso-Castro *et al.*, 2017).

De nombreuses herbes sont utilisées comme purificateurs sanguins pour modifier ou changer une condition de longue date en éliminant les toxines métaboliques. Ceux-ci sont également connus sous le nom de « nettoyeurs de sang ». Certaines herbes améliorent l'immunité, réduisant ainsi certains symptômes tels que la fièvre.

- ❖ Certaines herbes ont également des propriétés antibiotiques. Le curcuma est utile pour inhiber la croissance des germes, des microbes nocifs et des bactéries. Il est largement utilisé comme remède maison pour soigner les coupures et les plaies.
- ❖ Pour réduire la fièvre et la production de chaleur causée par la maladie, certaines herbes antipyrétiques telles que le poivre noir, le bois de santal et le carthame sont recommandées par les praticiens de la médecine traditionnelle indienne.
- ❖ Le bois de santal et la cannelle sont d'excellents astringents en plus d'être aromatiques. Le bois de santal est particulièrement utilisé pour arrêter l'écoulement de sang, de mucus, etc.
- ❖ Certaines herbes sont utilisées pour neutraliser les acides produits par l'estomac. Ils servent d'antiacides. L'acide gastrique sain nécessaire à une bonne digestion est retenu par ces herbes.
- ❖ Les sages indiens étaient connus pour avoir des remèdes à base de plantes qui agissent contre les poisons des animaux et les morsures de serpent.
- ❖ Des herbes comme la cardamome et la coriandre sont réputées pour leurs qualités appétissantes. D'autres herbes aromatiques telles que la menthe poivrée, les clous de girofle et le curcuma ajoutent un arôme agréable aux aliments, augmentant ainsi le goût du repas.

- ❖ Certaines herbes comme l'aloès, le bois de santal, le curcuma, sont couramment utilisées comme antiseptiques et ont des valeurs médicinales très élevées.
- ❖ Le gingembre et les clous de girofle sont utilisés dans certains sirops contre la toux. Ils sont connus pour leur propriété expectorante, qui favorise l'amincissement et l'éjection du mucus des poumons, de la trachée et des bronches. L'eucalyptus, la cardamome, la cerise sauvage et les clous de girofle sont également des expectorants.
- ❖ Les herbes telles que la camomille, le Calamus, basilic, la cardamome, le chrysanthème, la coriandre, le fenouil, la menthe poivrée et la menthe verte, la cannelle, le gingembre et le curcuma sont utiles pour favoriser une bonne circulation sanguine. Par conséquent, ils sont utilisés comme stimulants cardiaques
- ❖ Certaines herbes médicinales ont une propriété désinfectante, qui détruit les germes pathogènes. Ils inhibent également la croissance des microbes pathogènes qui causent des maladies transmissibles.
- ❖ Les praticiens en phytothérapie recommandent les herbes calmantes, qui procurent un effet apaisant au corps. Ils sont souvent utilisés comme sédatifs.
- ❖ Certaines plantes aromatiques telles que l'Albe, la Phoque dorée, l'Epine-vinette et la Chirayata sont utilisées comme toniques doux. Le goût amer de ces plantes réduit les toxines dans le sang. Ils sont également utiles pour détruire l'infection. (Mahtab, 2016).

I.4. Processus de découverte de médicaments naturels

Le processus de découverte de médicaments guidé par des essais biologiques est illustré dans la figure 3 Parfois, une méthode d'isolement directe du produit, quelle que soit sa bio-activité, est également utilisée, ce qui conduit à l'isolement d'un certain nombre de composés naturels adaptés à la mesure de toute activité biologique. (Saker et al., 2013). **Figure 3.**

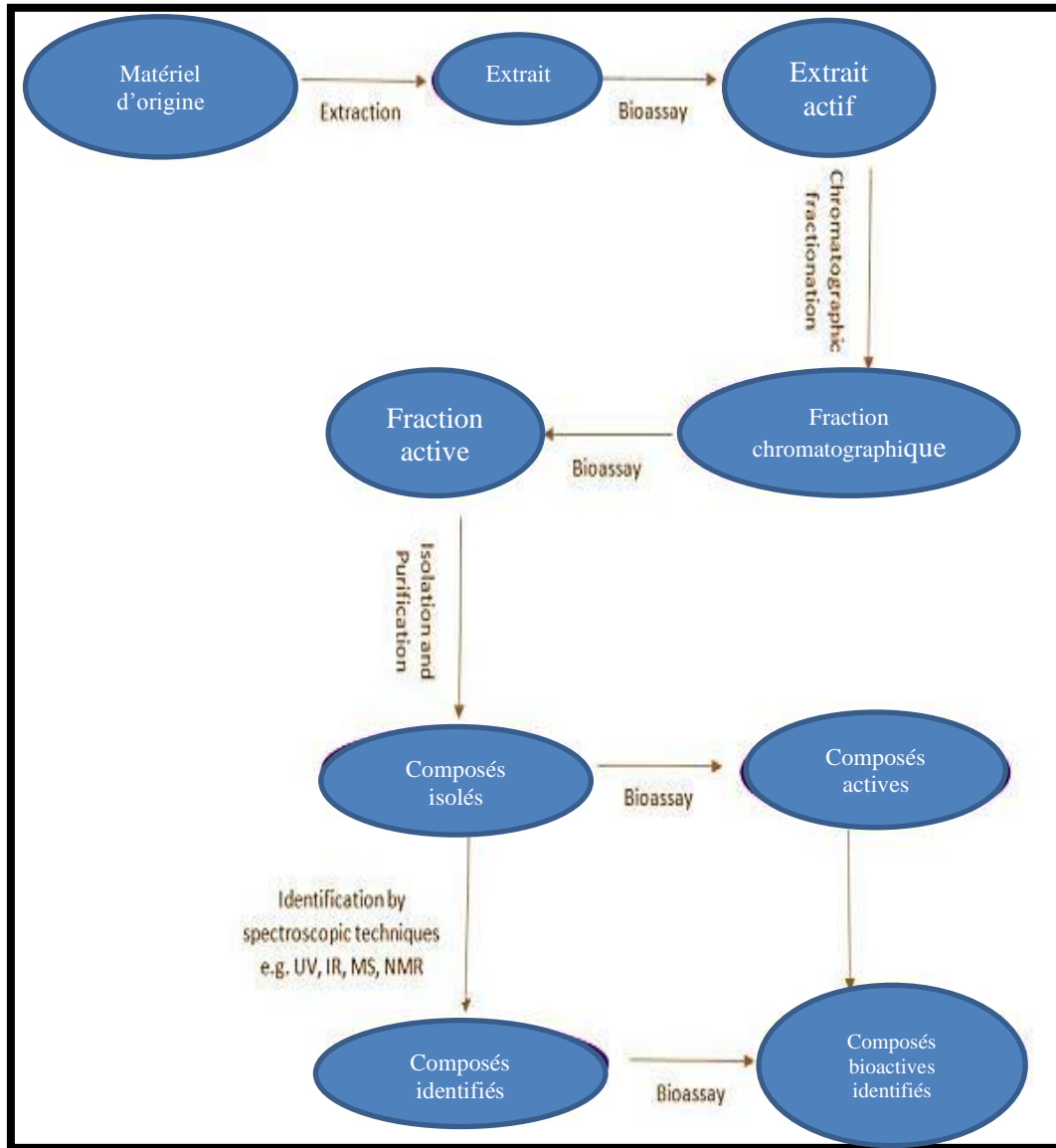


Figure 03 : Le processus traditionnel de découverte des médicaments naturels (Sarker *et al.*, 2013).

I.5. Processus modernes de découverte de médicaments naturels :

Les méthodes de découverte de médicaments naturels utilisent des processus modernes, y compris le criblage à haut débit (HTS) dans lequel, il y a une automatisation complète et robotique. Des centaines de molécules peuvent être criblées dans plusieurs tests rapidement et avec de petites quantités de composés. Afin d'intégrer les produits naturels dans les programmes HTS modernes, une bibliothèque de composés naturels devrait être créée. Alors que dans le passé, la fondation d'une telle bibliothèque était complexe, longue et difficile, les conditions se sont considérablement améliorées avec l'avènement de technologies nouvelles et avancées pour l'isolement et

l'identification des produits naturels. Le meilleur résultat peut être obtenu à partir d'une bibliothèque de produits entièrement identifiés naturellement qui permet aux scientifiques d'isoler rapidement le composé principal pour une progression plus rapide de la formulation de nouveaux médicaments, comme la synthèse complète ou partielle, les expériences *in vivo* et les essais cliniques. (Sarker *et al.*, 2013). **Figure 4.**

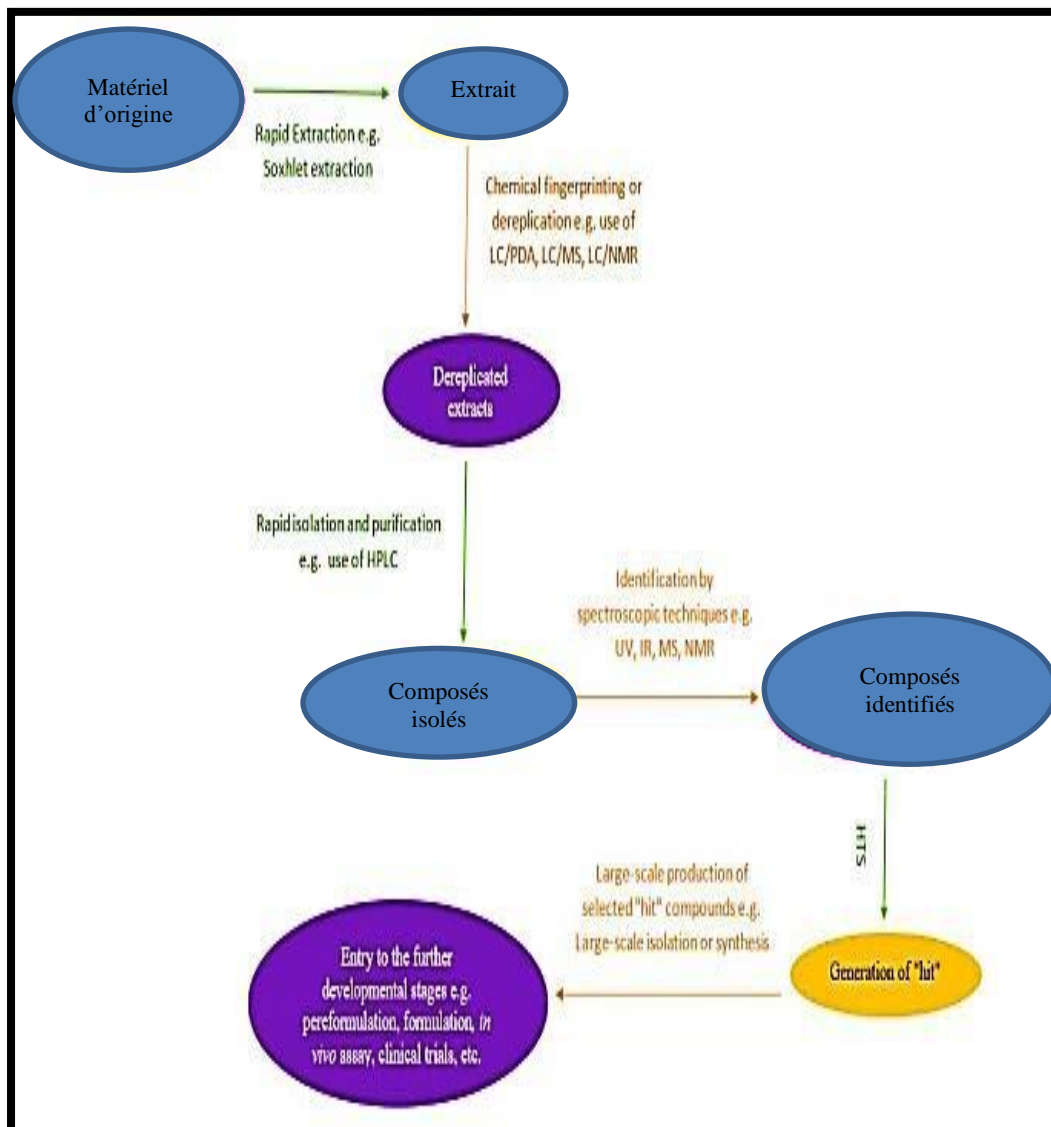


Figure 04 : Le processus moderne de découverte de médicaments naturels (Sarker *et al.*, 2013).

CHAPITRE II :

ACTIVITES
BIOLOGIQUES DES
PLANTES MEDICINALES

II.1. Activité Inflammatoire :

L'inflammation est un mécanisme physiologique de défense de l'hôte contre l'invasion par des agents pathogènes. Cependant, elle peut avoir des effets néfastes si elle n'est pas régulée. Elle est accompagnée par la production de divers médiateurs inflammatoires tels que les cytokines, les leucotriènes et les prostaglandines (Noack *et al.*, 2018). En outre, les cellules inflammatoires peuvent produire des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de nitrogène qui peuvent déclencher des réactions d'oxydation toxiques, conduisant à des lésions tissulaires (Majdalawieh et Fayyad, 2015).

L'inflammation peut être aiguë ou chronique. La première est une réponse immédiate de courte durée, habituellement, elle disparaît spontanément ou avec un traitement. Toutefois, elle peut évoluer vers une inflammation chronique à laquelle plusieurs maladies peuvent être liées (Roifman *et al.*, 2011 ; Noack *et al.*, 2018).

II.2. Inflammation aiguë :

L'inflammation aiguë est la réponse immédiate de quelques jours à quelques semaines, d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Elle se traduit par quatre symptômes cardinaux : œdème, rougeur, douleur et chaleur. Cependant, un échec dans la résolution provoque une infiltration incontrôlée et persistante des cellules inflammatoires, conduisant ainsi à la progression en inflammation chronique (Khanna *et al.*, 2010 ; Lee et Surh, 2012 ; Rathinam et Fitzgerald, 2016) (Figure 5). La réponse inflammatoire aiguë se déroule en trois phases :

II.2.1. Phase vasculaire :

La réponse vasculaire (**Phase d'initiation**) comporte une vasoconstriction réflexe très brève suivie d'une vasodilatation durable suite à une lésion tissulaire ou un signal de danger endogène ou exogène, ce qui entraîne une exsudation de liquide plasmatique et donc la formation d'œdème (Dorword *et al.*, 2012). L'augmentation de la perméabilité entraîne aussi la diapédèse et la migration extravasculaire des leucocytes. La brève vasoconstriction de quelques secondes va perturber le mouvement des plaquettes dans la circulation sanguine et entraîner leur activation. Les plaquettes activées produisent du thromboxane A₂ aux propriétés agrégants et vasoconstrictrices puissantes et favorisent la libération de médiateurs comme la sérotonine et l'histamine (Figure 5)

L'exsudation plasmatique induit un œdème par distension des tissus et provoque une hyperpression sur les terminaisons nerveuses locales, ce qui explique les sensations de tuméfaction et de douleur (Weill *et al.*, 2003).

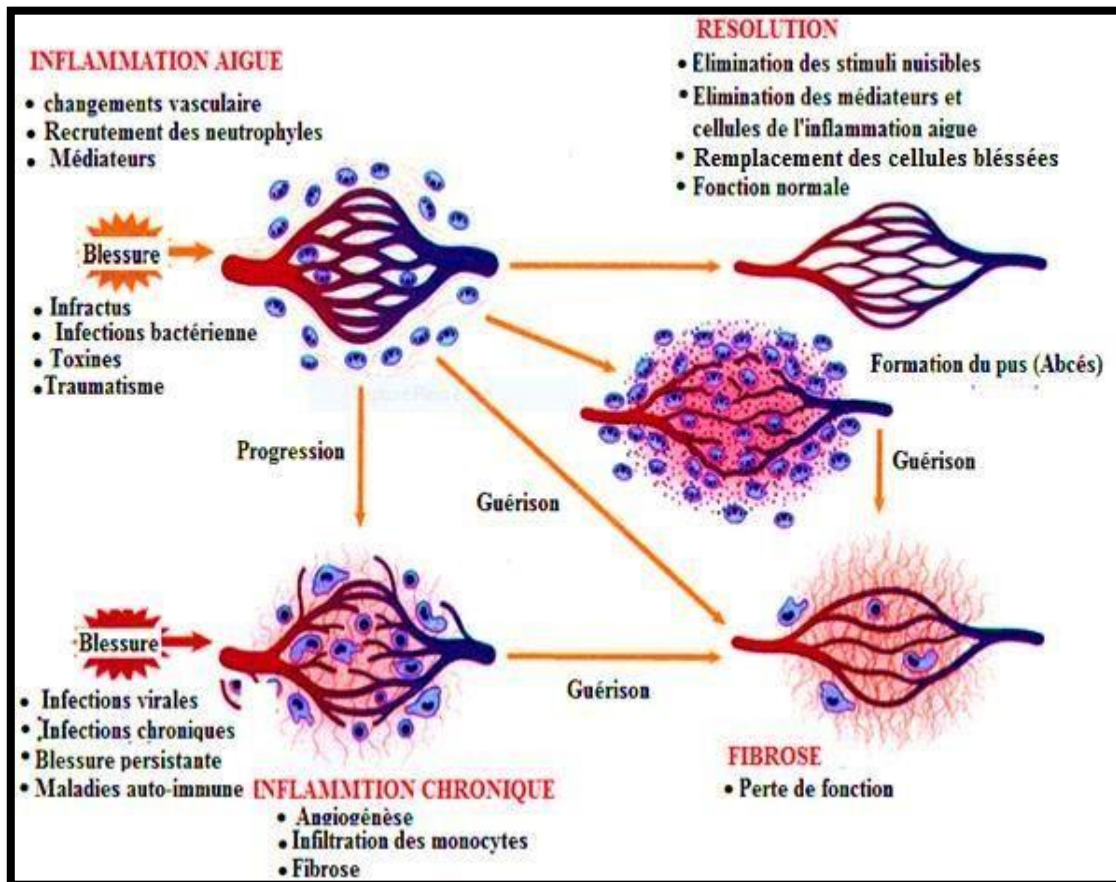


Figure 05 : Evolution de l'inflammation aiguë (Kumar *et al.*, 2007).

II.2.2. Phase cellulaire :

Cette phase fait suite à la réponse vasculaire, elle implique surtout les cellules endothéliales et les leucocytes circulants. Elle est caractérisée par un afflux extravasculaire interstitiel de leucocytes, les polynucléaires neutrophiles (PMNs) dans un premier temps puis les monocytes.

(Figure 6)

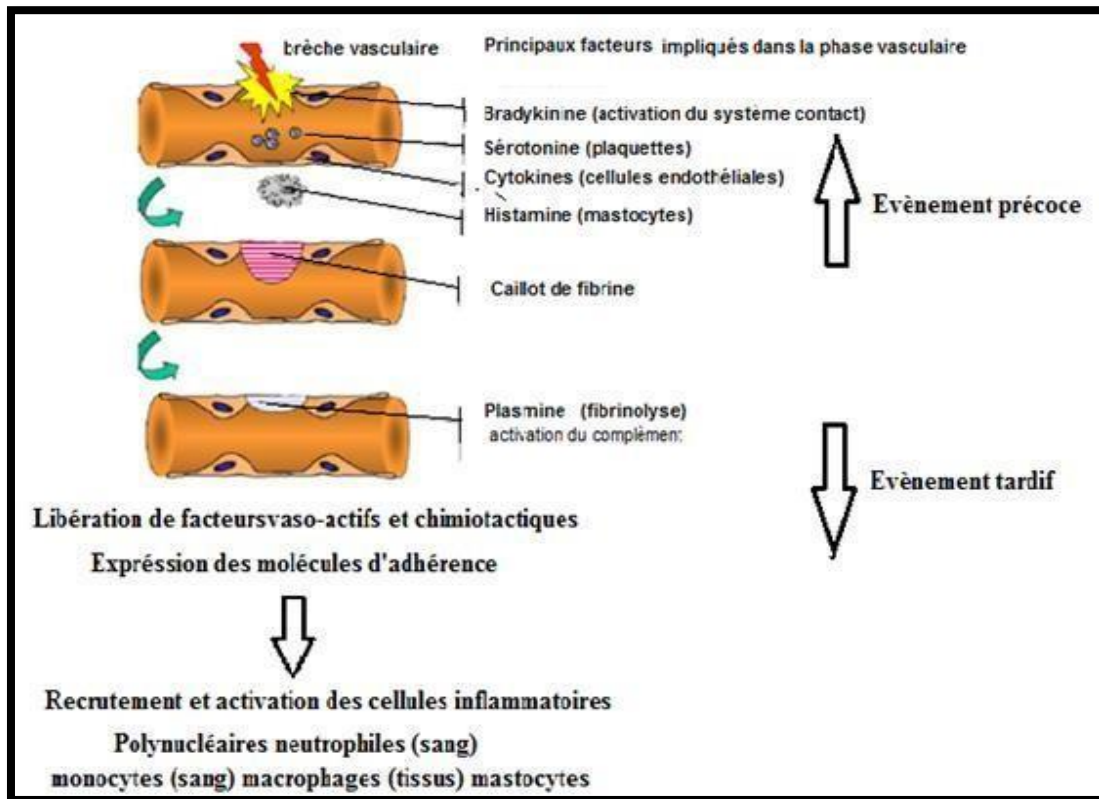


Figure 06 : Initiation de l'inflammation (Prin *et al.*, 2009).

L'accumulation des neutrophiles atteint son maximum à la 4^{ème} heure puis décline rapidement, alors que le nombre de monocytes augmente après la 4^{ème} heure et atteint son maximum entre 18 et 24 heures. Les polynucléaires circulants sont attirés vers le foyer inflammatoire par des facteurs chimiotactiques. Les PMNs circulants se marginalisent et adhèrent aux cellules endothéliales. Cette adhérence résulte de l'interaction entre les sélectines de la surface des cellules endothéliales et certains polysaccharides de la surface des polynucléaires.

La deuxième vague cellulaire est constituée de monocytes qui gagnent le foyer inflammatoire attirés par les facteurs chimiotactiques sécrétés par les neutrophiles où ils se transforment en macrophages (**Figure 7**). Ces dernières assurent le nettoyage du foyer inflammatoire en cas d'inflammation aiguë et participent à la poursuite du processus inflammatoire en cas d'inflammation chronique par la production de nombreux médiateurs inflammatoires (Iwelawa *et al.*, 2007).

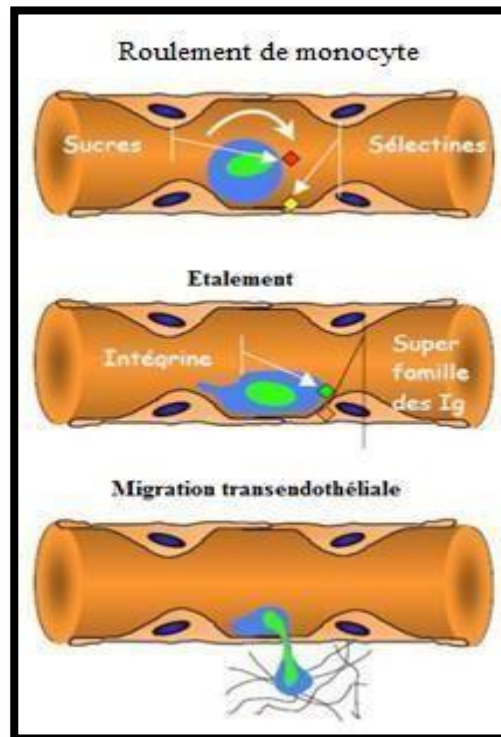


Figure 07 : Migration de monocyte vers le foyer inflammatoire (Prin *et al.*, 2009).

II.2.3. Phase de résolution :

Certains lipides, telles que les lipoxines, les protectines et les résolvines jouent un rôle majeur dans la promotion de la résolution du processus inflammatoire (**Figure 8**) et de la réparation tissulaire (**Serhan et Savill, 2005 ; Serhan, 2007**). Les lipoxines, sécrétées par les macrophages bloquent l'influx des neutrophiles, facilitent la phagocytose des neutrophiles apoptotiques par les macrophages et permettent le recrutement de monocytes afin d'éliminer les cellules apoptotiques et les débris cellulaires (**Serhan et Savill, 2005**).

Les macrophages, les neutrophiles et les cellules épithéliales libèrent les inhibiteurs de protéases, inactivant ainsi les protéases sécrétées par les neutrophiles lors de la phase aiguë de la réponse inflammatoire (**Ashcroft *et al.*, 2000**).

Le système nerveux parasympathique joue également un rôle important dans l'arrêt de l'inflammation, en induisant l'activation des macrophages via la libération de l'acétylcholine (**Tracey, 2002**). Cette action pourrait être liée à la diminution de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL-1 et IL-8) et l'induction de l'IL-10 qui est une cytokine anti-inflammatoire (**Borovikova *et al.*, 2000**).

La réparation des tissus fait intervenir les macrophages, les cellules endothéliales et les fibroblastes

CHAPITRE II : Activités Biologiques des plantes médicinales

(Eming *et al.*, 2007). Les agents agresseurs sont éliminés par les polynucléaires, tandis que les produits de dégradation et les débris cellulaires sont phagocytés par les Macrophages. La réparation de l'endothélium est assurée par les cellules endothéliales. Les fibrocytes puis les fibroblastes permettent la reconstruction des tissus en produisant les protéines de la matrice intercellulaire comme le collagène, la fibronectine et la laminine. Le système d'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire va s'éteindre (Weill *et al.*, 2003). **Figure 8.**

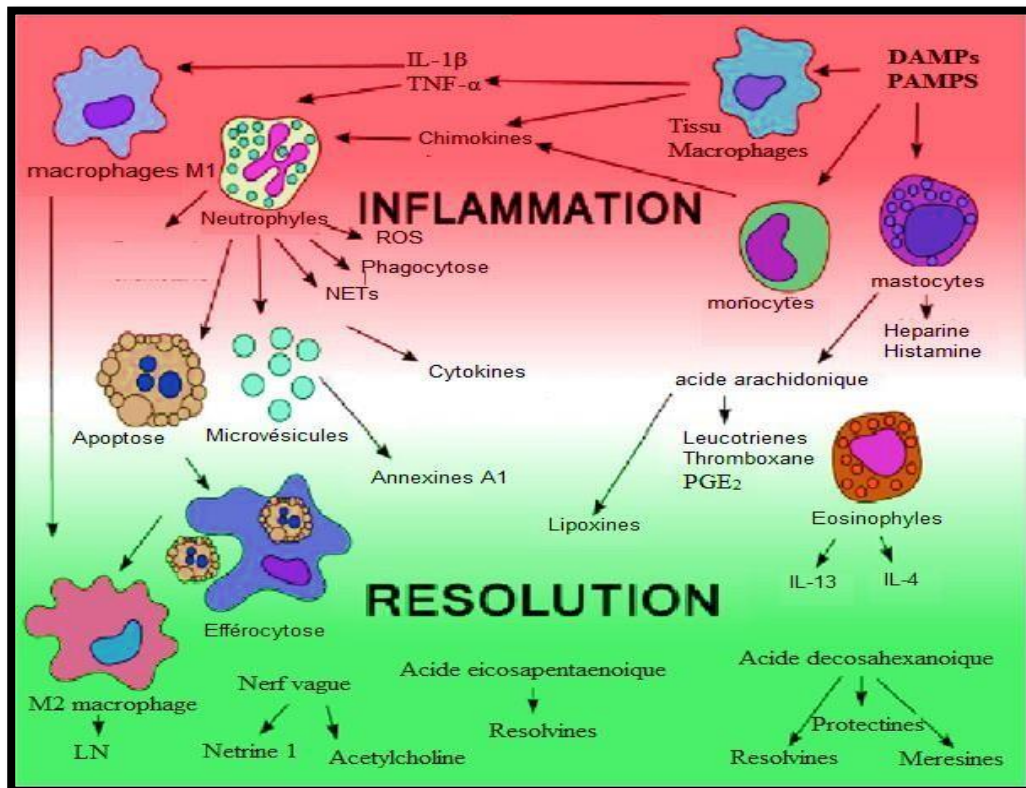


Figure 08 : Processus de résolution et de réparation tissulaire (Headland et Norling, 2015).

La guérison d'une plaie implique la multiplication cellulaire, la migration cellulaire active et la production de la matrice extracellulaire (Lambole et Upendra, 2012). La durée de la cicatrisation et de la réparation d'une plaie dépend de la taille et de la profondeur de la lésion (Krishna et Upendra, 2012). Dans ce processus complexe, plusieurs cellules interagissent tels que les cellules endothéliales, les fibroblastes et les kératinocytes (Lewis *et al.*, 2011).

La cicatrisation s'effectue en trois phases principales :

- La phase inflammatoire s'accompagne d'une vasoconstriction qui favorise la libération des médiateurs inflammatoires.
- La phase proliférative caractérisée par la formation du tissu de granulation principalement par les fibroblastes et l'angiogenèse.

La phase de remodelage caractérisée par la reformulation et l'amélioration des composants de la fibre de collagène qui augmente la résistance à la traction (**Stevens et Lowe, 2009**).

Bien que la cicatrisation de la plaie soit un processus biologique naturel, un traitement est recommandé pour augmenter le taux de guérison et réduire la croissance microbienne autour de la zone blessée.

Les bons effets des AINS sont cependant limités par leurs effets indésirables graves, principalement digestifs (ulcères gastroduodénaux) et à un moindre degré rénal (**Lahmidani et al., 2012**). L'impossibilité de dissocier les effets thérapeutiques des AINS de leurs effets indésirables s'explique par leur mécanisme d'action. En effet, les AINS inhibent compétitivement la biotransformation de l'acide arachidonique en prostaglandine H₂ (PGH₂) par la cyclooxygénase (**Figure 9**). Cette inhibition rend impossible la transformation de PGH₂ en prostanoïdes par les isomérases spécifiques (**Blain et al., 2000**).

La cyclo-oxygénase existe sous deux formes : la cyclo-oxygénase 2 (COX2) et la cyclo-oxygénase 1 (COX-1). La COX2 est inductible, sa synthèse est stimulée par le TNF α et l'interleukine 1. Elle est impliquée dans l'inflammation et dans quelques processus associés à la prolifération cellulaire. Au contraire, la COX1 est une enzyme constitutive présente dans la plupart des tissus et intervient dans la protection de la muqueuse gastrique, l'agrégation plaquettaire, l'homéostasie vasculaire et le maintien de l'équilibre hydrosodé (**Blain et al., 2000 ; Corrado et al., 2009**). L'inhibition de la COX1, par manque de spécificité d'action lors de l'utilisation des AINS est la cause des effets indésirables de ces médicaments. Ceci nécessite la mise au point d'AINS COX2 sélectifs (**Tréchet et Jouzeau, 2014**).

II.2.4. Anti-inflammatoires stéroïdiens :

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou glucocorticoïdes sont des molécules synthétiques dérivées des hormones naturelles (cortisone et cortisol) ou héli-synthétisés à partir d'extraits animaux ou végétaux. Ils ont des propriétés anti-inflammatoires, antalgiques et immunosuppressives (**Dangoumau, 2006**), **Figure 9**.

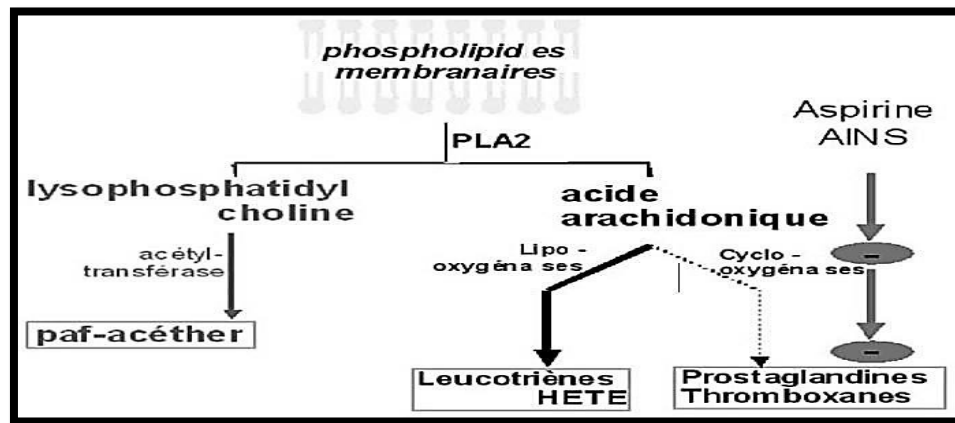


Figure 9 : Site d'inhibition des cyclo-oxygénases par l'aspirine et les AINS (Demoly, 2007).

Les AIS empêchent l'activation de la phospholipase A2, en bloquant à la fois la voie des prostaglandines et celles des leucotriènes (Malleme et Gogny, 2014).

Les glucocorticoïdes agissent à de multiples niveaux sur toutes les phases de l'inflammation qu'elle soit aiguë ou chronique. En outre, ils diminuent fortement la migration des polynucléaires et des monocytes/macrophages vers le site inflammatoire ainsi que la production des médiateurs inflammatoires, comme l'histamine, la sérotonine, la bradykinine, les cytokines et les ions superoxydes (Kessel *et al.*, 2014). Ils sont également responsables de la diminution de la perméabilité capillaire et de l'augmentation de l'activité des ostéoclastes, ce qui conduit à la fragilisation des os (Henzen, 2003).

Les glucocorticoïdes représentent le traitement le plus efficace des maladies inflammatoires chroniques telles que l'arthrite rhumatoïde et les maladies auto-immunes (Kessel *et al.*, 2014). Ils ont néanmoins l'inconvénient de réduire la défense de l'organisme et de provoquer des troubles qui peuvent être aigus (hypertension artérielle, dérégulation de la synthèse naturelle de glucocorticoïdes, ulcère gastroduodéal...etc.) ou chroniques tel que l'ostéoporose, les cataractes et la prise de poids (Henzen, 2003 ; Strehler *et al.*, 2011).

II.2.5. Anti-inflammatoires d'origine végétale :

Grace à leurs diverses activités biologiques bénéfiques, les plantes médicinales sont largement étudiées par l'homme. Ces activités sont dues à leur richesse en métabolites secondaires bioactifs, tels que les polyphénols, les stérols, les alcaloïdes, les coumarines les terpènes...etc.

L'activité anti-inflammatoire des composés phénoliques a été démontrée dans de nombreuses

CHAPITRE II : Activités Biologiques des plantes médicinales

études *in vitro* et *in vivo*. Contrairement aux composés pharmacologiques qui agissent spécifiquement via un récepteur ou une voie de signalisation, les polyphénols ont des modes d'action multi-cibles. Ces substances actives peuvent agir à plusieurs niveaux de la réaction inflammatoire en inhibant le métabolisme de l'acide arachidonique en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase (Yoon et Baek, 2005), les mécanismes de transduction du signal impliqués dans l'activation des cellules inflammatoires (Capiralla et al., 2012), la synthèse des cytokines pro-inflammatoires, l'expression des molécules d'adhésion, l'activation du facteur nucléaire kappa-B et la production des espèces oxygénées réactives (Zeinalia et al., 2017).

La diversité de ces mécanismes d'action potentiels explique le large spectre d'activités biologiques (antioxydantes, anti-inflammatoires, antiprolifératives et anti-angiogéniques) de ces substances observées *in vivo*.

Beaucoup d'extraits de plantes riches en flavonoïdes possèdent des activités anti-inflammatoires et antioxydantes à la fois (Selloum et al., 2003 ; Baheti et al., 2011 ; Bouriche et al., 2016, Meziti et al., 2017). Des travaux menés *in vitro* ont montré que les flavonoides (Lutéoline, apigénine, kampferol, quercétine, myricétine, naringénine, catéchine, phlorétine, butéine, pelargonidine) sont de puissants inhibiteurs de la production de TNF- α par des macrophages stimulés par le LPS (Muzamal et al., 2013).

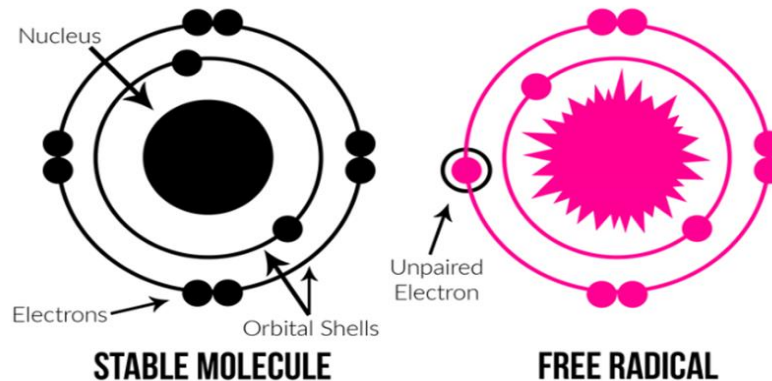
Récemment, Zeinalia et ses collaborateurs (2017) ont montré que la chryisine est un puissant anti-inflammatoire qui agit sur NF-kB qui contrôle l'expression des gènes codant pour les cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α), les enzymes inductibles COX2 et iNOS et les molécules d'adhésion ICAM, VCAM et E-sélectine.

Les stéroïdes possèdent des activités anti-inflammatoires sur plusieurs modèles expérimentaux. La fraction oléorésine de *Curcuma amada* possède un effet anti-inflammatoire significatif ainsi qu'une activité antiarthritique (Mujumdar et al., 2000). Le β -sitostérol isolé de *Dichrostachys cinera* possède une activité anti-inflammatoire dans le modèle de l'œdème de la patte et le granulome de pellete en coton (Jayakumari et al., 2008).

Les terpénoïdes ont montré une activité anti-inflammatoire sur plusieurs modèles d'inflammation (Baheti et al., 2011). En effet, l'étude de Manez et al. (1999) a montré que l'oleane de type triterpènes saponine, Zanthosaponines et le cyclitol pinitol isolés de l'extrait méthanolique des racines de *Zanha Africana* inhibent la phospholipase A2. L'étude de Schweizer et al. (2000) a montré que le pentacyclique triterpènes de *Boswellia resin*, inhibe la biosynthèse des leukotriènes et la 5-lipoxygénase.

II.3. Activité anti oxydante :

II.3.1. Définition d'un antioxydant :



Un antioxydant est un composé d'origine endogène ou exogène qui sert à contrôler le niveau des espèces réactives pour les neutraliser et minimiser les dommages oxydatifs. Ils existent deux types d'anti oxydants : les antioxydants endogènes et les antioxydants exogènes :

II. 3.2. Enzymes antioxydants :

Le super oxyde dismutase (SOD) décompose le super oxyde en O_2 et H_2O_2 moins toxiques. Le H_2O_2 sera à son tour transformé par la catalase en $\frac{1}{2} O_2$ et H_2O , ou en H_2O par le glutathion peroxydase, en présence du glutathion réduit (GSH). Le GSH est capable de régénérer les vitamines E et C oxydées. Au niveau hépatique, il est détoxifiant car il peut se lier aux métaux toxiques comme le mercure et l'arsenic (Clarkson et Thompson, 2000 ; Lyn Patrick, 2006).

Le glutathion réduit, sert de substrat à la GPX pour former du glutathion oxydé (GSSG). Avec l'aide d'une glutathion réductase et de NADPH, le GSH sera régénéré à partir du GSSG. En plus d'éliminer directement les ROS, lesenzymes antioxydants participent à la régulation du stress oxydant (Sayre *et al.*, 2005).

II.3.3. Antioxydants non enzymatiques :

Cette classe regroupe des composés endogènes de faible poids moléculaire qui peuvent être soit des produits de synthèse (glutathion, histidine dipeptide) ou issus du métabolisme cellulaire (acide urique). Des protéines telles que la ferritine, la céruléoplasmine et l'albumine contribuent à leur tour dans la défense antioxydante secondaire en chélatant les métaux de transition permettant de prévenir la formation du radical hydroxyle

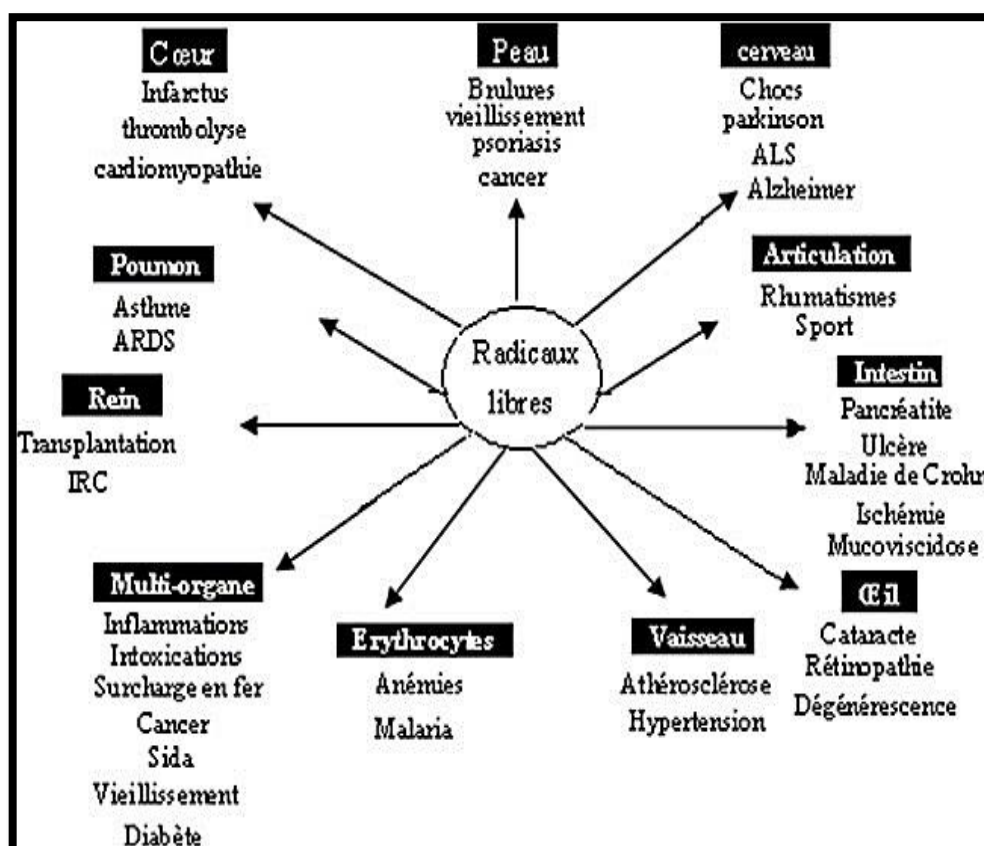


Figure 10: Principales circonstances pathologiques accompagnant le stress oxydant. ARDS : Syndrome de détresse respiratoires aigüe ; Sida : Syndrome d'immunodéficience acquise ; ALS : Sclérose latéral amyotrophique (Favier, 1997).

II.3.4. Antioxydants exogènes :

Beaucoup de phyto-nutriments ont été identifiés comme antioxydants. Les plus importants sont les caroténoïdes, flavonoïdes, phénols, phytostérols et les glucosinolates. Ils ont des propriétés antioxydantes intéressantes comme piègeurs/inhibiteurs de radicaux lipidiques, des anions superoxydes, de l'oxygène singulet ou comme régulateur du système antioxydant (Dufour *et al.*, 2007 ; Gobert *et al.*, 2009).

II.3.5. Vitamines :

La **vitamine E** est le principal antioxydant dans les membranes des cellules, en particulier celles des mitochondries (Traber et Atkinson, 2007). Elle agit directement sur une grande variété de ROS pour former un radical peu réactif. Par la suite la vitamine E oxydée pourra être reconvertie par la vitamine C mais également par d'autres composés comme la vitamine A, le GSH et l'ubiquinol.

La vitamine E peut aussi activer les SOD et les catalases (**Margaritiset al., 2003 ; Lyn Patrick, 2006**).

La vitamine A agit sur les ROS en formant un radical de vitamine A qui pourra agir comme antioxydant en réagissant avec un autre radical pour former un non radical, ou sera régénéré en vitamine A (**Clarkson et Thompson, 2000 ; Fisher-Wellman et Bloomer, 2009**). En excès, la vitamine A pourrait agir comme pro-oxydants, et favoriser l'oxydation de l'ADN (Van Helden *et al.*, 2009).

La vitamine C joue un rôle de prévention de l'oxydation dans le plasma et les fluides extracellulaires, dont elle est considérée comme le plus important antioxydant (**Koolman et al., 1999**). Elle agit directement sur les ROS et indirectement par son action de régénération de la vitamine E et du GSH. A forte dose, la vitamine C peut exercer une action pro-oxydante via son habilité à réduire l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}), qui participe aux réactions de Fenton/Haber-Weiss (**Sayre et al., 2005**).

La vitamine B₆ exerce un rôle antioxydant indirect en favorisant la synthèse de la cystéine à partir de la méthionine et ainsi renforcerait la production de GSH (**Dalto et Matte, 2017**).

II.3.6. Autres antioxydants :

Des propriétés antioxydantes ont été attribuées à des acides aminés (méthionine, taurine, glutamine, N-acétylcystéine). Ils pourraient être des précurseurs directs ou indirects de la synthèse des GSH dont ils renforcent l'action et seraient capables de piéger et de neutraliser les ROS (**Sayre et al., 2005 ; Fisher-Wellman et Bloomer, 2009**).

L'acide alfa-lipoïque participerait à la régénération des GSH et des vitamines C et E (Lyn Patrick, 2006). L'ubiquinone, pourrait piéger les radicaux superoxydes formés lors des phosphorylations oxydatives (mitochondries) et régénérer les vitamines C et E oxydées (Crane, 2001).

Le pollen, les œstrogènes (Pincemail *et al.*, 2007), les pyridines nucléotides (Sayre *et al.*, 2005), le lactate (**Hellsten et al., 1996**) sont susceptibles de posséder des propriétés antioxydantes.

Les oligoéléments (Cu, Zn, Se, Mn) ont des propriétés antioxydantes. Ils servent notamment de cofacteurs des enzymes antioxydantes (**Berger, 2006**).

II.4. Polyphénols :

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux qui regroupent plus de 8000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques qui présentent toutes dans leur

structure au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (Tapiero *et al.*, 2002). Les composés phénoliques (acides phénoliques, tannins et flavonoïdes) forment le groupe le plus important (Beta *et al.*, 2005).

Les acides phénoliques (acide chlorogénique, caféique, protocatéchique, vanillique, férulique, sinapique et gallique) contenus dans certaines plantes médicinales (Hale, 2003 ; Psotová *et al.*, 2003) sont considérés comme des antioxydants.

Les flavonoïdes (plus de 5000 molécules isolées) sont les polyphénols les plus nombreux (Pietta, 2000). Ils agissent de différentes façons soit par effet scavenger directe (Quinoes *et al.*, 2013) soit par chélation de métaux de transition empêchant ainsi la réaction de Fenton (Rodrigo *et al.*, 2011) soit par inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production de ROS comme la xanthine oxydase (Halliwell, 1994 ; Jayasena *et al.*, 2013).

II.5. Espèces réactives de l'oxygène :

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) incluent les radicaux libres possédant au moins un électron libre sur la couche externe (radical hydroxyle OH·, superoxyde O₂·, le radicalperoxyl ROO·) et les dérivés non radicalaires, dont la réactivité est très élevée comme l

Peroxyde d'hydrogène H₂O₂, l'oxygène singulet ¹O₂ et l'acide hypochloreux HOCl (Cuzzocrea *et al.*, 2001 ; Chu *et al.*, 2010). A cause de leur hyperréactivité, les radicaux libres ont une demi-vie très courte (quelques nanosecondes à quelques millisecondes). Cette réactivité dépend des éléments en présence, si un radical rencontre un autre radical, le produit sera non radicalaire (A· + B· → AB). Si un radical rencontre un non radical, un nouveau radical sera formé (A· + B → A + B·) et donnera naissance à une chaîne qui continuera jusqu'à ce que le radical rencontre un autre radical ou un antioxydant (Finaud *et al.*, 2006).

Les espèces réactives de nitrogène (ERN) sont dérivés de l'oxyde nitrique ou du monoxyde d'azote comme le radical monoxyde d'azote (NO·), l'anion peroxydinitrite (ONOO·) et le radical dioxyde d'azote (NO₂·) (Finaud *et al.*, 2006).

II.5.1. Sources des espèces réactives oxygénées :

CHAPITRE II : Activités Biologiques des plantes médicinales

Les ROS sont produits continuellement présents à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes. La production endogène est plus importante que celle d'origine exogène (Figure 11 ,12).

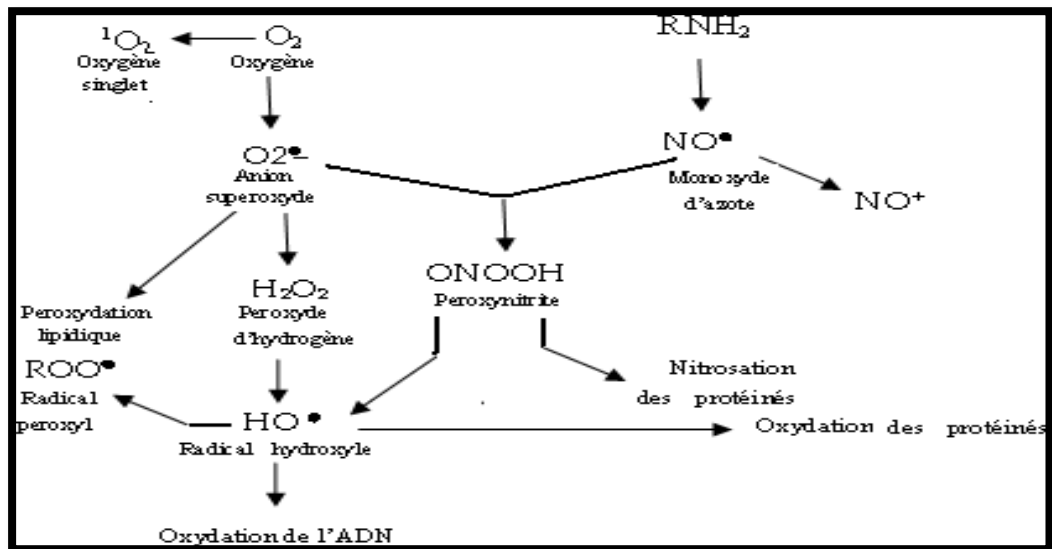


Figure11 : Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote intervenant dans le phénomène du stress oxydant (Favier, 1997).

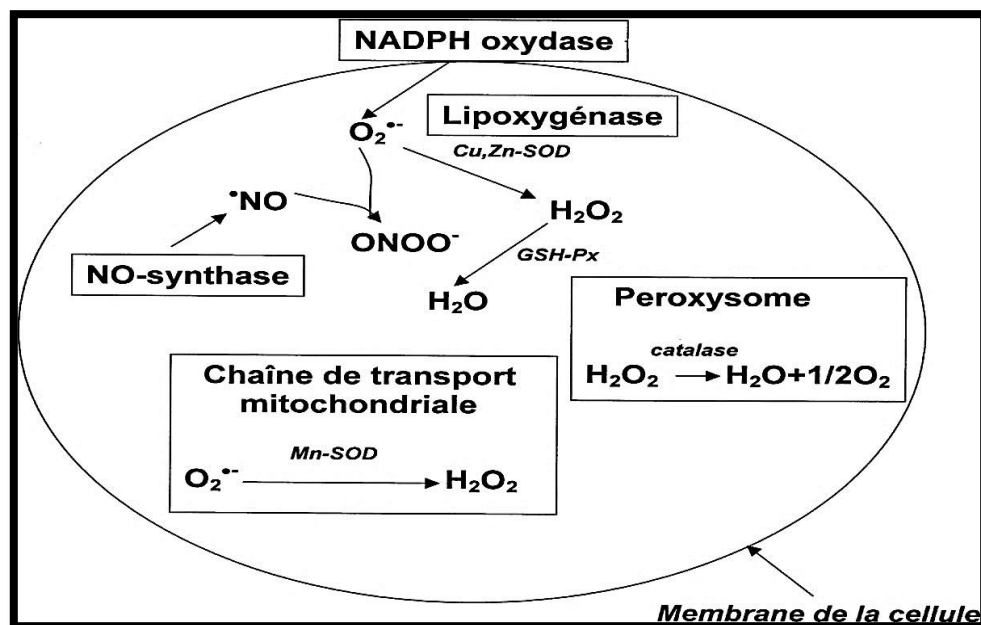


Figure 12 : Sources endogènes des espèces réactives oxygénées (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2002).

II.5.1.1. Sources endogènes des ROS :

La chaîne respiratoire mitochondriale est responsable de la production de 90% des ROS dans la cellule (Balaban *et al.*, 2005). La production d' $O_2^{\cdot-}$ résulte de la fuite d'électrons lors de leur transfert par les complexes de la chaîne respiratoire (Zhang et Gutterman, 2007).

Dans les conditions physiologiques, la xanthine oxydase (XO) catalyse l'hydroxylation oxydative de l'hypoxanthine en xanthine puis la xanthine en acide urique en produisant l'anion superoxyde (Chan, 2003). La XO joue un rôle crucial dans la génération de l' $O_2^{\cdot-}$ et du H_2O_2 . L' $O_2^{\cdot-}$ produit au cours de l'ischémie-reperfusion est rapidement converti en $ONOO^{\cdot-}$ par son interaction avec le NO (Rahman *et al.*, 2006).

Au cours de l'inflammation, la NADPH oxydase phagocytaire peut produire de grandes quantités du radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$ et ses dérivés (Nathan et Root, 1977). L'activation simultanée de la NADPH oxydase et de la myéloperoxydase (MPO), conduit à la production de l' 1O_2 et de l'acide hypochlorique, l'un des puissants oxydants phagocytaires à forte activité antimicrobienne (Steinbeck *et al.*, 1993). La NADPH oxydase non phagocytaire (fibroblastes) produit des radicaux libres en faible quantité qui jouent le rôle de régulateurs dans les cascades de signalisation intracellulaire (Bae *et al.*, 1997).

Les lipoxgénases et les cyclooxygénases représentent une autre importante source de ROS dans les parois vasculaires. La 5-LO catalyse l'oxydation des acides gras polyinsaturés

Pour donner des hydroperoxydes toxiques pour la cellule, comme elle intervient dans la formation du H_2O_2 par les lymphocytes T en réponse aux interleukines-1 β (Droge, 2002).

II.5.1.2. Sources exogènes des ROS :

Les rayonnements (RX ou γ) sont capables de générer des radicaux libres, soit en scindant la molécule d'eau soit en activant des molécules photosensibles (UV) et produire des anions superoxydes et de l'oxygène singulet (Favier, 2003).

Certains métaux (chrome, cuivre, fer et vanadium) génèrent des radicaux hydroxyles très réactifs. Les polluants de l'air, comme le goudron, la fumée des cigarettes et les contaminants industriels (amiante, silice) constituent une importante source de ERN tels que le NO^{\cdot} et le NO^2 (Koren, 1995). Ces oxydants participent à la genèse d'autres radicaux libres car ils sont responsables de l'auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires. Le NO^{\cdot} et le NO^2 peuvent aussi réagir avec l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène pour former de puissants oxydants comme $ONOO^{\cdot}$ et le radical OH^{\cdot} (Pincemail *et al.*, 1998 ; Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2001).

Le métabolisme *in vivo* de certains xénobiotiques (toxines, pesticides et herbicides), de nombreux médicaments (antibiotiques, anticancéreux...) peut contribuer à la production des ROS (Martinez -Cayuela, 1995).

II.5.2. Rôles physiologiques des ROS :

Les espèces réactives de l'oxygène présentent un paradoxe dans leurs fonctions biologiques. D'une part, ils préviennent les maladies en aidant le système immunitaire par la médiation de la signalisation cellulaire et en jouant un rôle essentiel dans l'apoptose. D'autre part, ils peuvent endommager des macromolécules importantes dans les cellules.

II.5.3. Défense contre les infections :

Les phagocytes activés produisent des ROS en quantités suffisantes pour tuer les bactéries. Dans ce système, les ROS sont produits par le complexe NADPH qui transforme le O_2 en $O_2^{\cdot-}$ (Kardeh *et al.*, 2014). Le $O_2^{\cdot-}$ est ensuite réduit dans le phagosome par la SOD en H_2O_2 qui peut être par la suite converti en HOCl par la MPO (Lloyd *et al.*, 2013). Le HOCl peut alors former spontanément le OH^{\cdot} . Ces deux molécules hautement réactives sont très toxiques pour les bactéries ingérées par les phagocytes. Le HOCl est également un élément important de la défense antimicrobienne par destruction de l'ancrage de l'ADN à la membrane bactérienne, ce qui entraîne l'arrêt de la réplication de l'ADN des bactéries (Nordberg et Arnér, 2001).

II.5.4. Oxydation des macromolécules :

Les lipides, les protéines et les acides nucléiques représentent les principales cibles des espèces réactives de l'oxygène (Figure 13).

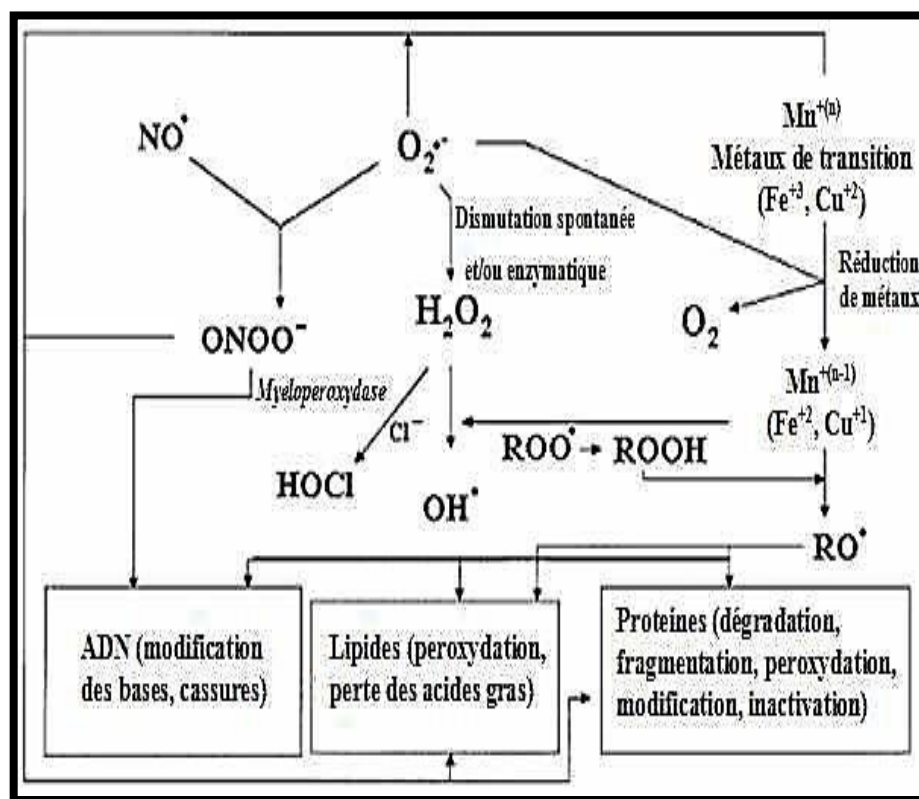


Figure 13 : Cibles biologiques et dommages induits par les ROS (Kohen et Nyska, 2002).

II.5.4.1. Peroxydation lipidique :

En raison de leur haut degré d'insaturation, les membranes riches en acides gras polyinsaturés sont très sensibles à l'oxydation. Ce processus induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes (Hong *et al.*, 2004). La réaction incontrôlée des ROS avec les lipides membranaires conduit à une génération innombrable de radicaux libres produits dans une réaction en chaîne, qui provoque la détérioration des membranes (Kardeh *et al.*, 2014 ; Pisoschi et Pop, 2015).

Dans la phase d'initiation (Figure 10) de la réaction en chaîne de la peroxydation, un radical hydroxyle réagit avec une chaîne d'acide gras insaturé (LH) et produit un radical d'acide gras et une molécule d'eau. Le radical d'acide gras n'est pas stable, dans la phase de propagation il a tendance à réagir avec l'O₂ pour produire un radical peroxyde lipidique (LOO•). Cette molécule générée réagit ensuite avec un autre acide gras insaturé et produit un

autre radical d'acide gras et un peroxyde lipidique (LOOH) (Kardeh *et al.*, 2014). Ce dernier est très réactif, il fournit une grande variété de produits actifs qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN.

Les réactions de peroxydation donnent des produits spécifiques utilisés comme indicateurs de la peroxydation tels que le malondialdéhyde (MDA), les acides thiobarbituriques (TBARS) et le 4-hydroxynonanal (4-HNE) (Valko *et al.*, 2006).

La réaction en chaîne de la peroxydation lipidique peut être prévenue par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes qui joue le rôle de donneur d'hydrogène. En effet, la vitamine E transforme les radicaux peroxydes en hydroperoxydes et met fin à la réaction en chaîne de peroxydation, c'est la phase de terminaison (Daum-Badouard, 2006). **Figure 14.**

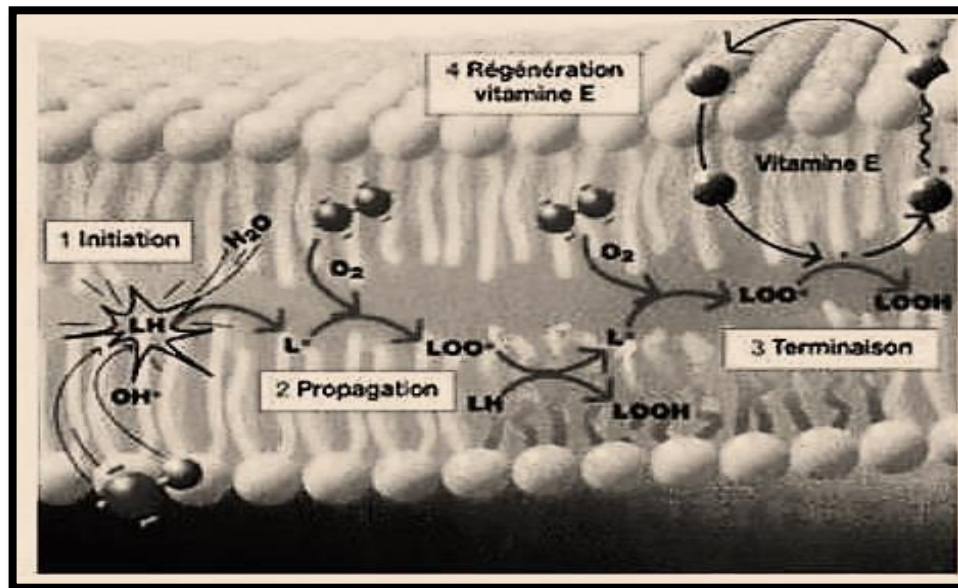


Figure 14 : Réaction de la peroxydation lipidique (Daum-Badouard, 2006).

II.5.4.2. Oxydation des protéines :

Les protéines sont susceptibles d'être oxydées par les ROS. Cette oxydation peut rompre les liaisons peptidiques modifiant ainsi la chaîne protéique. Elle provoque des modifications par addition de produits issus de la peroxydation. Le dommage des protéines peut se produire par oxydation du thiol, une carboxylation, une fragmentation ou un mauvais repliement et dépliement, ce qui pourrait conduire à la perte de l'activité de la protéine (Pisoschi et Pop, 2015).

Les protéines oxydées deviennent aussi très hydrophobes soit par suppression de groupements amines ionisables soit par extériorisation des zones hydrophobes centrales et la formation des amas anormaux dans ou autour des cellules (Goto et Radak, 2013).

Les principaux produits de l'oxydation des protéines sont les carbonyles qui sont utilisés comme

marqueurs du stress oxydant.

Tous les acides aminés sont sensibles à l'oxydation, en particulier, la cystéine et la méthionine sont facilement oxydables (**Raedschelders *et al.*, 2012 ; Pisoschi et Pop, 2015**).

L'oxydation des protéines est impliquée dans plusieurs pathologies telles que l'athérosclérose, les maladies neurodégénératives, la dystrophie musculaire, l'ischémie- reperfusion et le vieillissement (**Favier, 2003, Goto et Sadak, 2013 ; Bordt et Polster, 2014 ; Pisoschi et Pop, 2015 ; Moniczewski *et al.*, 2015**).

II.5.4.3. Oxydation de l'ADN :

Les ROS entraînent des dommages à l'ADN et conduisent à la mort cellulaire et au vieillissement (**Saito *et al.*, 2015**). Une abstraction d'hydrogène de l'ADN par le OH• conduit à l'hydroxylation des bases puriques et pyrimidiques, ces actions représentent les altérations les plus communes de l'ADN nucléaire et mitochondrial attaqués par les ROS (**Raedschelders *et al.*, 2012 ; Kardeh *et al.*, 2014**).

Comme pour les autres composés cellulaires, la majorité des altérations oxydatives de l'ADN sont induites par le radical hydroxyle. Lorsque le H₂O₂ échappe aux enzymes de régulation, il peut rejoindre le noyau de la cellule et réagir avec les ions Fe²⁺ et Cu⁺⁺ associés à la chromatine générant ainsi le radical hydroxyle *in situ*, qui attaque l'ADN (**Kruidenier et Verspaget, 2002**).

II.5.4.4. Oxydation des glucides :

Le glucose et les protéoglycanes du cartilage sont les cibles préférées des ROS. L'oxydation du glucose est directe et donne des dérivés carbonyles susceptibles de réagir avec une protéine pour aboutir à la formation de produits finaux de glycosylation (PFG), soit par la formation d'une liaison covalente entre un ose et les groupements aminés libres d'une protéine pour donner une protéine glyquée susceptible d'être attaquée par des ROS pour former des PFG. Ces derniers en présence de métaux de transition favorisent la libération

D'O₂^{•-} et fragilisent les parois vasculaires et la rétine chez les patients diabétiques (**Halliwell et Gutteridge, 1999**).

II.6. Activité microbienne :

II.6.1. Définition d'un antimicrobienne :

Un antimicrobien est une substance chimique, naturelle ou synthétique qui tue les micro-organismes ou inhibe leur croissance. Son activité dépend de paramètres tels que la concentration dans le substrat et sa typologie, la température, le pH, le type de microbe à combattre, ainsi que la présence d'humidité et d'oxygène.

II.6.2. Mécanisme de l'activité antimicrobienne :

Les infections bactériennes surtout nosocomiales représentent un véritable problème de santé publique en raison de la fréquence et de la gravité de ces infections, de leurs conséquences en termes de morbidité, et de mortalité, mais aussi par leur poids considérable en termes de consommation de soins, d'examen et de journées d'hospitalisation. Les causes de ce phénomène sont multiples mais le déterminant majeur est l'utilisation excessive et/ou inappropriée des antibiotiques (Munita et arias, 2016).

II.6.3. Résistance aux antibiotiques :

La résistance bactérienne aux antibiotiques est un problème majeur compliquant le traitement des infections bactériennes surtout par la dissémination des souches multi-résistantes (Ventola, 2015). La progression de cette multirésistance risque de conduire à une augmentation de la létalité de certaines infections bactériennes et représente donc une menace réelle (Serragui *et al.*, 2013 ; Munita et Arias, 2016). Le phénomène de résistance est connu pour toutes les familles d'antibiotiques et concerne toutes les espèces bactériennes. Ces dernières peuvent développer des mécanismes différents selon leurs sensibilités initiales et leurs capacités à exprimer les diverses résistances d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles sources de médicaments (Vaubourdolle, 2013).

Pour acquérir une résistance, les bactéries mettent en jeu quatre types de stratégies (Figure 15) qui sont toutes sous contrôle génétique. Dans la première dite offensive, la bactérie produit une enzyme appelée β -lactamase capable d'inactiver l'antibiotique. La deuxième stratégie dite d'évitement consiste à une modification de la cible de l'antibiotique qui rend ce dernier inefficace. Dans la troisième dite de contournement l'antibiotique atteint sa cible et interagit avec elle, mais la bactérie est capable d'utiliser d'autres voies métaboliques pour compenser le manque d'activité de la cible primaire et enfin la quatrième stratégie consiste soit à empêcher l'entrée de l'antibiotique dans la bactérie, soit à l'expulser, c'est le phénomène d'efflux actif (Mesaros *et al.*,

2005 ; Munita et Arias, 2016).

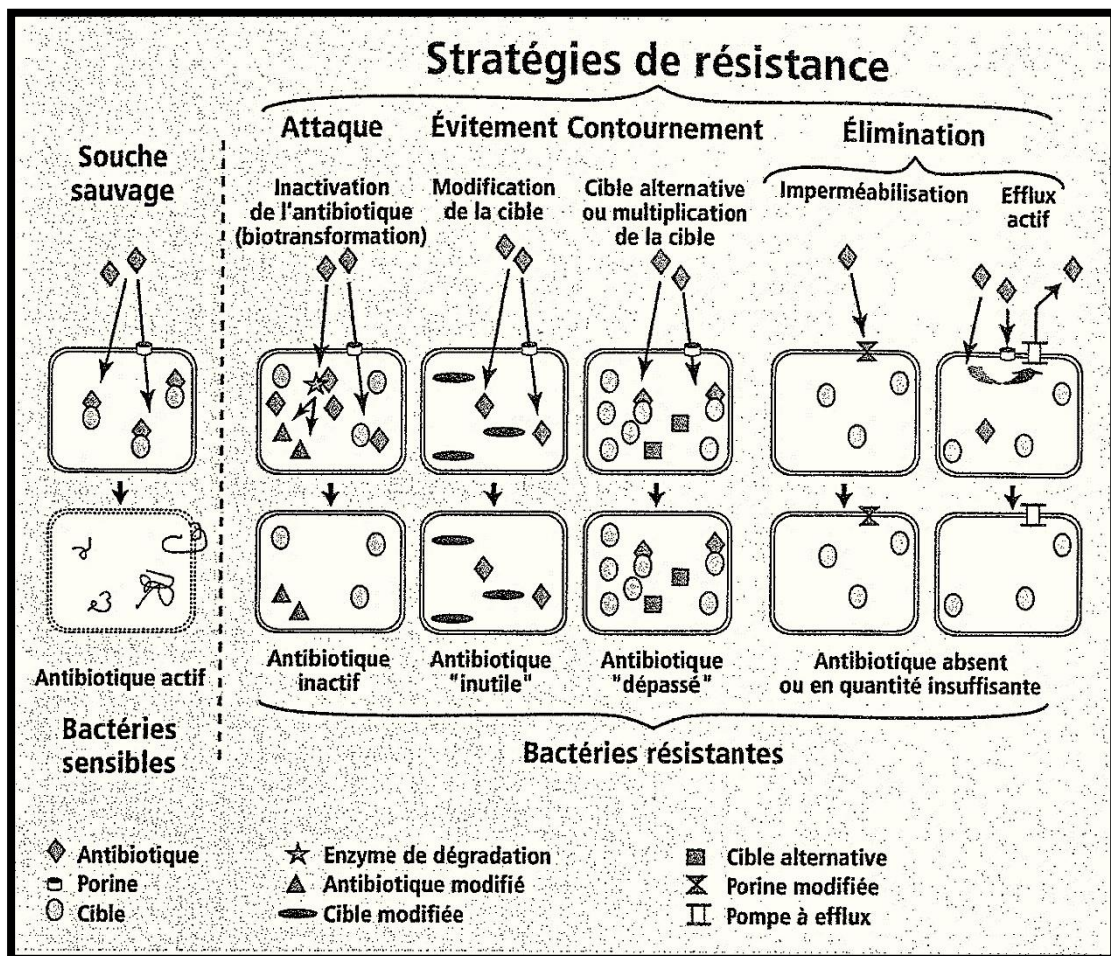


Figure 15 : Principales stratégies mises par les bactéries pour résister à l'action des antibiotiques (Mesaros *et al.*, 2005).

L'augmentation des résistances contre les principales classes d'antibiotiques combinée aux nombre limités d'agents en cours de développement a conduit à la découverte de nouvelles molécules susceptibles d'inhiber les mécanismes de résistance ou d'interférer avec la virulence bactérienne en ciblant leurs gènes de résistance, leurs facteurs de virulence ou en entravant la communication inter-cellulaire

II.6.4. Traitement des infections bactérienne :

II.6.4.1. Antibiotiques définition :

Les antibiotiques empêchent la multiplication des bactéries en perturbant leurs métabolismes ou entraînent leurs destructions en s'attaquant directement à leurs structures indispensables comme la paroi cellulaire, les ribosomes, membrane plasmique et ADN. Certains antibiotiques sont naturels, ils sont synthétisés par des microorganismes tels que la vancomycine, la streptomycine, la pénicilline et la céphalosporine. D'autres antibiotiques sont semi-synthétiques (ampicilline) et résultent de la modification des antibiotiques naturels par l'addition d'un groupement chimique. Plusieurs autres sont totalement synthétiques comme les sulfamides (**Chambers et Sande, 1998**).

II.6.4.2. Antimicrobiens naturels :

Depuis quelques années, les recherches sont orientées vers la caractérisation de nouveaux agents antimicrobiens d'origine naturelle comme les peptides bactériens, les bactériophages et les molécules bioactives des plantes qui peuvent substituer les antibiotiques classiques ou agir d'une manière synergique avec ces derniers. Les plantes synthétisent différents métabolites secondaires dotés d'activité antibiotiques mais en général cette activité est plus faible que celle exercée par les antibiotiques d'origine microbienne (**Kordali et al., 2008**). Parmi ces métabolites on trouve les polyphénols qui sont doués de diverses importantes activités antimicrobiennes, cette diversité est probablement liée à leurs diversités structurales (**Tableau 1**). Les phénols sont généralement bactéricides vis-à-vis des bactéries Gram⁺ et Gram⁻. Cet effet est probablement dû à l'inhibition de certaines enzymes (**Elzaawely et al., 2005 ; Taguri et al., 2006**). L'hydrophobie des polyphénols est aussi un critère de toxicité qui leur permet de s'insérer dans les phospholipides membranaires des bactéries et exercer leurs effets antibactériens (**Daglia, 2011**). La déstabilisation de la membrane cytoplasmique pour la rendre perméable, l'inhibition des enzymes bactériennes extracellulaires, l'action sur le métabolisme bactérien et la privation des substrats requis pour la croissance bactérienne, spécialement les micronutriments minéraux essentiels comme le fer et le zinc sont des mécanismes adaptés par les proanthocyanidins dans l'inhibition des bactéries (**Daglia, 2011**).

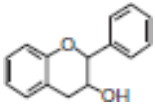
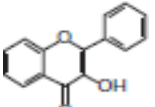
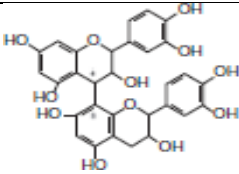
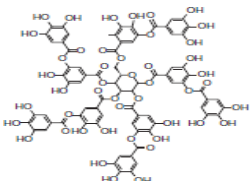
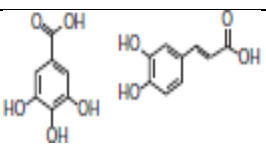
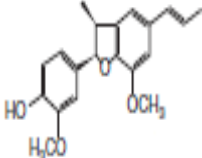
L'activité des flavonoïdes est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes (**Ulanowska et al., 2006**). Les flavonoïdes sont capables aussi de détruire la membrane cytoplasmique des cellules bactériennes (**Kusuda et al., 2006**) ou de changer sa fluidité (**Tsuchiya et Linuma, 2000**). Les flavonoïdes peuvent aussi interférer avec le métabolisme énergétique des bactéries. En effet, les retrochalcones et le flavanone lonchocarpole A inhibent fortement la consommation d'oxygène (**Haraguchi et al., 1998**).

Les tannins ont la capacité d'éliminer un nombre de facteurs de virulence microbienne. Ils

CHAPITRE II : Activités Biologiques des plantes médicinales

peuvent inhiber la formation de biofilms, réduire l'adhésion aux ligands de l'hôte et neutraliser des toxines bactériennes, (Daglia, 2011).

Tableau 1 : Principaux composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne (Daglia, 2011).

Composés phénoliques	Microorganismes sensibles	Exemples
 Flavane-3-ol	Bactéries	<i>V.cholerae</i> , <i>S. mutans</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. perfringes</i> , <i>E. coli</i> , <i>B. Cereus</i> , <i>H. pylori</i> , <i>S. aureus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>A. naeslundii</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>P. melaninogenica</i> , <i>F. nucleatum</i> , <i>C. pneumonia</i>
 Flavonols	Virus	Adénovirus, Entérovirus, Flu virus.
	Champignons	<i>Candida albicans</i> , <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> .
 Tannins condensés	Bactéries	<i>S. mutans</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> .
	Virus	Virus de l'influenza A, type -1 herpes simplex virus (HSV).
 Tannins hydrolysable	Bactéries	Différentes souches de : <i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Helicobacter</i> , <i>E. coli</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Campylobacter</i>
	Champignons	<i>Candida parapsilosis</i> .
 Acides phénoliques	Bactéries	<i>S.aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>E.coli</i> , <i>P.aeruginosa</i> .
 Néolignane	Bactéries	Différentes souches de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .

II.7. Activité anti tumorale :

L'activité antitumorale désigne ce qui a la capacité de lutter contre une tumeur qui peut faire stagner l'évolution d'une tumeur ou détruire la tumeur elle-même.

Voici une figure qui explique quelque type de cancers dont cela inhibe. **Figure 16.**

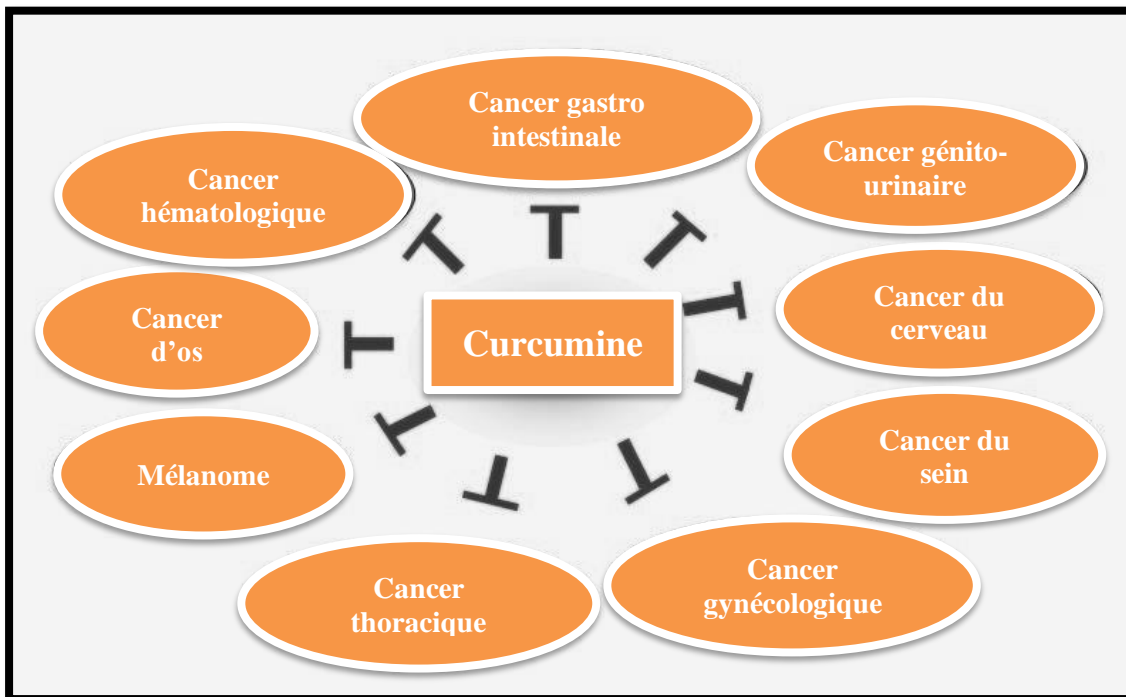


Figure 16 : La curcumine inhibe la croissance de cellules cancéreuses variées.

Plusieurs études indiquent que la curcumine est un puissant agent anticancer. Les tumorigenèses de la peau, de la glande mammaire, de la cavité orale, des voies aérodigestives, de l'œsophage, de l'estomac, de l'intestin, du colon, du poumon, du foie ont été stoppées par la curcumine (**Halliwell B et Gutteridge JM ,1999**).

Pour expliquer les effets anti-carcinogéniques de la curcumine sur des tumeurs différentes, une large variété de mécanismes a été impliqués, incluant l'inhibition des intermédiaires réactifs de l'oxygène, la suppression de l'inflammation, l'inhibition de la prolifération cellulaire, l'inhibition des isoenzymes du cytochrome P450, l'induction du GSH, la suppression de certains oncogènes (c-jun, c-fos), l'inhibition des facteurs de transcription comme NF-κB et AP-1, la suppression de la COX-2, l'inhibition de protéines du cyclecellulaire (cycline E), l'inhibition des dommages chromosomiques, l'inhibition de l'oxydation des bases de

l'ADN, l'inhibition de la formation d'adduits due au malondialdéhyde (MDA), l'inhibition de l'implantation des tumeurs, l'inhibition de protéines kinases, notamment la protéine kinase C, l'inhibition de la biotransformation des carcinogènes et l'induction de l'activité de la glutathion-S-transférase (Halliwell B et Gutteridge JM ,1999). **Figure 17.**

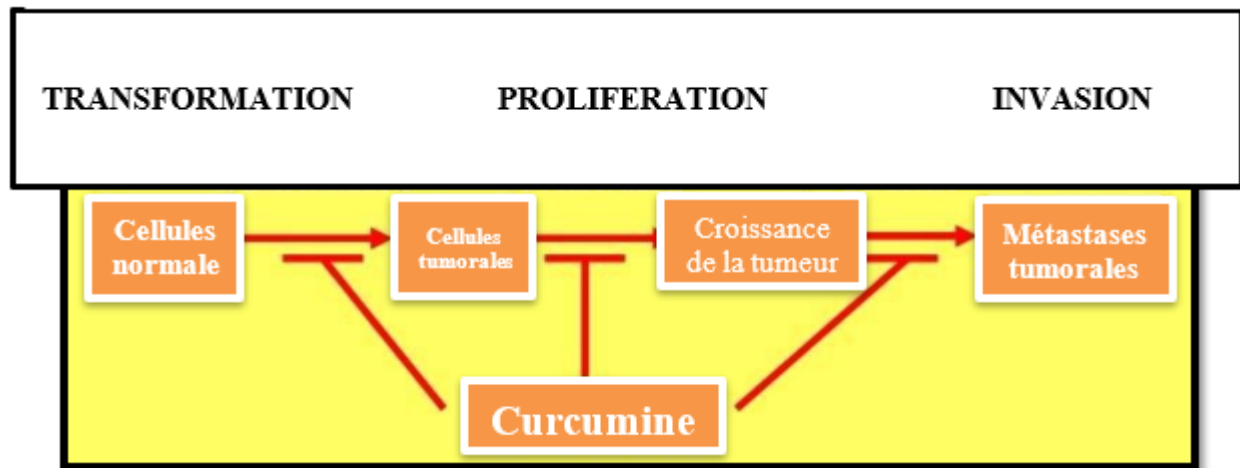


Figure 17 : Etapes de la progression tumorale inhibées par la curcumine. (Harman D. Aging).

La curcumine peut inhiber la prolifération d'une large variété de cellules cancéreuses, incluant les leucémies à cellule B et à cellule T, les carcinomes du colon, les carcinomes épidermoïdes, les carcinomes des cellules squameuses de la tête et du cou, les myélomes multiples et le lymphome des cellules du manteau. Elle a aussi supprimé la prolifération de lignées cellulaires variées de carcinome mammaire en culture.

Les effets antiprolifératifs de la curcumine ont été examinés sur des lignées cellulaires de cancer du sein, incluant les lignées hormono-dépendantes et -indépendantes, ainsi que les lignées MDR (*multidrug resistance*). Toutes les lignées cellulaires testées ont été très sensibles à la curcumine. L'effet inhibiteur de croissance était temps- et dose-dépendant. La curcumine a arrêté préférentiellement les cellules en phase G2/S du cycle cellulaire (Halliwell B et Gutteridge JM ,1999). Le facteur de transcription AP-1 joue un rôle central dans la régulation transcriptionnelle des papillomavirus humains (HPV) à haut risque comme HPV 16 et HPV 18,

CHAPITRE II : Activités Biologiques des plantes médicinales

qui sont étiologiquement associés au développement du cancer de l'utérus chez la femme. Il a été démontré que la curcumine peut sélectivement réguler l'expression de HPV 18 dans des cellules **(Halliwell B et Gutteridge JM ,1999)**.

La curcumine a agi en synergie avec la vinorelbine dans la suppression de la croissance de cellules humaines de carcinome pulmonaire H520. Les deux agents ont provoqué l'apoptose en augmentant l'expression de BAX et BAK tout en diminuant celle de BCL2 et BCL-X_L, libérant le cytochrome C et augmentant l'activité des caspases 9 et 3. Le traitement par la curcumine a induit 23,7% d'apoptose dans les cellules H520, et la vinorelbine 38%. Le prétraitement des cellules avec de la curcumine a augmenté l'apoptose induite par la vinorelbine à 61,3%. Ces résultats suggèrent que la curcumine a le pouvoir d'agir comme un adjuvant de chimiothérapie et augmente l'activité chimio thérapeutique de la vinorelbine dans des cellules H520 *in vitro* **(Halliwell B et Gutteridge JM ,1999)**.

La curcumine altère significativement l'organisation des microfilaments et la motilité cellulaire dans des cellules de cancer de la prostate PC-3 et LNCaP *in vitro*. La curcumine arrête rapidement les mouvements cellulaires, altère la forme des cellules et augmente la quantité d'actine. Ces résultats démontrent que la curcumine exerce des effets significatifs sur le cytosquelette des cellules de cancer de la prostate, incluant l'altération de l'organisation et la fonction des microfilaments. Ceci représente un mécanisme important par lequel la curcumine fonctionne comme un agent chémopréventif, et comme un inhibiteur de l'angiogenèse et du processus métastatique **(Halliwell B et Gutteridge JM ,1999)**.

La chimio-résistance est un problème majeur dans le traitement des patients atteints de myélome multiple ; elle est due à l'expression de NF- κ B et STAT-3. La suppression de l'activation de NF- κ B et STAT-3 dans les cellules de myélome multiple par le traitement *ex vivo* par la curcumine résulte en la diminution de l'adhésion des cellules de la moelle osseuse, de la sécrétion de cytokines et de la viabilité des cellules **(Halliwell B et Gutteridge JM ,1999)**.

Helicobacter pylori est un carcinogène associé au développement des cancers gastrique et du colon. Un extrait alcoolique de poudre de curcuma et de la curcumine ont été testés sur 19 souches d' *H. pylori*. L'extrait alcoolique et la curcumine ont tous deux inhibé la croissance de toutes les souches *in vitro*. Cette donnée démontre que la curcumine inhibe la croissance d'*H.pylori* et que cela doit être l'un des mécanismes par lequel la curcumine exerce ses effets chémopréventifs **(MAHADY et al.,2001)**

II.7.1. Effet chemopreventif de la curcumine :

De nombreuses études sur des rongeurs soutiennent le potentiel chémopréventif de la curcumine. La curcumine peut supprimer l'activité tumorigénique d'une large variété de carcinogènes, notamment responsables des cancers du côlon, duodénum, œsophage, aérodigestif, foie, sein, buccaux et prostate.

Dans des études sur des souris, la curcumine en usage topique a été capable d'inhiber la formation de tumeur de la peau, induite par le DMBA (7,12-diméthylbenz[a]anthracène) et le TPA (12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate (**Gutteridge et al.,1992**).

La curcumine a aussi prouvé sa capacité à inhiber, d'une part l'activité initiatrice du DMBA sur des tumeurs mammaires (SHISHODIA) et d'autre part, la formation *in vivo* d'adduits chez des rates (**Desmier,2016**).

Il a aussi été démontré que la curcumine exerce son activité chémopréventive lorsqu'elle est administrée pendant les phases de promotion et de progression de carcinogenèse colique (**Kan,1995**).

Dans une étude plus récente, les effets de la curcumine, administrée à une dose journalière de 100 mg/kg, ont été analysés sur des modèles animaux de cancérogenèse hépatique induite par la N-nitrosodiéthylamine (DENA) et le phénobarbital. Les chercheurs ont ainsi démontré qu'une dose journalière de 100 mg/kg prévient la réduction de l'activité antioxydante du

Glutathion, diminue la peroxydation lipidique et minimise les altérations histologiques induites par la DENA et le phénobarbital. Chez des rats traités pendant vingt-deux semaines par de la nicotine et de la curcumine (80mg/kg par intubation intra-gastrique), les profils lipidiques ont été modifiés. En effet, la curcumine a exercé des effets anti-hyperlipidémies, la consommation de nicotine entraînant une augmentation des acides gras libres, une baisse du cholestérol HDL et une augmentation du cholestérol LDL (**Etherton,2002**).

II.7.2. Effet anti tumoral de la curcumine :

Devant les innombrables démonstrations des effets anti-prolifératifs de la curcumine *in vitro*, de nombreuses études ont évalué son efficacité sur des modèles animaux.

La première étude recherchant l'effet anti-tumoral de la curcumine sur un modèle animal date de 1985, sur des cellules de lymphome de souris. Les chercheurs ont encapsulé la curcumine (5 mg/ml) dans des liposomes, et elle a été administrée par voie intra-péritonéale (50 mg/kg) aux

CHAPITRE II : Activités Biologiques des plantes médicinales

souris un jour après l'injection des cellules de lymphome et pendant dix jours. Trente et soixante jours après le traitement, les animaux survivants ont été comptés. Quand la curcumine a été utilisée sous forme liposomale à une concentration de 1 mg/animal, tous les animaux ont survécu à 30 jours et seulement 2 ont développé une tumeur et sont morts avant 60 jours. Ont montré que la curcumine est cytotoxique pour les cellules de mélanome B16-R résistantes à la doxorubicine. Ils ont démontré que l'effet cytotoxique observé est dû à l'induction de la mort cellulaire programmée, autrement dit l'apoptose. Ils ont examiné l'efficacité d'une préparation immune prophylactique à partir de cellules B16-R ou d'un traitement par curcumine. La combinaison des deux traitements a inhibé la croissance des cellules B16-R, alors que chaque traitement utilisé seul a montré peu d'effet. De plus, les animaux recevant la combinaison thérapeutique ont vu leur réponse immunitaire augmenter ainsi que leur durée de vie médiane (>82.8%, contre 48% et 45%, respectivement pour le groupe immunisé et le groupe recevant la curcumine) (NOTARBARTOLO et al.,1992).

L'administration orale de curcumine à des doses de 200 nmol/kg de poids corporel chez des souris avec des métastases pulmonaires de mélanome B16F10, a réduit le nombre de nodules cancéreux pulmonaires de 80%. L'espérance de vie des animaux traités par curcumine a été augmentée de 143%. De plus, les taux de collagène pulmonaire et de d'acide sialique sérique ont baissé significativement dans le groupe traité par la curcumine. Le traitement par la curcumine a inhibé l'invasion des cellules de mélanome B16F10 à travers une matrice de collagène, et non à travers un filtre en polycarbonate. Ces résultats suggèrent que la

Curcumine inhibe l'invasion des cellules B16F10, en inhibant les MMP, et par conséquent inhibe le phénomène de métastases. D'autres études *in vivo* ont montré les effets de la curcumine sur l'angiogenèse des tumeurs et sur les marqueurs biologiques COX 2 et VEGF dans des cellules de carcinome hépatocellulaire implantées chez des souris. Un groupe de recherche a démontré que l'administration systémique de curcumine (20 µg/kg) durant six jours consécutifs à des rats porteurs d'hépatome ascitique Yoshida AH-130, réduisait significativement la croissance tumorale (Shen L et al.,2004).

En même temps, d'autres chercheurs ont montré que la curcumine peut supprimer la croissance de carcinomes de la tête et du cou, module la croissance du cancer de la prostate chez les rongeurs et inhibe la croissance du cancer pancréatique humain chez la souris, en partie en inhibant l'angiogenèse et en induisant l'apoptose. De plus, la curcumine diminue le potentiel prolifératif et augmente le potentiel apoptotique de cellules de cancer de la prostate androgène-dépendant et – indépendant *in vitro*, en modulant les protéines anti-apoptotiques et en interférant

CHAPITRE II : Activités Biologiques des plantes médicinales

avec les récepteurs des facteurs de croissance. Pour étendre ces informations, un groupe de chercheurs a évalué le potentiel anti cancer de la curcumine dans un modèle de cancer prostatique chez la souris. Les cellules LNCaP androgène-dépendantes ont été injectées par voie sous-cutanée. Le groupe expérimental a reçu un régime synthétique contenant 2% de curcumine pendant 6 semaines.

A la fin de l'expérience, les tumeurs ont été prélevées et évaluées pour la pathologie, la prolifération cellulaire, l'apoptose et la vascularisation. Les résultats ont montré que la curcumine induit une baisse marquée de la prolifération cellulaire et une augmentation de l'apoptose. Il a été conclu que la curcumine est un agent thérapeutique anti-cancéreux potentiel, car elle a inhibé la croissance du cancer de la prostate chez ces souris et elle a le potentiel de prévenir la progression de ce cancer (**Etherton,2002**).

D'autres études plus récentes ont évalué les effets chémo- et radio-sensibilisants de la curcumine. Par exemple, les effets chémo-sensibilisants de la curcumine ont été évalués en combinaison avec le paclitaxel sur des métastases pulmonaires de cancer du sein.

Ses effets ont aussi été recherchés sur des cellules humaines de cancer du sein MDA-MB-231 implantées sur un modèle de souris et on a observé que le nombre de métastases baissait significativement après une injection intercardiaque de curcumine, une démonstration claire des espoirs fondés sur le rôle de la curcumine dans la prévention des métastases. On s'est également intéressé aux effets de la curcumine utilisée seule et en combinaison contre plusieurs cancers. Il a été démontré que :

- l'association de la curcumine et de la gemcitabine inhibe la croissance du cancer pancréatique chez des souris *nude* en inhibant l'expression du gène NF- κ B, la prolifération cellulaire et l'angiogenèse
- l'association de la curcumine avec du docetaxel est efficace contre le cancer humaine de l'ovaire chez des souris .
- la curcumine peut supprimer la croissance de glioblastomes humains chez des rongeurs
- la curcumine sensibilise à l'oxaliplatine les cancers du colon chez la souris

De plus, d'autres études ont prouvé que la curcumine sensibilise des cancers de la prostate à la chimiothérapie et aux rayons en diminuant l'expression de l'oncogène MDM2. (**Shen L et al.,2004**).Ensembles, toutes ces études *in vivo* révèlent le potentiel anti-cancer de la curcumine, lorsque celle-ci est administrée seule ou en association à des agents de chimiothérapie courants ou à la radiothérapie.

II.8. Mécanisme d'action anti-cancéreux de la curcumine :

Comment des altérations au niveau du cycle cellulaire contribuent à la transformation maligne des cellules normales et comment la curcumine exerce ses effets anti- néoplasiques ?

La prolifération cellulaire et la mort cellulaire sont des destins cellulaires diamétralement opposés mais étroitement liés. Il existe un petit chevauchement mécanique entre les machineries qui conduisent à la prolifération et à l'apoptose. En effet, les deux processus sont couplés à différents niveaux par les acteurs moléculaires individuels responsables de l'orchestration de l'expansion cellulaire. Les mêmes acteurs sont souvent des cibles pour les mutations oncogéniques, et, dans la plupart des cas, les mutations qui affectent la prolifération coopèrent avec celles de l'apoptose pendant la transformation et la tumorigenèse. Mais, le phénomène d'apoptose induite par les oncogènes est maintenant accepté comme étant un mécanisme inné de suppression des tumeurs, les lésions oncogéniques déclenchant la machinerie du suicide cellulaire. Dans les cellules normales, il y a une balance entre les signaux de promotion et de restriction de croissance, ce qui permet à la prolifération d'avoir lieu uniquement si elle est nécessaire, comme lors de la cicatrisation ou du *turn over* normal des cellules. La prolifération et la différenciation des cellules durant ces processus sont ordonnées et cessent lorsqu'elles ne sont plus nécessaires. Dans les cellules tumorales ce processus est rompu, la prolifération continue des cellules a lieu ainsi que la perte de différenciation. Ainsi, une cellule normale devient maligne lorsque la prolifération cellulaire n'est plus contrôlée. De plus, les cellules cancéreuses possèdent d'autres caractéristiques comme l'angiogenèse, le développement de métastases et la suppression de l'apoptose (**Chambers et Sande, 1998**).

CHAPITRE III :

CURCUMA LONGA

Le curcuma longa, mondialement connu sous le nom de *curcuma*, est utilisé depuis plus de 6000 ans comme épice dans la cuisine de tous les jours ainsi que dans la médecine traditionnelle. *Curcuma longa* est une plante à rhizome originaire d'Asie du Sud et du Sud-Est et du Pakistan, de Chine, d'Indonésie, d'Inde, du Népal, de la Jamaïque, du Bangladesh, de Malaisie, de Taïwan et d'Haïti. Le type de curcuma appartenant à la famille des Zingibéracées, comprend environ 70 espèces connues parmi les herbes médicinales aux valeurs thérapeutiques et médicinales, et sont couramment utilisées depuis longtemps comme conservateurs alimentaires, colorants et épices. (Sultane et al., 2021).

Au début de la colonisation de l'Inde par l'Angleterre au XVe siècle, le curcuma était mélangé, entre autres, au cumin et à la coriandre pour former ce qu'on appelle le curry (Jourdan, 2015).

Le curcuma est très vénéré par les hindous et fait intéressant, est donné comme Prasad (un matériau de bénédiction) sous forme de poudre, dans certains temples. Évidemment, celui qui est à l'origine de cette idée avait deux objectifs en tête : bénir le destinataire et lui donner du matériel qui a une grande valeur médicinale. Charaka et Sushruta, les grands anciens médecins indiens qui ont systématisé le système de médecine ayurvédique, ont répertorié les diverses utilisations du curcuma (Anon 1950 ; Nadkarni 1976).

Le rhizome de curcuma broyé et réduit en poudre a été largement utilisé dans la cuisine asiatique, les médicaments, les cosmétiques et la teinture des tissus pendant plus de 20 000 ans (Ammon et Wahl 1991). Les premiers explorateurs européens du continent asiatique ont introduit le curcuma dans le monde occidental au XIVe siècle (Aggarwal et al., 2007). Environ 40 espèces du genre *Curcuma* sont indigènes en Inde, ce qui indique son origine indienne (Velayudhan et al., 1999).

En dehors de *Curcuma longa*, plusieurs espèces d'importance économique sont disponibles, telles que *Curcuma aromatica* Salisb., *Curcuma Amada* Roxb., *Curcuma caesia* Roxb., *Curcuma aeruginosa* Roxb., et *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. (Figure 18).

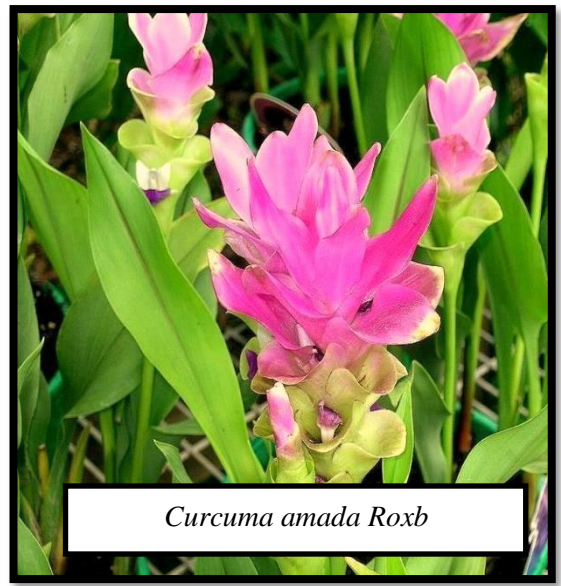
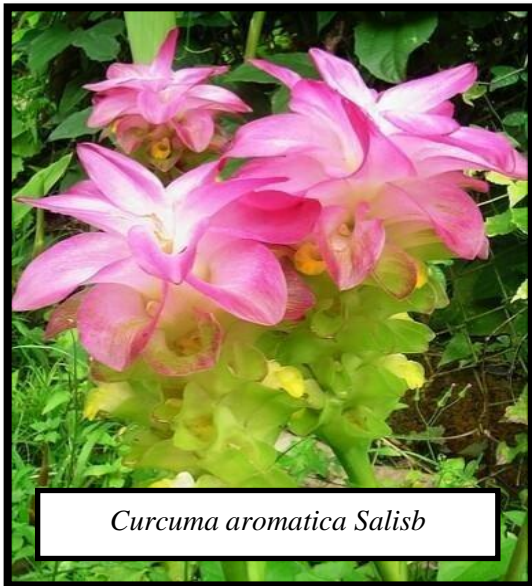


Figure 18 : Différentes espèces de *Curcuma longa*.

Le curcuma est utilisé en Inde depuis plus de 5000 ans maintenant. **Marco Polo** l'a décrit en 1280 dans ses mémoires de voyage sur la Chine. Au cours de ses nombreux voyages légendaires en Inde via la "route de la soie", Marco Polo a été tellement impressionné par le curcuma qu'il l'avait mentionné comme un légume qui possède des propriétés similaires au **safran** mais qui n'est pas réellement du safran (**Parry 1969**). C'est probablement aussi la raison pour laquelle il était alors connu sous le nom de "**safran indien**".

III.1. Étymologie (origine du nom) :

Le curcuma tire son nom du mot latin *terra merita*, signifiant terre méritoire, qui fait référence à la couleur du curcuma moulu, ressemblant à un pigment minéral. Le nom botanique est *Curcuma longa* L. appartient à la famille des Zingibéracée. Le nom latin du curcuma est *Curcuma longa*, (Williamson, 2002). Également connu sous le nom de carthame ou gingembre jaune, la curcumine est son principal composé phénolique (Zhao et al., 2012). Le curcuma peut dériver de son nom arabe (Kurkum) ou du nom hébreu (karkom) qui signifie jaune. Le terme *longa* vient de la forme allongée de son rhizome. (Lecerf, 2012 ; Fan-Cheng et al., 2018). Différents noms de curcuma sont rassemblés dans la figure 19.

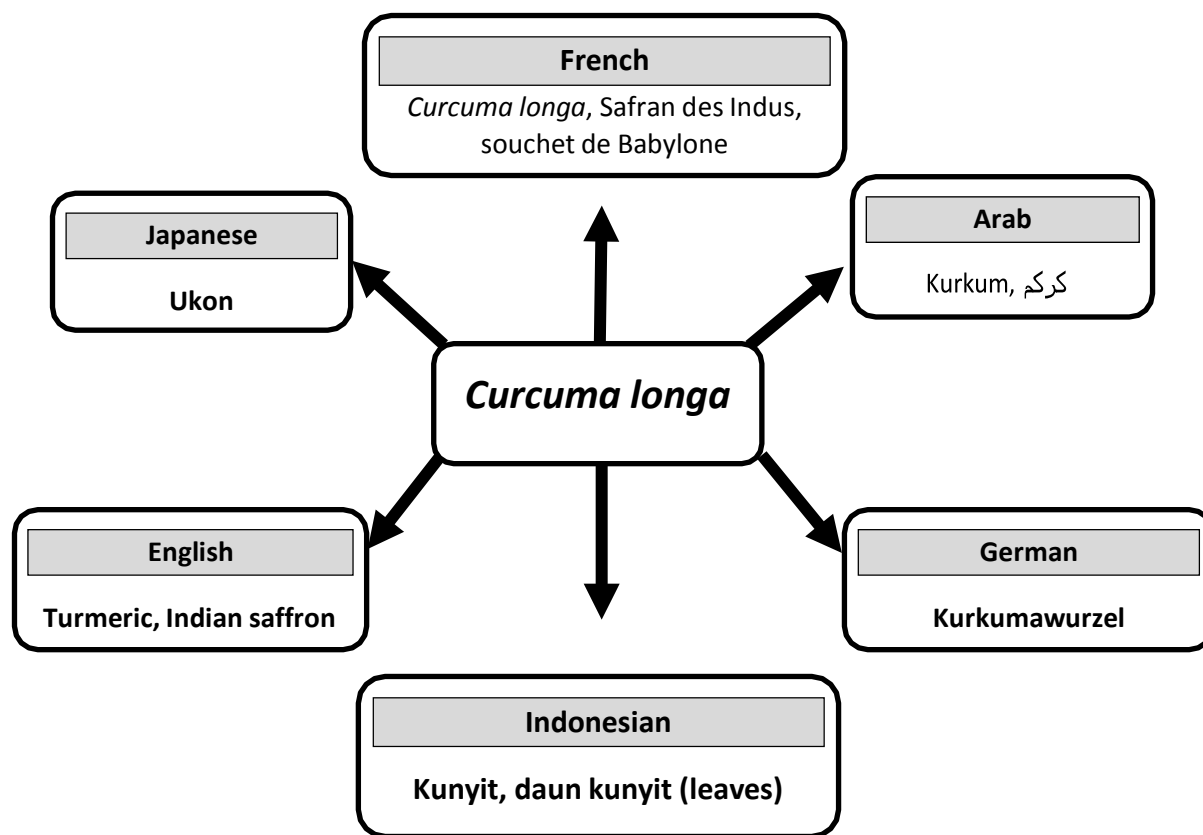


Figure 19 : Les différents noms de *Curcuma longa* (Trabut, 1935 ; Loap, 2008).

III.2. Classification botanique :

Selon la classification systématique de **Carl Von Linné** la classification botanique du *Curcuma longa* est donnée dans le tableau 2.

Tableau 2 : Classification botanique de la plante *Curcuma longa* (Jayaprakasha *et al.*,2005)

Royaume	<i>Plantes</i>
Sous-royaume	<i>Trachéobionte</i>
Super division	<i>Spermatophytes</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Sous-classe	<i>Zingibéridés</i>
Ordre	<i>Zingibérales</i>
Famille	<i>Zingibéracées</i>
Genre	<i>Curcuma</i>
Espèces	<i>Longa</i>
Nom scientifique	<i>Curcuma longa</i>

III.3. Description botanique :

Curcuma longa est une plante herbacée vivace feuillue, appartenant à la famille des Zingibéracées, qui mesure jusqu'à un mètre de haut avec une tige courte, des feuilles pointues oblongues et des fleurs jaunes en forme d'entonnoir. Le rhizome (tige souterraine) est épais et annelé à la base des vieilles feuilles. Le curcuma ne se reproduit que via ses rhizomes. Elle est répandue dans toutes les régions tropicales et subtropicales du monde (Jaggi L, 2012, Rom J, 2015, Roshan P, 2017).

III.3.1. Rhizomes :

Les rhizomes sont des tiges souterraines horizontales qui envoient des pousses ainsi que des racines. Les plantes *Curcuma* qui atteignent environ un mètre de hauteur et portent de longues feuilles simples avec de longs pétioles (tiges de feuilles) ont des feuilles qui émergent des rhizomes ramifiés qui se trouvent juste sous la surface du sol. Les rhizomes plus âgés sont quelque peu écailleux et de couleur brune, tandis que les jeunes rhizomes sont jaune pâle à brun-orange. Les rhizomes principaux sont de forme ovoïde, donnent des *Curcuma* ronds (2,5 à 7,5 cm de longueur et 1 à 2 cm de diamètre) ; et les secondaires *Curcuma longa* « les doigts » qui font à maturité 5 à 10 cm de long et 1 à 1,5 cm de diamètre (Figure 20).

CHAPITRE III : *Curcuma Longa*

Au niveau microscopique, on distingue des cellules parenchymateuses entre lesquelles circule un réseau vasculaire. Les cellules des tissus profonds sont remplies de nombreux grains (Delaveau, 1987). Les rhizomes représentent la partie consommée comme épice (Cheikh Ali, 2012)

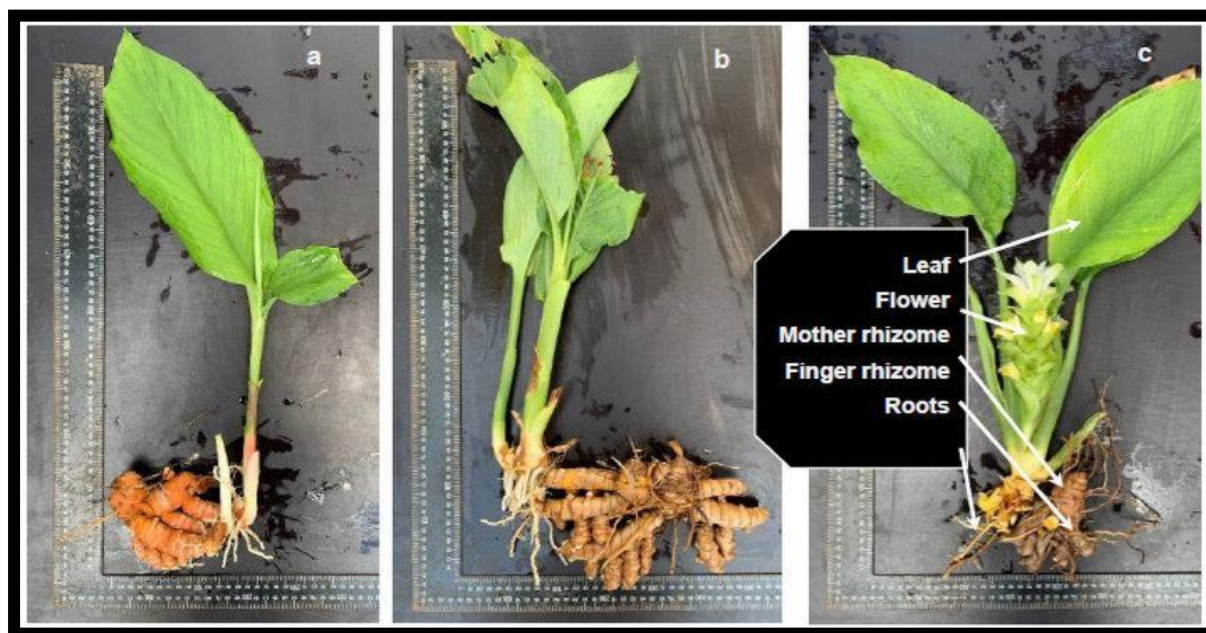


Figure 20 : Rhizomes et feuillage du curcuma (*Curcuma longa*) (Remote Sens. 2021).

III.3.2. Composition biochimique des rhizomes de curcuma séchés ;

Les rhizomes de curcuma contiennent des ingrédients assortis : un composé organique aromatique (phénols), des biomolécules poly phénoliques (tanins) et des anthocyanes qui sont un pigment soluble dans l'eau donne aux plantes leur couleur en fonction de leur pH, dans le curcuma le type d'anthocyanes est la pélargonidine (orange à rouge) dans en plus d'autres constituants sont présentés dans le **tableau 3**.

Tableau 3 : Contenu biochimique des rhizomes de curcuma séchés (Niranjan et al. ,2003.)

Curcumine	3,1-3,4 %
Anthocyane	18,9-37 %
Phénols	0,15-0,62 %
Tanins	0,32- 0,76 %
Contenu protéique	3,6- 6,8 %
Sucre	20,5- 43,4 %
Huile	3,7- 5,5 %
Cendre	6,9- 9,8 %
Moisissure	90,2- 91,3 %

III.3.3. Les principaux composants actifs du rhizome :

Les principaux constituants actifs sont les curcuminoïdes non volatils et l'huile volatile (Mau et al., 2003 ; Lobo et al., 2009). Les curcuminoïdes (curcumine, desméthoxycurcumine et bisdéméthoxycurcumine) sont des dérivés polyphénoliques non toxiques de la curcumine qui exercent un large éventail d'activités biologiques (Itokawa et al., 2008).

Les pousses feuillées portent jusqu'à dix feuilles alternes distiques (disposées en deux rangées, une de chaque côté de la tige). Feuilles vertes foncer dessus avec une nervure médiane verte, vert très clair dessous, densément parsemées de points pellucides. Les limbes des feuilles sont minces, elliptiques à oblongs-lancéolés, atteignant 70 cm de long et 3 à 18 cm de large (Boullard, 2001). Pétiole de la feuille atteignant 10 cm de long, largement sillonné avec des ailes étroites le long des bords (Figure 21).



Figure 21 : Feuillage de *Curcuma longa*. (Boullard, 2001)

III.3.4. Les principaux composants actifs du feuillage :

Les huiles essentielles des feuilles constituent le contenu principal car elles sont généralement dominées par les mono terpènes (Figure 22). Plusieurs études phytochimiques sur les huiles de

Curcuma ont conduit à l'identification de sesquiterpénoïdes et les monoterpénoïdes comme principaux composants

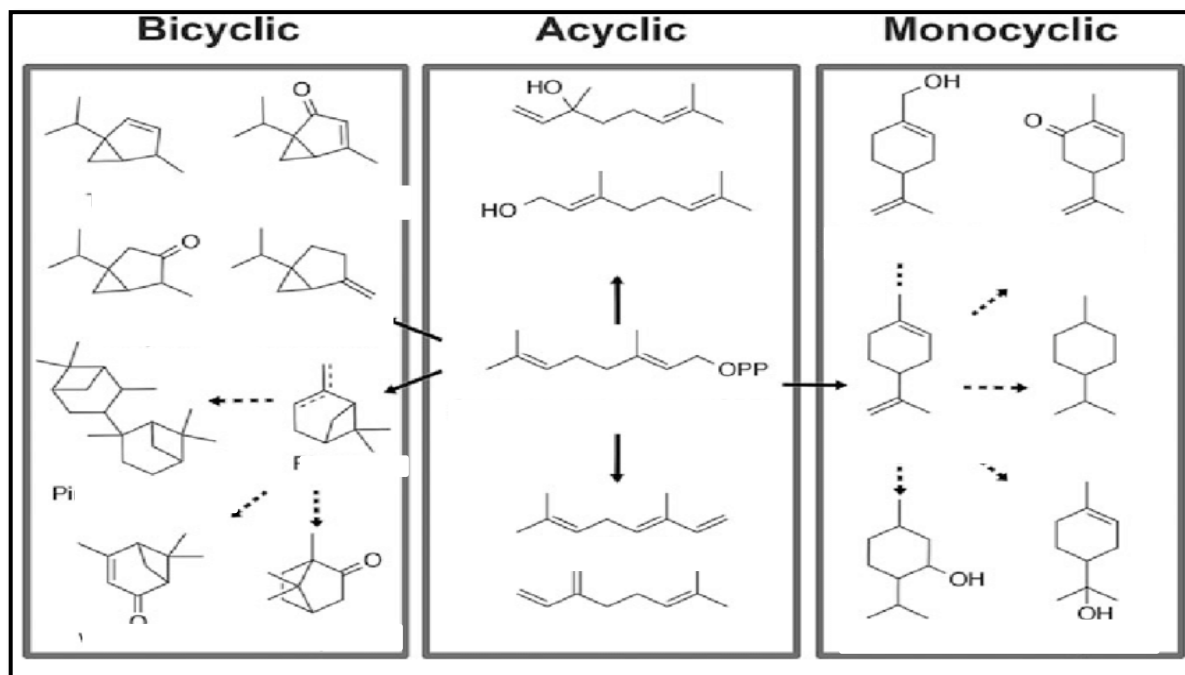


Figure 22 : structure chimique et division des monoterpénoïdes (acyclique, monocyclique, bi cyclique) (Kevin *et al.*, 2015).

III.4. Fleurs :

Fleurs tubulaires, blanches à jaune-blanc, s'ouvrant une à la fois et portées sur des inflorescences en épi de 10-15 cm de long qui sont terminales sur une pousse feuillue centrale, apparaissant entre les gaines foliaires. Bractées inférieures vert pâle avec des stries longitudinales blanches ou des marges blanches, les supérieures blanches, parfois à pointe rose. Bractéoles (petite bractée, surtout sur le pédicelle d'une fleur) nombreuses, disposées en spirale et densément poilues, formant des poches, chacune avec des fleurs à l'intérieur.

Les fleurs sont stériles et ne produisent pas de graines viables. Il se reproduit de manière asexuée par rhizomes. La reproduction asexuée chez *Curcuma Longa* appelée reproduction végétative, qu'un processus pourrait être sans aucune production de graines ou de spores. Elle se fait naturellement ou par les horticulteurs (**Figure 23**).

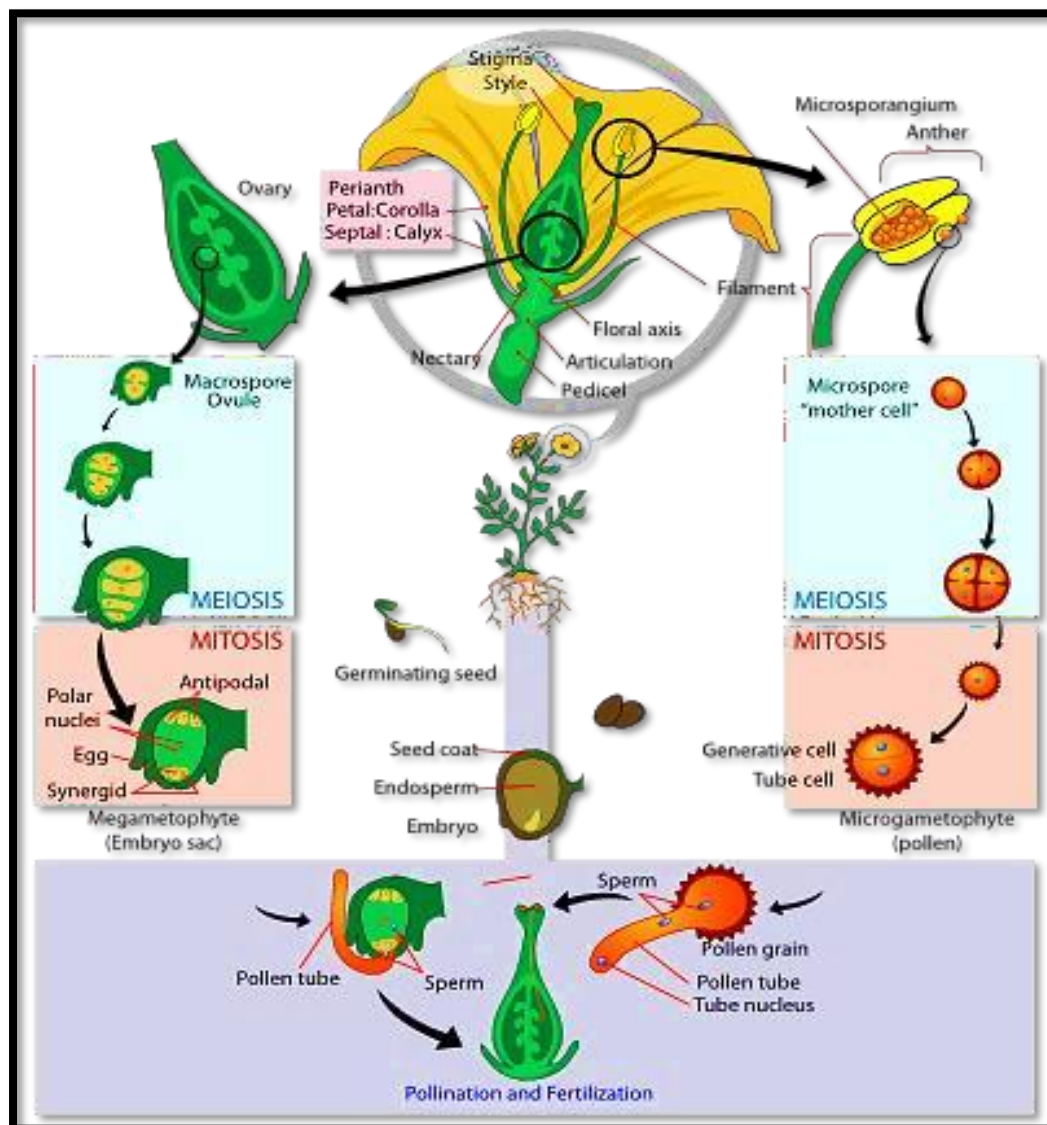


Figure 23 : La reproduction végétative de *Curcuma longa*.

Pathak et al., (1960) ont étudié le comportement de floraison et l'anthèse de *Curcuma longa*. La floraison du curcuma varierait selon les cultivars et les conditions climatiques. La floraison a lieu entre 109 et 155 jours après la plantation, selon la variété et l'environnement. La durée d'éclosion des fleurs au sein d'une inflorescence dure de 7 à 11 jours (**Nazeem et al., 1993 ; Rao et al., 2006**). (**Nambiar et al., 1982**) ont été les premiers à signaler la propagation des graines dans le curcuma, en particulier dans les types aromatica. Ils ont étudié le comportement de floraison, la nouaison et la germination chez *C. longa* et *C. aromatica*. Ils ont découvert que la période de floraison de *Curcuma longa* était de septembre à décembre.



Figure 24 : fleur de *Curcuma longa*.

III.4.1. Le composant principal et l'utilisation des fleurs de curcuma :

Les fleurs contiennent de la curcumine, le composé que l'on trouve également dans la racine de *Curcuma longa* et qui possède de puissants anti-inflammatoires (Reanmongkol *et al.*,2006) et des effets antioxydants (Mau *et al.*,2003). Les fleurs de curcuma sont également une riche source d'huiles essentielles, ont une activité antimicrobienne (Wilson *et al.*, 2005), en particulier le p-cymen8-ol, qui réduit la contamination microbienne et le rancissement des aliments. Les huiles essentielles de curcuma ont montré une activité insecticide contre le termite blanc (*Odontotermes obesus*) Singh *et al.*, 2002 ; Fouad *et al.*, 2017 ; Roth, 1998). (Figure 25).



Figure 25 : Termite blanc (*Odontotermes obesus*).

III.4.2 Les usages médicaux des rhizomes et du feuillage de *Curcuma longa* :

III.4.2.1 Les usages médicaux des rhizomes :

Depuis de nombreuses années, le rhizome de cette plante est également utilisé comme médicament sûr et actif pour le traitement de diverses maladies chroniques, en particulier le diabète sucré (DM) (Karlowicz-Bodalska *et al.* ,2017). La substance active de *Curcuma longa* - la curcumine (diferuloylmethane), possède de multiples propriétés thérapeutiques. Ces dernières années, de nombreuses recherches approfondies (tests *in vitro* et *in vivo*) ainsi que des essais

cliniques ont révélé ses très précieuses activités biologiques (**Sharifi-Rad,2020**) liées à ses propriétés anti-inflammatoires, antioxydants et préventives du cancer, effet sur l'arthrose (arthrose) (**Zeng et al., 2021**), maladie de Parkinson (**Khazdair et al., 2021**). Au niveau moléculaire, il a été établi que la curcumine inhibe la prolifération cellulaire, la création de métastases et l'apoptose (**Rodríguez - Castaño et al., 2019**). Actuellement, une grande attention a été portée sur la curcumine en tant que bloqueur des TNF-s, qui sont les principaux médiateurs de la plupart des troubles liés à l'inflammation (**Bulboacă et al., 2019**).

III.4.2.2 Usages médicinaux des huiles essentielles de feuillage :

L'huile essentielle (HE) du feuillage de *Curcuma* possède une grande variété de propriétés pharmacologiques (**Sikha et al., 2015**) notamment anti-inflammatoire, anti-nociceptive et antipyrétique (**Songklanakarín et al., 2006**) , anticancéreuse , antiproliférative , hypocholestérolémiant , antidiabétique, anti hépatotoxique , anti diarrhéique, diurétique, antirhumatismal , hypotenseur, antibactérien (**Sakariah et al .,1999**) , antioxydant (**Chen et al .,2008**), antimicrobien (**Wilson et al .,2005**) antiviral, insecticide, antivenimeux, anti tyrosinase , entre autres (**Afzal et al .,2013; Angel et al ., 2014 ; Wiyasiriwardene et al ., 2017**).

III.5. Les utilisations du *Curcuma longa* :

III.5.1. Les usages du *Curcuma longa* en psychopharmacologie :

Le curcuma a plusieurs activités thérapeutiques et pharmacologiques. De récentes études in vitro et in vivo et des essais cliniques en Chine et aux États-Unis suggèrent que le composant non volatil : les curcuminoïdes pourraient être l'un des composés les plus prometteurs pour le développement de thérapies contre la maladie d'Alzheimer (**Hamaguchi et al., 2010**).

Alappat et Awad (2010) suggère que la curcumine (I) peut réguler le métabolisme des lipides, qui joue un rôle central dans le développement de l'obésité et de ses complications.

En 1007, **Dairam** et son groupe de chercheurs ont découvert que la curcumine (I) et la desméthoxycurcumine (II) peuvent réduire les déficits de mémoire induits par le plomb. Les études récentes qui suivent ont montré que c'est la plus importante des propriétés psychopharmacologiques et thérapeutiques du *Curcuma longa*.

III.5.2. Usage Médicinal et Activités Biologiques :

III.5.2.1. Anti-inflammatoire :

Curcuma longa présente de puissants effets anti-inflammatoires dus aux **huiles volatiles** et à la curcumine. La moitié de la curcumine, si elle est prise par voie orale, est efficace pour l'inflammation chronique, s'est avérée aussi utile que la cortisone ou la phénylbutazone dans les cas d'inflammation aiguë (**Singh et al., 2002 ; Fouad et Camara, 2017**). Le curcuma est crédité d'une puissance chaude et d'une action anti-inflammatoire avec des propriétés spécifiques d'inhibition de la lipoxigénase et de la COX-2. Les affections rhumatismales sont souvent liées à des modifications inflammatoires des articulations. Elles guérissent les facteurs étiologiques et les modifications pathologiques de l'inflammation (**Pandey, 2013**). Les curcuminoïdes ont une propriété qui inhibe la lipoxigénase (LOX), cyclooxygénase-2 (COX-2) phospholipases, leucotriènes, prostaglandines, thromboxane, oxyde nitrique élastase, hyaluronidase, collagénase, protéine chimiotactique des monocytes-1, protéine inductible par l'interféron, TNF et interleukine-12 (**Dhulipalla, 2016**).

Dans un modèle animal, chez des souris cas, l'application de curcumine à des doses comprises entre 50 et 200 mg/kg a inhibé l'œdème. La curcumine peut réduire de 50 % l'œdème lorsqu'elle est appliquée à une dose de 48 mg/kg de poids corporel. Il est aussi efficace que la cortisone et la phénylbutazone à des doses similaires.

Encore une fois, chez le rat, lorsqu'il est appliqué une dose plus faible de 20 à 80 mg/kg a diminué la patte inflammation. La curcumine à une dose de 40 mg/kg peut inhiber l'arthrite induite par le formaldéhyde chez le rat et n'a démontré aucune toxicité aiguë à des doses allant jusqu'à 2 g/kg/jour. Dans une étude animale, il montre une polyarthrite rhumatoïde induite par la paroi cellulaire streptococcique, une injection intrapéritonéale d'extrait de curcuma contenant 4 mg de curcuminoïdes totaux / kg / jour pendant quatre jours avant l'induction de l'arthrite, inhibe l'inflammation articulaire aiguë (75%) et chronique (68%) phases (**Akram, 2010 ; Velayudhan, 2012**).

III.5.2.2. Propriétés antidiabétiques :

L'étude expérimentale a prouvé que le curcuma a un rôle important dans le diabète. Il a été observé qu'un extrait hexanoïque (contenant de l'ar-turmérone), un extrait éthanolique (contenant de l'ar-turmérone, de la curcumine, desméthoxycurcumine et de la bisdéméthoxycurcumine) et un extrait

éthanolique du résidu de l'extraction à l'hexane (contenant de la curcumine, des méthoxycurcumine et de la bisdéméthoxycurcumine) sont dose-dépendants. Stimulation de la différenciation adipocytaire. Le résultat montre que l'extrait de curcuma à l'éthanol dont la composition en curcuminoïdes et sesquiterpénoïdes est plus fortement hypoglycémiant que soit les curcuminoïdes soit les sesquiterpénoïdes. Les effets du curcuma sur la glycémie et l'insuline plasmatiques postprandiales sont remarquables. Il a été observé que l'ingestion de 6 g de *Curcuma longa* n'avait pas d'effet significatif sur la réponse glycémique (Ammon et Wahl, 1991 ; Ravindran et al., 2007). L'insuline change considérablement plus haut 30 min et 60 min après l'OGTT (Le test de dépistage s'appelle un test oral de tolérance au glucose (OGTT), qui dure environ 2 heures. Il s'agit d'avoir un test sanguin le matin, lorsque vous n'avez rien mangé ou boire pendant 8 à 10 heures (bien que vous puissiez généralement boire de l'eau, mais vérifiez auprès de l'hôpital si vous n'êtes pas sûr. On vous donne alors une boisson au glucose) y compris *Curcuma longa*. On observe également que l'ASC de l'insuline augmente significativement après l'ingestion de *Curcuma longa* et d'OGTT (Dhulipalla, 2016) Le curcuma diminue également les complications du diabète sucré. Une étude expérimentale sur des rats albinos montre l'efficacité du curcuma sur la glycémie et la voie des polyols a révélé que le curcuma et la curcumine diminuaient le taux de sucre dans le sang dans le diabète induit par l'alloxane.

III.5.2.3. Propriétés antimicrobiennes :

La croissance d'une variété de bactéries, de parasites et de champignons pathogènes est réduite grâce à l'extrait de curcuma et à l'huile essentielle de *Curcuma longa*. Une étude sur des poussins infectés par le caecal parasite, a prouvé que les régimes complétés par du curcuma aident à réduire les scores de lésions de l'intestin grêle et à améliorer la prise de poids. Une autre étude montre que l'huile de curcuma appliquée par voie topique inhibait les dermatophytes et les champignons pathogènes lorsque les cobayes étaient infectés par des dermatophytes, des moisissures pathogènes ou des levures. Les lésions ont disparu sept jours après l'application du curcuma chez les cobayes infectés par les dermatophytes et les champignons. Il a été observé lors de l'utilisation de la curcumine une activité modérée contre *Plasmodium falciparum* et *Leishmania* organismes majeurs (Velayudhan, 2012 ; Deepika et Shiv-Kumar, 2013).

III.5.2.4. Effets gastro-intestinaux :

Les constituants du *Curcuma longa* à savoir le curcumate de sodium et le p – tolyméthylcarbinol ont plusieurs effets protecteurs sur le tractus gastro-intestinal. Le curcumate de sodium présente les caractéristiques d'inhibition des spasmes intestinaux et du p- tolyméthylcarbinol, augmente la

sécrétion de gastrine, de sécrétine, de bicarbonate et d'enzymes pancréatiques (Singh et al., 2002 ; Fouad et Da Camara, 2017). Le curcuma a également été vu qu'il peut inhiber la formation d'ulcères causés par le stress, l'alcool, augmentant considérablement le mucus de la paroi gastrique chez ces rats (Chandra et Nair, 1998).

III.5.2.5. Effets cardiovasculaires :

En raison de la propriété antioxydant du curcuma qui génère un effet protecteur sur le système cardiovasculaire, il abaisse les niveaux de cholestérol et de triglycérides, diminue la sensibilité des lipoprotéines de basse densité (LDL) à la peroxydation lipidique et inhibe l'agrégation plaquettaire. Les extraits de curcuma ont un effet potentiel sur le taux de cholestérol, peut-être en raison d'une diminution de l'absorption du cholestérol dans les intestins et d'une conversion accrue du cholestérol aux acides biliaires dans le foie. Il a également été observé que *Curcuma longa* inhibe l'agrégation plaquettaire via la potentialisation de la synthèse de prostacycline et l'inhibition de la synthèse de thromboxane (Akram, 2010 ; Velayudhan, 2013).

III.5.2.6. Effet anticancer :

De nombreuses études animales impliquant des rats et des souris, ainsi que des études in vitro utilisant des lignées cellulaires humaines ont été réalisées sur le curcuma qui influence la carcinogénèse. Plusieurs études in vitro ont rapporté que la curcumine est capable de contrôler la carcinogénèse à trois stades : l'angiogénèse, la promotion tumorale et la croissance tumorale. La curcumine exerce une inhibition de la prolifération cellulaire et de la croissance tumorale, notée par deux études sur le cancer du côlon et de la prostate. L'activité de plusieurs mutagènes et cancérigènes courants est également supprimée par le curcuma et la curcumine. Le curcuma et la curcumine ont des effets anticancérigènes qui ont été liés à des effets **antioxydants directs** et **de piégeage des radicaux libres**, ainsi qu'à leur capacité à augmenter indirectement les niveaux de glutathion, contribuant ainsi à la détoxification hépatique des mutagènes et des cancérigènes, et inhibant la formation de nitrosamine. Montré pour inhiber l'effet d'induction mutagène des rayons UV (Jan, 2015 ; Velayudhan, 2012).

Il a été observé chez des souris Swiss que le curcuma alimentaire pourrait être bien utilisé comme agent chimio préventif dans les tumeurs de l'estomac induites par le benzo-(alpha)-pyrène. Il est rapporté que pour produire un soulagement symptomatique notable chez les patients présentant des lésions cancéreuses externes lorsqu'un extrait éthanolique de curcuma, ainsi qu'une pommade

contenant de la curcumine est appliquée. Le curcuma démontre qu'il neutralise les radicaux libres cancérigènes grâce à sa propriété antioxydant. L'acétyle curcumine s'est avérée inactive. De nombreux rapports ont montré que le curcuma inhibait l'expression induite par le facteur de nécrose tumorale (TNF)- α de la molécule d'adhésion intercellulaire-1 (ICAM-1), de la molécule d'adhésion cellulaire vasculaire-1 (VCAM-1) et de la sélectine E par l'endothélium de la veine ombilicale humaine. Les cellules agissent également comme un agent anti tumoral pour être utiles dans l'induction de l'apoptose ou de la mort cellulaire programmée (PCD) dans les cellules de leucémie myéloïde humaine (HL-60). Il ressort du test que les curcumines I, II et III du curcuma ont des propriétés de cytotoxicité, d'antioxydant et d'anti-inflammatoire. Des recherches approfondies révèlent que ces composés possèdent une forte propriété inhérente contre la leucémie et les lignées cellulaires du côlon, du système nerveux central (SNC), du mélanome, du rein et du cancer du sein (**Duggi Shrishail Asian, Revue 2013**).

III.5.2.7. Effets antioxydants :

Les extraits hydrosolubles et liposolubles de curcuma et de son composant de curcumine possèdent une forte activité antioxydant, lorsqu'elle est comparable aux vitamines C et E. Le prétraitement à la curcumine a un résultat efficace qui diminue les changements induits par l'ischémie dans le cœur. Une étude in vitro a été menée en utilisant des cellules endothéliales aortiques bovines pour mesurer l'effet de la curcumine sur l'héméoxigénase-1 endothéliale, une protéine de stress inductible. Cette étude a également amélioré la résistance cellulaire aux dommages oxydatifs, lorsque la curcumine est incubée pendant 18 h. Il peut protéger les lipides ou l'hémoglobine de l'oxydation. La curcumine a des propriétés antioxydants, de sorte qu'elle peut inhiber de manière significative la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) telles que H₂O₂, les anions superoxydes et la génération de radicaux nitrites par les macrophages activés. Ses dérivés peuvent prévenir et traiter la lithiase biliaire, car les dérivés (bis -desméthoxycurcumine et desméthoxycurcumine) ont également des activités antioxydants (**Velayudhan, 2012, janvier 2015**).

III.6. Autres utilisations du *Curcuma long* :

III.6.1. Utilisation alimentaire et nutritionnelle :

Dans l'industrie agro-alimentaire, l'intérêt du *Curcuma longa* porte sur ses propriétés aromatiques, son colorant alimentaire jaune E100, et sa conservation. En 1980, la Direction de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes en France a autorisé la coloration artificielle à la curcumine des articles suivants : « moutardes, beurre, fromages, laits aromatisés, huiles,

matières grasses (hors margarines), bouillons et soupes, condiments, sauces, confitures, gelées, confiseries, glaces, pâtes de fruits, caviar, crevettes, sirops, croûtes de fromage... (**Delaveau , 1987**) Les rhizomes broyés de *Curcuma longa* , donnent une poudre jaune orangé foncé couramment utilisée comme épice dans curry et autres spécialités d'Asie du Sud et de l'Est, En Asie sa consommation moyenne est d'environ 1,5 g par jour et par personne ce qui représente une cuillerée à deux ajoutée dans la cuisson des plats et desserts traditionnels. Son principe actif est la Curcumine et il a un effet distinct saveur piquante terreuse, légèrement amère et chaude et odeur de moutarde (**Habbachi et al., 2013**)

III.6.2. Usage cosmétique :

Le curcuma est peut-être le premier produit cosmétique connu car il est traditionnellement appliqué sur la peau par les femmes (**Ravindran et al., 2007**). On pense qu'il réduit la croissance des poils du visage, réduit l'acné et améliore le teint (**Shaffrathul et al., 2007**). De nombreuses femmes du Tamil Nadu appliquent encore quotidiennement du curcuma sur leur visage avant de prendre un bain. (La couleur jaune a été utilisée dans les produits de soins de la peau.

La curcumine tétrahydro est une forme de curcumine hydrogénée blanc cassé qui est utilisée par voie topique comme antioxydant cutané. Elle peut empêcher le rancissement des lipides lorsqu'elle est ajoutée aux hydratants (**Draelos, 2010**). Les curcuminoïdes ont un potentiel dans les cosmétiques en tant qu'agents antioxydants, anti-inflammatoires et éclaircissants pour la peau. Les curcuminoïdes in vitro inhibent la collagénase, l'élastase et la hyaluronidase (**Koo et al., 2016**). Il a été rapporté que le gel de curcumine améliore l'apparence des affections cutanées photo-endommagées telles que les changements pigmentaires, les élastoses solaires, la poikiloderma actinique, les lentigines solaires et la kératose actinique lorsqu'il est appliqué pendant une période prolongée telle que six mois. Il peut favoriser l'apoptose des cellules présentant des dommages à l'ADN (**Heng, 2010**). Il est en cours d'évaluation en tant qu'agent de coloration capillaire respectueux de l'environnement (**Boga et al., 2013**). Les huiles essentielles peuvent avoir un potentiel dans l'industrie du parfum, des cosmétiques et du savon (**Sasikumar, 2005**).

III.7. La composition chimique du *Curcuma longa* :

Parmi les 110 espèces du genre *Curcuma longa*, seules une vingtaine d'espèces ont été étudiées phytochimiquement (**Nahar et Sarker, 2007**). *Curcuma longa* est l'espèce de *Curcuma* la plus étudiée chimiquement. À ce jour, au moins 235 composés, principalement des composés phénoliques et des terpénoïdes ont été identifiés, dont des diarylheptanoïdes (communément

appelés curcuminoïdes), des diarylheptanoïdes, des monoterpènes, des sesquiterpènes, des diterpènes, des triterpénoïdes, des alcaloïdes et des stérols, etc. (Sultana *et al.*, 2021).

III.7.1. Des composés phénoliques :

- **Diarylheptanoïdes et Diarylpentanoïdes :**

Les curcuminoïdes appartiennent au groupe des diarylheptanoïdes (ou diphenylheptanoïdes) (Shiyou *et al.*, 2011), La curcumine (diferuloylmethane) est le pigment jaune que l'on retrouve dans les rhizomes (3-4 %) de *Curcuma longa* (Henrotin *et al.*, 2010 ; Shen et Ji 2012).

Les extraits de curcumine sont composés de curcumine I (94%), curcumine II (desméthoxycurcumine) (6%) et curcumine III (bisdéméthoxycurcumine) (0,3%), 5'-méthoxycurcumine et dihydrocurcumine (Kurien *et al.*, 2007). Les trois premiers sont les principaux pigments de *Curcuma longa* (Khurana et Ho, 1988). Tous ces curcuminoïdes (Figure 16) sont les principaux composés actifs du curcuma et connus pour avoir des activités antioxydants (Toda *et al.*, 1985), sont les principaux phytochimiques aux propriétés anticancéreuses (Skalko, 2011), les curcuminoïdes appartiennent à la famille des polyphénols hydrophobes (Shiyou *et al.*, 2011) La poudre de curcuma contient 5% de curcumine qui est le principal composé phytochimiques biologiquement actif plus que la desméthoxycurcumine et la bisdéméthoxycurcumine (Hongyou *et al.*, 2011). (Figure 26)

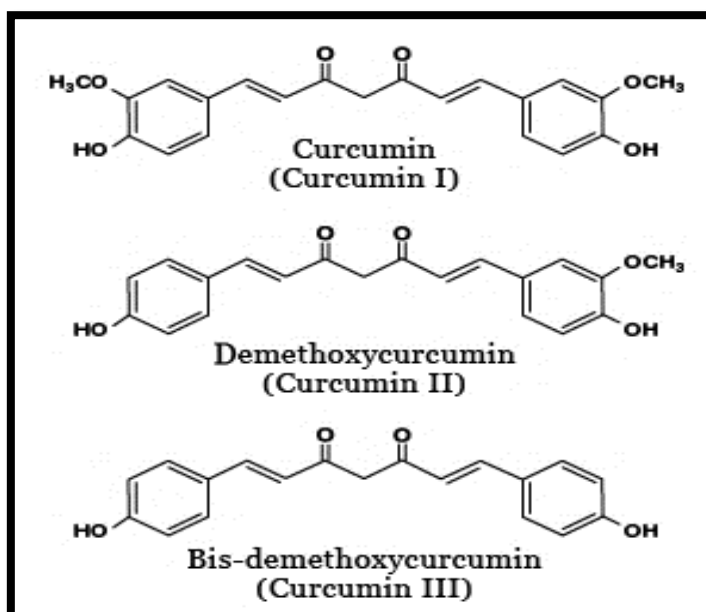


Figure 26 : Structure chimique des principaux curcuminoïdes

Le curcuma a également attiré une attention considérable au fil des ans en raison de son utilisation dans l'industrie alimentaire comme agent colorant (**Aggarwal *et al.*, 2003**). Contrairement aux colorants synthétiques comme la tartrazine (**Tableau 4**) et la carmoisine qui peuvent altérer la fonction hépatique et provoquer un stress oxydatif, de nombreux pigments naturels sont utilisés non seulement comme colorant alimentaire, mais aussi comme substance favorisant la santé et le bien-être en prévenant voire en guérissant les maladies (**Amin *et al.*, 2010**).

Tableau 4 : Formule chimique de quelques colorants alimentaires synthétiques

FD&C Designation	Name	Color	Molecular Formula
Blue No. 1	Brilliant Blue FCF	Blue	$C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$
Blue No. 2	Indigotine	Indigo	$C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$
Green No. 3	Fast Green FCF	Turquoise	$C_{37}H_{34}N_2Na_2O_{10}S_3$
Red No. 3	Erythrosine	Pink	$C_{20}H_{14}Na_2O_5$
Red No. 40	Allura Red AC	Red	$C_{18}H_{14}N_2Na_2O_8S_2$
Yellow No. 5	Tartrazine	Yellow	$C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$
Yellow No. 6	Sunset Yellow FCF	Orange	$C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$

III.7.2. Huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des liquides concentrés de mélanges complexes de composés volatils huileux hydrophobes aromatiques et peuvent être extraites de différentes parties de plantes (**Falleh *et al.*, 2020, Stéphane et Jules, 2020**). Structurellement, les constituants chimiques des HE peuvent être classés en quatre groupes : terpènes, terpénoïdes, phénylpropanoïdes et autres constituants (**Hyldgaard *et al.*, 2012, Pandey *et al.*, 2017**).

III.7.2.1. Phenylpropenes et autres composés phénoliques :

Les huiles essentielles sont des liquides concentrés de mélanges complexes de composés volatils huileux hydrophobes aromatiques et peuvent être extraites de différentes parties de plantes (**Falleh *et al.*, 2020, Stéphane et Jules, 2020**). Structurellement, les constituants chimiques des HE peuvent être classés en quatre groupes : terpènes, terpénoïdes, phénylpropanoïdes et autres constituants (**Hyldgaard *et al.*, 2012, Pandey *et al.*, 2017**).

III.7.2.2. Terpènes et terpénoïdes :

Les terpènes sont des composés chimiques présents dans les plantes et certains animaux. Ils sont responsables des arômes, des saveurs et même de la couleur. À ce jour, au moins 185 composés de terpènes ont été isolés ou détectés à partir de feuilles, de fleurs, de racines et de rhizomes de *Curcuma longa*. La formule générale des terpènes est $(C_5H_8)_n$, constituant majeur des huiles essentielles (Hyldgaard *et al.*, 2012). Les terpènes sont de simples hydrocarbures tandis que les terpénoïdes sont une classe modifiée de terpènes avec différents groupes fonctionnels : il s'agit d'un autre type de terpènes contenant des molécules d'oxygène qui sont construites via des modifications biochimiques (suppression ou ajout de groupes méthyle) (Pandey *et al.*, 2017).

Les terpénoïdes peuvent être divisés en alcools, aldéhydes, esters, éthers, époxydes, cétones et phénols (Hyldgaard *et al.*, 2012). Ces composés bioactifs confèrent plusieurs activités biologiques telles que l'anticancéreux (Potočnjak *et al.*, 2018), antiallergique (Kobayashi *et al.*, 2016), antibactérien (Guimarães *et al.*, 2019) et antioxydant (Wang *et al.*, 2019).

Les terpénoïdes sont divisés en quatre groupes principaux en fonction de leurs unités de carbone. *Curcuma longa* contient 68 monoterpènes, 109 sesquiterpènes, cinq diterpènes et trois triterpénoïdes (Shiyu *et al.*, 2011).

III.7.2.2.1. Monoterpènes :

Les huiles volatiles des feuilles et des fleurs de *Curcuma longa* étaient généralement dominées par les monoterpènes, en particulier (Figure 18) ρ -cymène (31), β -phellandrène (β -félandrène) (35), terpinolène (terpenoline) (40), ρ -cymen-8-ol (55), cinéole (77) et myrcène (82) tandis que la majeure partie de l'huile des racines et des rhizomes contenait des sesquiterpènes (Leela *et al.*, 2002 ; Chempakam et Parthasarathy, 2008). Au total, 68 monoterpènes ont été identifiés à partir de divers tissus de *Curcuma longa* (Nigam, 1991 ; Leela *et al.*, 2002) (Figure 27)

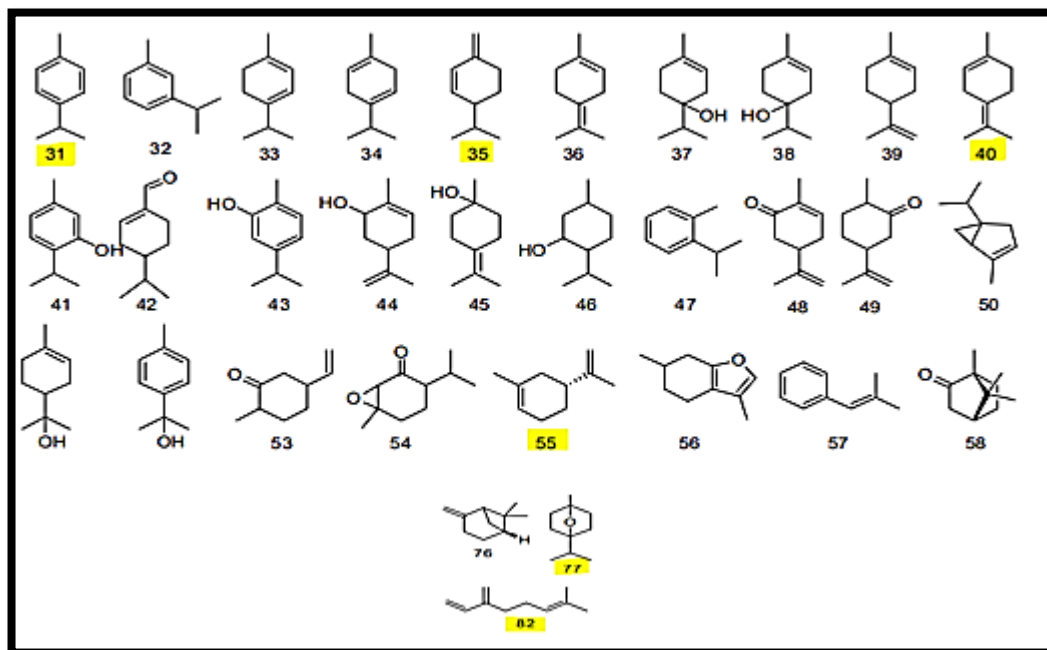


Figure 27 : Structure chimique des monoterpènes.

III.7.2.2.2. Sesquiterpènes :

Les rhizomes de curcuma séchés produisent généralement 1,5 à 5% d'huiles essentielles qui sont dominées par les sesquiterpènes et sont responsables de son goût et de son odeur aromatique, ar-turmérone (99), α -turmérone (100) et -turmérone (101) sont les principaux sesquiterpènes cétoniques des huiles essentielles et ces composés peuvent représenter au moins 40 % des huiles essentielles de rhizomes de curcuma (**Golding *et al.*,1982**). Les sesquiterpènes ont des structures très diverses (C15) : carbures, alcools et cétones dont ils sont les plus courants (**Bruneton, 2008**).

A ce jour, 109 composés de sesquiterpènes ont été identifiés, appartenant à différents types (**Jayaprakasha *et al.*,200 2 ; Fang et al., 2007**). (**Figure 28**).

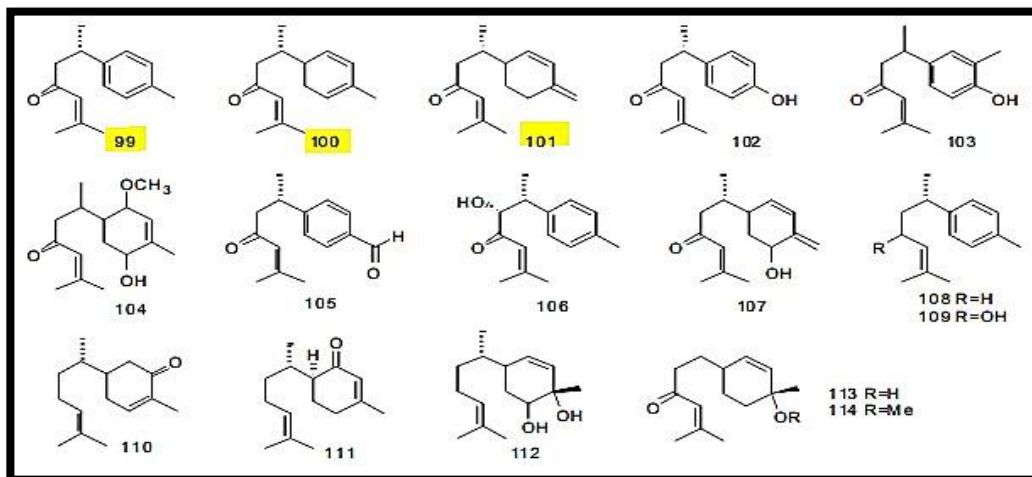


Figure 28 : Structure chimique du sesquiterpène cétonique majeur.

III.7.2.2.3. Autres Terpènes :

Quatre diterpènes (204-207) et trois triterpénoïdes (208) (Figure 30) ont été également identifiés dans le curcuma (Chowdhury *et al.*,2008 ; Ma and Gang,2006) (Figure 29)

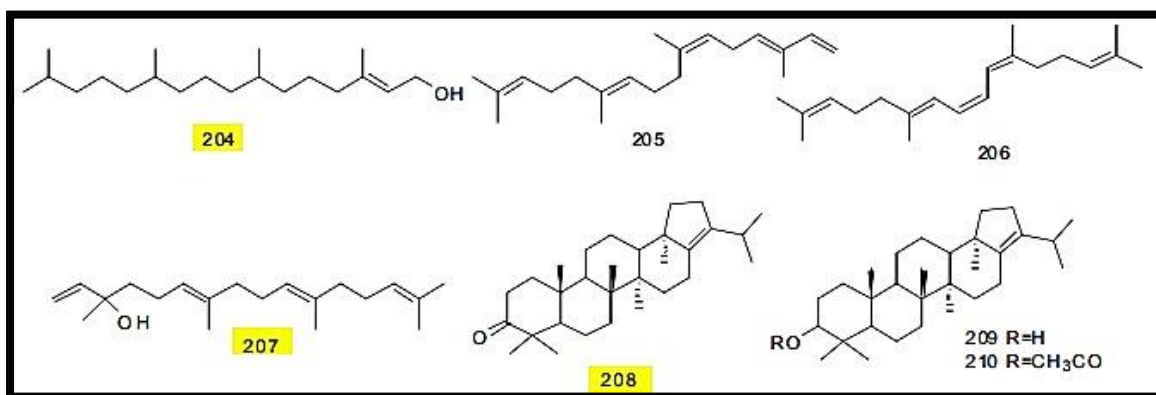


Figure 29 : Structure chimique des diterpènes et triterpènes.

III.8. Stéroïdes :

Quatre stéroïdes ont été identifiés à partir de *Curcuma longa* dont deux (Chowdhury *et al.*, 2008 ; Chen *et al.*, 2010). Mais il est douteux que le composé 213 soit présent dans *Curcuma longa* en particulier, il existe encore des études à ce sujet. (Figure 30), (Tableau 5).

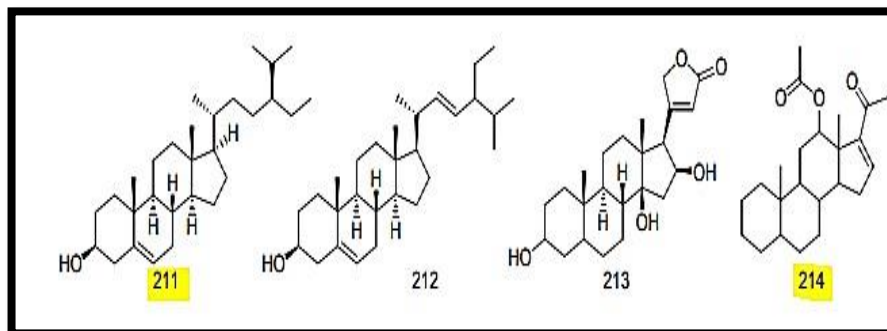


Figure 30 : Structure chimique des stéroïdes de *Curcuma longa*

Tableau 5 : Stéroïdes du *curcuma longa*.

No.	Compound Name	Compound Type
211	β -sitosterol	Steroid
212	stigmasterol	Steroid
213	gitoxigenin	Steroid
214	20-oxopregn-16-en-12-yl acetate	Steroid

III.9. Acides gras :

Les rhizomes contenaient de 8,76 à 10,92 % d'huile. Parmi les six acides gras identifiés, l'acide oléique contribuait en proportion la plus élevée, suivi par l'acide mystique puis l'acide palmitique puis l'acide linoléique, linoléinique et eicosanoïde (Paul et al., 2011). (Tableau 6)

Tableau 6 : Acides gras contenus dans *Curcuma longa*

Acides gras	Teneur (%)
Acide oléique	56.24 - 58.88
Acide myristique	16.25 - 17.71
Acide palmitique	5.59 - 6.00
Acide linoléique	10.90 - 12.82
Acide linoléinique	4.15 - 5.46
Acide eicosanoïde	2,72 - 3,25

La figure 31 représente cinq longues chaînes d'acides gras identifiées dans *Curcuma longa*.

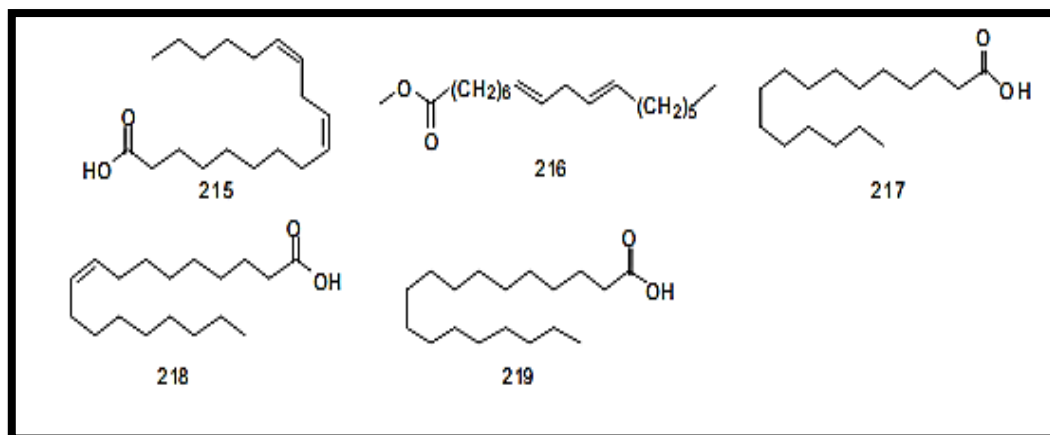


Figure 31 : Structure chimique des acides gras de *Curcuma longa*.

III.10. Autre composé chimique :

Il existe d'autres composés dans le curcuma : cuivre/zinc, campestérol, stigmasterol, bêta-sitostérol, cholestérol (Figure 32) et des éléments métalliques potassium, sodium, magnésium, calcium, manganèse, fer (Figure 33).

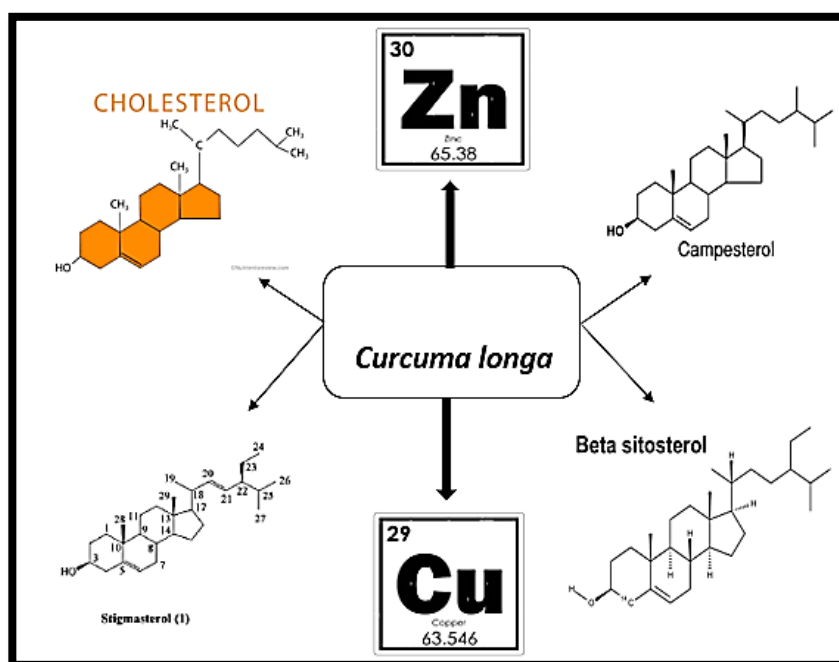


Figure 32 : Composés chimiques trouvés au curcuma.

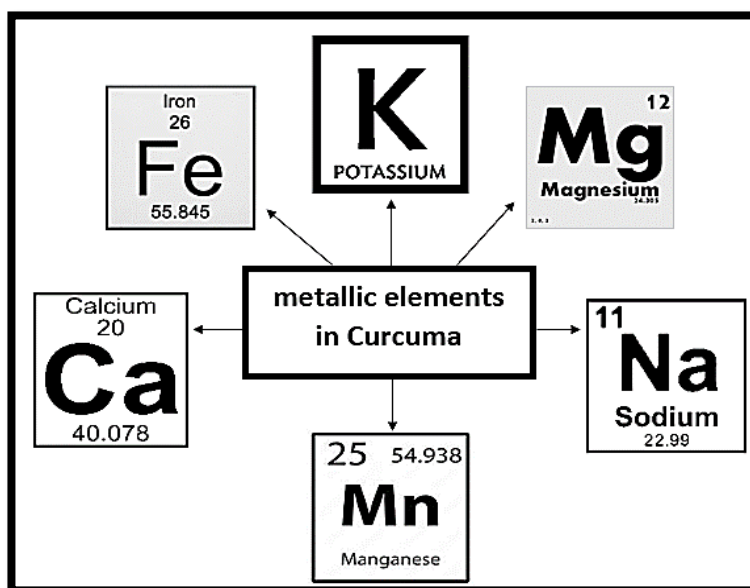


Figure 33 : Eléments métalliques dans le curcuma.

III.11. Valeur nutritionnelle et énergétique du *Curcuma longa* :

La valeur nutritionnelle et énergétique calculée pour 100g de poudre de rhizome de *Curcuma longa*, est de 291 Kcal qui représente en moyenne 9,38 % des besoins quotidiens d'un adulte. (Tableau 7).

Tableau 7 : Composition biochimique et nutritionnelle de 100 g de *Curcuma longa* (Shahid, 2016).

Energie	291 Kcal	Minéraux(mg)		Vitamines	
Eau	12,9 g	Calcium	168	B1	0,058
Protéine	9,86 g	Cuivre	1,3	B2	0,15
Glucides	44,4 g	Fer	55	B3	1,35
Lipide	3,25 g	Sodium	27	B5	0,54
Sucre	3,21 g	Zinc	4,5	B6	0,11
Fibres	22,7 g	Manganèse	19,8	B9	20
Acide gras		Phosphore	299	C	0,7
OMEGA 9	3,12	Potassium	2080	E	4,43
OMEGA 3	0,48	Magnésium	208	K	13,4
OMEGA 6	1,69	Curcumine	3888		

Le curcuma longa est remarquablement riche en vitamines et minéraux, comme le fer et le manganèse. C'est donc une épice alcalinisant et donc efficace contre l'acidose tissulaire, souvent à l'origine d'états inflammatoires (Shahid, 2016).

III.12. Fraction volatile et la fraction non volatile

La poudre de *curcuma longa* issue du rhizome séché est constituée chimiquement de deux fractions, une fraction volatile et une autre non volatile. Parmi les composés retrouvés dans *Curcuma longa* on trouve des huiles essentielles, des minéraux, des composés polyphénoliques... (Sultana et al., 2021) principaux constituants de ces fractions et leurs principes actifs sont : les curcuminoïdes et les essentielles huiles. (Figure 1) :

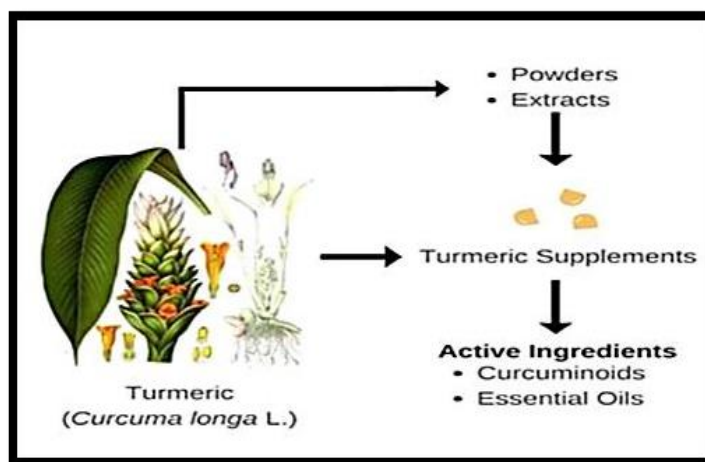


Figure 34 : Composés actifs des extraits et de la poudre de *Curcuma longa*. (Knorr et al., 2021).

III.12.1. Oléorésine :

L'oléorésine de curcuma est un extrait préparé à partir de curcuma à l'aide de solvants organiques tels que l'acétone, l'éthanol, le chlorure de méthylène. Cette extraction du rhizome donne 6 à 10 % d'oléorésine. C'est un mélange de curcumine et d'autres substances actives de typerésine. Elle est de couleur rouge orangé et se compose d'une couche huileuse supérieure et d'une couche cristalline inférieure (Jansen, 2005). Elle est riche en molécules phénoliques (50 à 60%) dont les principes pigmentaires curcuminoïdes (3-6%) (Jayaprakasha, 2006). Elle est également largement utilisée pour aromatiser ou colorer. Il existe deux fractions majeures dans l'oléorésine de *Curcuma longa* : les curcuminoïdes et l'huile essentielle de curcuma (Figure 35).

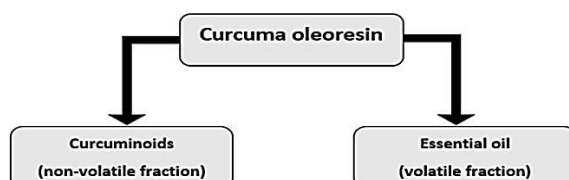


Figure 35 : Les deux fractions majoritaires dans l'oléorésine de Curcuma.

III.12.1.1. La fraction non volatile :

La partie non volatile de la curcumine est riche en vitamines et en minéraux comme le fer et le manganèse, c'est donc une épice alcalinisant efficace contre l'acidose tissulaire souvent responsable d'états inflammatoires (**Shahid, 2016**).

III.12.1.2. La fraction volatile :

C'est une huile essentielle encore relativement peu utilisée, probablement en raison d'une composition biochimique inhabituelle. La fraction volatile représente environ 6 à 7 % de l'ensemble. Il est obtenu par distillation à la vapeur, de couleur jaune clair et parfois légèrement fluorescent avec une odeur rappelant les rhizomes. Les rhizomes séchés donnent 5 à 6 %, tandis que les rhizomes frais donnent 0,24 % d'huile essentielle (**Sharma, 2007**).

Les concentrations varient selon les régions d'origine des plantes et le moment de la récolte en relation avec le cycle végétal (**Thaikert et Paisooksantivatana, 2009**).

CHAPITRE IV :

**METHODE DE
PREPARATION DES
EXTRAITS VOLATILES
ET NON VOLATILES**

IV.1. Méthode de préparation des extraits volatils (huiles essentielles) :

IV.1.1. Extraction par entrainement à la vapeur :

C'est l'une des façons formelles d'obtenir une HE (Pharmacopée européenne, 2007). Dans cette technique d'extraction (**figure 36**), le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans être préalablement macéré. Les vapeurs condensées saturées en substances volatiles sont décantées dans l'essencier avant d'être séparées en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (OP) (HE). Comme il n'y a pas de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, on évite certains processus d'hydrolyse ou de dégradation qui peuvent altérer la qualité de l'huile. De plus, l'HE obtenue a un parfum plus délicat, et la distillation régulière et plus rapide permet d'obtenir des notes de tête riches en esters (**Raaman, 2006**). Les fractions "de tête", qui sont très volatiles en raison des molécules légères, apparaissent en premier. Dans la plupart des cas, une demi-heure suffit pour capturer 95 % des molécules volatiles, ce qui est suffisant pour les demandes industrielles et les demandes de parfums, comme la lavande. En aromathérapie, l'opération doit être prolongée aussi longtemps que nécessaire pour récupérer l'intégralité des composants aromatiques volatils (**Kaloustian et al., 2012 ; Masango. 2005; Gavahian et al., 2018**).

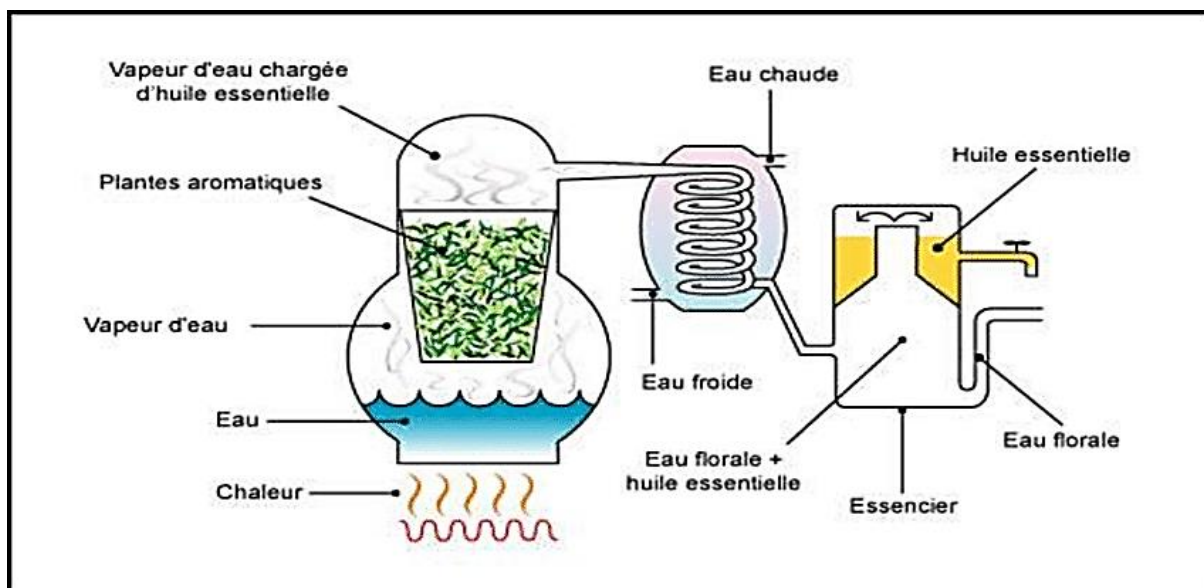


Figure 36 : Extraction par entrainement à la vapeur (**Goudjil, 2016**).

IV.1.2. Extraction par hydrodistillation :

Elle consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau et à porter le tout à ébullition (**figure 37**). La pression atmosphérique est utilisée dans la plupart des cas. Les fluides odorants acquis lors de la décantation peuvent être utilisés dans la distillation avec ou sans cohobation. Ce procédé présente des inconvénients, principalement dus à l'action de la vapeur ou de l'eau à température d'ébullition ; certains organes végétaux, notamment les fleurs, sont trop délicats pour supporter les traitements de distillation à la vapeur et d'hydrodistillation (HD) (**Farhat, 2010**). Cependant, lorsque les éléments de l'HE entrent en contact direct avec l'eau, des réactions chimiques se produisent, entraînant des changements dans la composition finale de l'extrait. La production et le contenu de l'HE sont influencés de manière significative par les conditions opératoires, notamment la durée de la distillation. C'est pourquoi, afin de créer des HEs et des extraits non-volatils de manière répétable, des modèles mathématiques sont aujourd'hui développés pour optimiser ces conditions (**Raaman, 2006 ; Walton et al. 1999**).

Les éléments des HEs étant labiles, la composition du produit obtenu par hydrodistillation est fréquemment différente de celle du mélange présent dans les organes sécréteurs de la plante (**Lucchesi, 2005 ; Boukhatem, 2018**). L'hydrodistillation présente certains inconvénients. La destruction de certaines plantes et la dégradation de certains composés aromatiques sont provoquées par un chauffage fort et prolongé. Les esters peuvent être hydrolysés par l'eau, l'acidité ou la température, mais ils peuvent aussi subir des réarrangements, des isomérisations, des racémisations et/ou des oxydations (**Bruneton, 1999**).

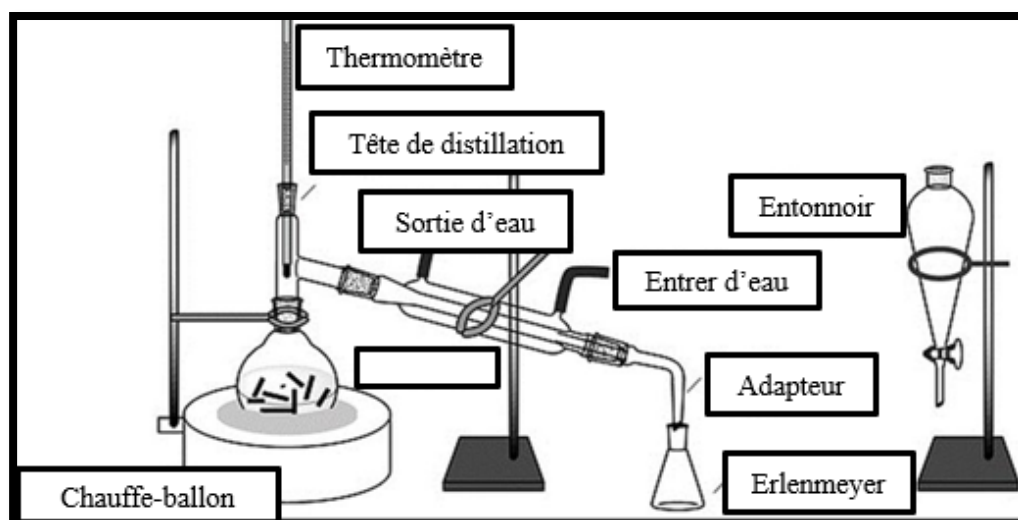


Figure 37 : Extraction par hydrodistillation (**Goudjil, 2016**).

IV.1.3. Extraction à froid :

La méthode est utilisée pour extraire les essences volatiles du péricarpe des agrumes en les déchiquetant mécaniquement. Il s'agit de briser ou de dilacérer les parois des sacs oléifères logés dans le mésocarpe, situé juste sous la peau du fruit, l'épicarpe, afin de récolter le contenu qui n'a pas été altéré. Les essences d'agrumes ont longtemps été extraites manuellement. La modernisation et l'industrialisation de la technique d'expression à froid n'ont eu lieu qu'au début du XXe siècle, afin de réduire les coûts de production et d'augmenter les rendements pour satisfaire une demande croissante. Les technologies récentes, telles que la "Food machinery corporation - in -line" (FMC), permettent d'extraire le jus de fruit et l'essence de matière pratiquement simultanée sans entrer en contact l'un avec l'autre. C'est pourquoi l'expression à froid est l'approche privilégiée pour l'extraction de ces essences, d'autant plus que la distillation n'est plus une option viable.

En effet, la distillation donne des huiles aromatiques de moindre qualité, en raison de la présence d'aldéhydes, de substances chimiques sensibles à l'oxydation et à la chaleur (Belsito et al., 2007 ; Ferhat et al., 2016).

IV.1.4. Extraction par solvants :

Les métabolites secondaires des végétaux peuvent également être obtenus par l'extraction liquide-liquide avec des solvants organiques (éthanol, pentane, hexane, acétate d'éthyle, dichlorométhane, oxyde de diéthyle, etc...). Il faut noter que l'emploi de solvants chlorés est en très forte régression au profit souvent de l'acétate d'éthyle qui présente des propriétés d'extraction assez voisines. La mise en œuvre de cette technique est indispensable lorsque les composés ne sont pas extractibles par entraînement à la vapeur en raison de leur faible volatilité ou que le rendement de celui-ci est trop faible. L'extraction permet non-seulement la récupération des composés présents dans l'huile essentielle mais également celle de composés « lourds » qui présentent un intérêt spécifique en fonction de leur structure moléculaire (flavonoïdes, triterpènes etc.). L'industrie cosmétique et agro-alimentaire différencie les extraits selon le type de solvant utilisée, le type de matière première, etc. (Bruneton, 1993).

- **Concrète** : produits obtenus à partir d'une matière première fraîche d'origine végétale, par extraction au moyen d'un solvant non aqueux. Dans la pratique courante, le vocabulaire utilise les termes d'essence concrète ou, plus simplement encore d'essence.
- **Résinoïde** : obtenu à partir d'une matière première sèche d'origine naturelle,

par extraction à l'aide d'un solvant non-aqueux. Il faut noter que le terme de matière première d'origine naturelle est ici pris dans le sens : « ...d'origine végétale, animale ou microbiologique, y compris les produits dérivés de ces matières premières obtenus par une voie enzymatique » selon la norme AFNOR.

- Pommade florale : corps gras parfumé obtenu à partir de fleurs soit par « enfleurage à froid » où des constituants odorants des fleurs diffusent dans le corps gras, soit par « Enfleurage à chaud » où il y a immersion des fleurs dans le corps gras fondu.
- Absolue : obtenu à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un résinoïde par extraction à l'éthanol à température ambiante. La solution éthanolique obtenue est généralement refroidie et filtrée dans le but de supprimer les cires ; l'éthanol est ensuite éliminé par distillation.

IV.1.5. Extraction par les fluides supercritiques :

L'extraction par les fluides supercritiques s'est considérablement développée ces dernières années et a fait l'objet de très nombreuses publications scientifiques. **Reverchon et De Marco (2006)** ont publié une revue sur l'utilisation de cette technique pour l'extraction et le fractionnement des matières naturelles végétales. Le principal avantage de cette technique réside dans la possibilité de travailler à basse température. Cette méthode d'extraction s'est rapidement imposée pour la récupération des composés thermosensibles à haute valeur ajoutée. Il s'agit par exemple de l'extraction des gingérols à partir des rhizomes du gingembre, de la caféine de *Theobroma cacao* et *Paullinia cupana* (Guaranà), de l'hyperforine (antidépresseur) de *Hypericum perforatum*.

Les fluides supercritiques ont des propriétés différentes de celles d'un gaz ou d'un liquide, comprises entre les deux. Ils ont ainsi une viscosité proche de celle d'un gaz, une densité proche de celle du liquide avec un pouvoir de diffusivité très élevé par rapport au fluide liquide, ce qui facilite leur pénétration dans des milieux poreux.

Le point critique est atteint lorsque le changement d'état liquide-gaz n'est plus observé. Le fluide est alors dans un état supercritique intermédiaire entre l'état liquide et l'état gazeux. Les conditions d'obtention du CO₂ supercritique sont assez faciles à atteindre (303°K, 73,8 bars)

alors que pour l'eau puisqu'il faut atteindre une température de 374,2°C et surtout une pression de

218 bars. Pour ces raisons, l'utilisation du CO₂ comme fluide supercritique s'est imposée. La température opératoire permet ainsi d'extraire des constituants sans les dénaturer et en conservant les qualités biologiques et/ou organoleptiques. De plus, l'extrait sera exempt de tout solvant à pression et température ambiante. Le CO₂ présente aussi les avantages d'être inerte, inodore, non-toxique, non inflammable.

Certains extraits obtenus par extraction au CO₂ supercritique présentent un arôme plus intense que ceux obtenus par hydrodistillation. Cependant, les conditions expérimentales (pression, température) doivent être parfaitement maîtrisées pour une extraction optimale ou pour extraire sélectivement certains composés. Cette technique nécessite un investissement important et ne concerne pour l'instant que des produits spécifiques à très haute valeur ajoutée

IV.1.6. Extraction par la technique de « l'espace de tête » :

Cette technique d'extraction est surtout un procédé d'analyse des constituants très volatiles. Le végétal, enfermé dans un pilulier étanche, est placé dans une étuve thermostatée chauffée à une température prédéterminée. Un équilibre thermodynamique entre l'échantillon solide et la couche de vapeur s'établit dans le pilulier. La phase gazeuse est ensuite transférée dans une colonne CPG pour que les constituants soient individualisés. Cette technique permet d'étudier uniquement les composés volatils tandis que les substances non volatiles restent dans le pilulier. Bien que cette technique soit rapide et facile à mettre en œuvre, l'extraction des composés n'est pas toujours totale ou reproductible.

Diverses variantes de cette technique ont été mises en place depuis près de 25 ans consistant en des modifications du type des fibres. Celles-ci sont majoritairement constituées de polymères : un liquide [polydiméthylsiloxane (PDMS)] pour les constituants les moins polaires et deux solides [divinylbenzène (DVB) et carboxène (CAR)] pour les plus polaires, permettant une plus grande capacité d'extraction.

IV.1.7. Extraction assistée par micro-ondes :

En 1986, **Ganzler *et al.***, furent les premiers à présenter une technique d'extraction par solvant assistée par micro-ondes en vue d'une analyse chromatographique. Cette technique permettait de réduire les temps d'extraction et donc les dépenses en énergie par rapport à une méthode conventionnelle. En 1990, **Paré *et al.***, ont déposé un premier brevet européen, sur « l'extraction de produits naturels assistée par micro-ondes ». Ils proposaient d'irradier le matériel végétal en

présence d'un solvant transparent aux micro-ondes de type hexane. Ainsi les micro-ondes atteindraient directement les systèmes glandulaires et vasculaires du végétal. Depuis différentes méthodes d'extraction par micro-ondes ont été développées et nombreux brevets ont été déposés :

- Le procédé d'hydrodistillation par microondes » est basé entièrement sur le principe de l'hydrodistillation classique. Le matériel végétal est donc placé en présence d'une quantité d'eau suffisante dans un ballon disposé dans l'enceinte du four à micro-ondes. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération des essences sont situés à l'extérieur du four. Les avantages cités sont la rapidité et la similitude de la composition de l'huile par rapport à une hydrodistillation classique.
- Extraction par solvant assistée par micro-ondes. MAE (Microwave Assisted Extraction) et MAP™ (Microwave Assisted Process). Cette méthode est la plus utilisée. Si sa rapidité de mise en œuvre en fait une méthode de choix pour l'extraction et plus particulièrement pour l'extraction de composés aromatiques d'origine végétale, le produit obtenu ne peut réglementairement être considéré comme une huile essentielle. De plus l'utilisation de solvant organique présente certains inconvénients : contamination du produit fini, problème pour son élimination totale. Rappelons que l'industrie agro-alimentaire applique des lois très strictes sur l'origine des produits utilisés. (Figure 38).

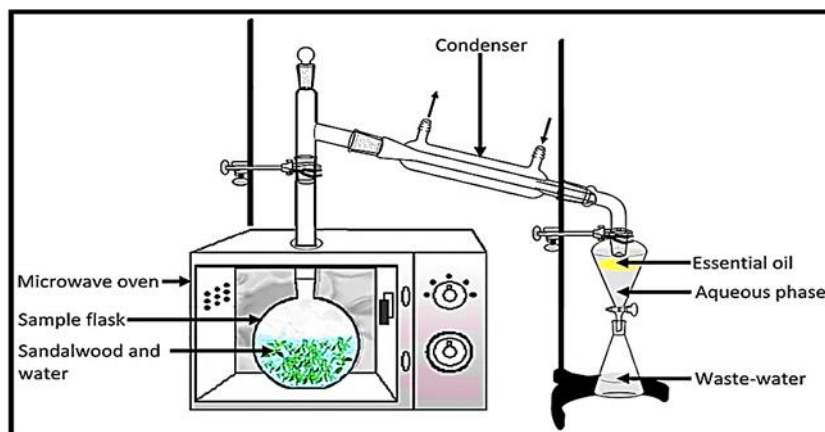


Figure 38 : Extraction assistée par micro-ondes (Asma, 2010).

Solvant Free Extraction Microwave (SFME) est le mode d'extraction le plus récent et a été, en particulier, développée par le groupe Chemat-Smadja à l'Université de la Réunion. Cette méthode a été rebaptisée « Dry-Dist » et est commercialisée à travers le monde par la société Milestone (Bergame-Italie). Elle associe un four micro-ondes et une distillation sèche. L'extraction est réalisée à la pression atmosphérique, en l'absence de solvant et d'eau ajoutée. Les principaux avantages de cette technique résident dans l'augmentation de la cinétique d'extraction ainsi que son caractère plus respectueux de l'environnement (absence de solvant) qui constitue un des exemples de chimie verte. (Figure 39).

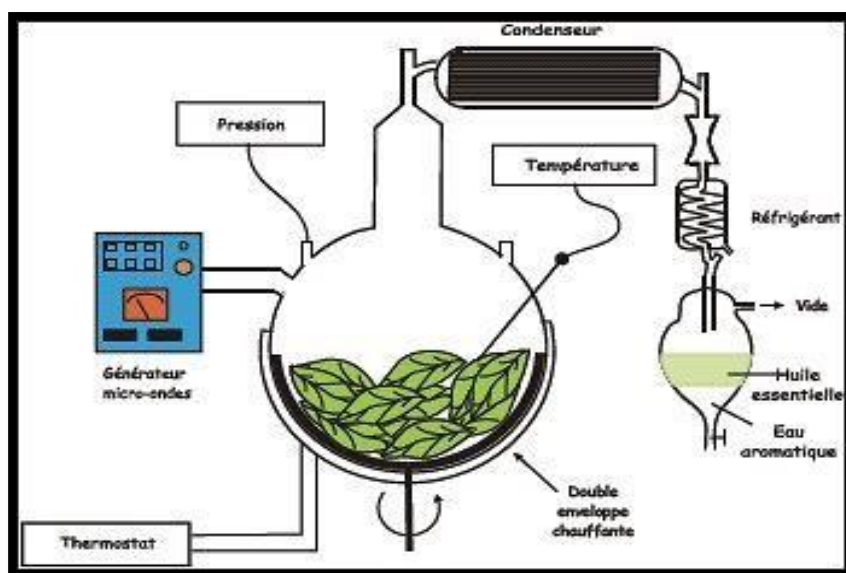


Figure 39 : Montage d'extraction selon le principe « VMHD » (Vacuum Microwave Hydrodistillation)

Le mécanisme de chauffage par micro-ondes repose sur le fait que certaines molécules telles que l'eau présentent des excès et des défauts de charges dus à la différence d'électronégativité entre les atomes d'oxygène et d'hydrogène. Ces molécules polaires présentent alors un moment dipolaire ou dipôle. Les dipôles sont susceptibles de s'orienter lorsqu'ils sont soumis à un champ électrique et génèrent alors un moment dipolaire induit. Sous l'effet d'un champ électrique alternatif, les dipôles s'orientent dans la direction du champ, puis se désorientent à la disparition du champ et enfin se réorientent dans l'autre sens. Il s'agit de la rotation dipolaire. Cependant, l'alignement des dipôles par rapport au champ électrique est contrarié par l'existence de liaisons hydrogène et de liaisons de Van der Waals qui freinent la libre rotation et conduisent à un dégagement de chaleur. L'énergie cinétique est alors transformée partiellement en chaleur.

Le chauffage de l'eau présente dans la plante provoque l'éclatement des glandes contenant l'huile essentielle. L'huile essentielle ainsi libérée est entraînée par la vapeur d'eau contenue elle aussi dans la matière végétale. Un essencier de type Clévenger permet de condenser le distillat et de récupérer l'huile essentielle par simple décantation en tenant compte la différence de densité (Figure 40).

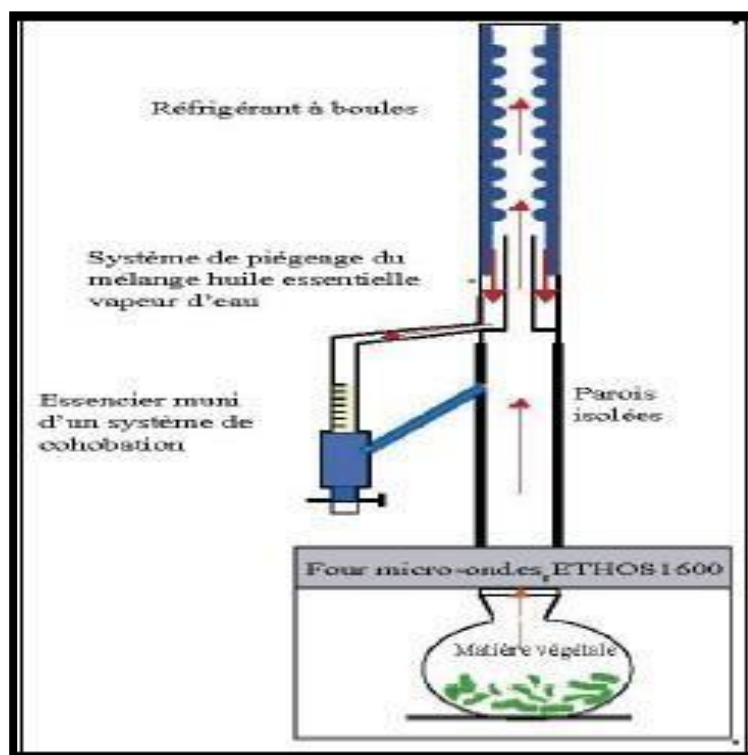


Figure 40 : Schéma d'extraction selon le principe SFME (Solvant Free Extraction Microwave)

Malgré l'utilisation d'un essencier de type Clévenger pour condenser et refroidir les vapeurs issues du chauffage du végétal par les micro-ondes, l'échantillon obtenu par SFME ne peut en tout rigueur être considéré comme une huile essentielle. En effet, le terme « huile essentielle » nécessite l'utilisation du principe de l'hydrodistillation, de l'entraînement à la vapeur ou de l'expression à froid. Les deux modes d'extraction, bien que voisins, diffèrent cependant par la nature du chauffage. Or les phénomènes de solubilité des composés organiques dans l'eau sont particulièrement importants dans une hydrodistillation ou encore dans un entraînement à la vapeur.

Dans la très grande majorité des cas, les rendements de l'extraction par micro-ondes sont proches voire supérieurs à ceux obtenus par hydrodistillation, le temps d'extraction est plus court, de l'ordre de 30 minutes alors qu'une hydrodistillation nécessite classiquement trois heures au Minimum. A rendement équivalent, il est constaté une augmentation de la

Proportion des composés oxygénés dans les extraits obtenus par SFME (**Fehrat et al., 2006 ; Lucchesi et al., 2007**). Plusieurs explications sont avancées pour expliquer ces différences :

- L'observation des végétaux par Microscopie Electronique à Balayage montre des différences en termes d'altération des glandes à huile essentielle. Celles-ci semblent totalement détruites sous l'effet des micro-ondes
- Les composés oxygénés plus polaires et plus solubles dans l'eau seraient distillés en priorité par rapport aux hydrocarbures terpéniques dont la température d'ébullition est pourtant plus faible.
- Dans une huile essentielle obtenue par hydrodistillation, les composés oxygénés ont une plus grande affinité que les hydrocarbures pour la phase aqueuse et se retrouve donc l'hydrolat. Lors d'une extraction micro-onde, les composés oxygénés qui sont souvent assez solubles dans l'eau, demeurent dans l'extrait obtenu par SFME.

IV.2. Extraction des composés non volatils :

L'une des caractéristiques uniques des plantes est leur capacité à créer une large gamme de produits chimiques naturels. En effet, elles accumulent fréquemment des métabolites dits "secondaires" dont la fonction physiologique représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines autres que la pharmacologie et l'agroalimentaire, en plus des métabolites primaires classiques (glucides, protéines, lipides, acides nucléiques) (**Macheix et al., 2005**). Les substances chimiques phénoliques sont abondantes dans les plantes et remplissent une fonction principalement métabolique. Ce sont des composés naturels dont la popularité ne cesse de croître en raison de leurs effets sur la qualité nutritionnelle, la saveur et la couleur des aliments (**Tchiegang et Bourely, 1990**).

IV.2.1. Méthode d'extraction des composés phénoliques :

De nombreux chercheurs ont étudié les effets de différentes procédures d'extraction sur les rendements des substances chimiques phénoliques extraites des plantes (**Mahmoudi et al., 2013**). La composition chimique des composés phénoliques dans la plante détermine leur solubilité, qui va des composés simples aux composés hautement polymérisés (**Gracia-salas et al., 2010**). L'extraction des polyphénols est influencée par la diversité structurale (**Koffi et al., 2010**). La polarité du solvant employé, entre autres, affecte la solubilité des composés phénoliques. Par conséquent, il est extrêmement difficile de mettre au point une procédure d'extraction permettant d'extraire tous les composés phénoliques de la plante (**Mahmoudi et al., 2013**). Des combinaisons

Méthanol/eau (80/20, V/V) peuvent éliminer efficacement la plupart des phénols simples présents dans la vacuole. Comme ils sont facilement oxydés, il est préférable de travailler à une température de 0 à 4°C et de les protéger en ajoutant un agent réducteur au milieu d'extraction (acide ascorbique ou métabisulfite de sodium). L'ajout d'un inhibiteur de glucosidases, qui peut encore fonctionner en milieu alcoolique ou acétonique, empêche l'hydrolyse des hétérosides phénoliques fragiles lors de l'extraction. Après élimination de l'alcool par évaporation sous vide une purification est alors nécessaire. Dans les quelques rares cas où un composé phénolique se trouve en forte concentration dans une matière végétale donnée (par exemple, l'acide chlorogénique dans les tubercules de pomme de terre, les acides hydroxycinnamiques dans les feuilles de pêcher, les anthocyanes dans les raisins rouges), le spectre d'absorption (UV ou visible) de l'extrait global peut être utilisé pour faire une estimation rapide de la teneur de la matière. En dehors de ces valeurs aberrantes, il est impossible de tirer des conclusions qualitatives ou quantitatives précises à partir d'une seule étude du spectre d'absorption de l'extrait phénolique global d'une plante (Macheix *et al.*, 2005).

IV.2.2. Extraction à froid ou Macération :

La macération consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante et qui a l'avantage de préserver les substances thermosensibles. Une quantité de 70 g de la poudre de plante est macérée trois fois dans 300 ml d'éthanol 96% pendant 24 heures sous agitation. Le filtrat hydro éthanolique obtenu est filtré sur papier filtre, puis concentré sous vide à l'aide d'un rota vapeur à 45°C, pour obtenir une solution aqueuse chargée en substances extractibles. (Figure 41).

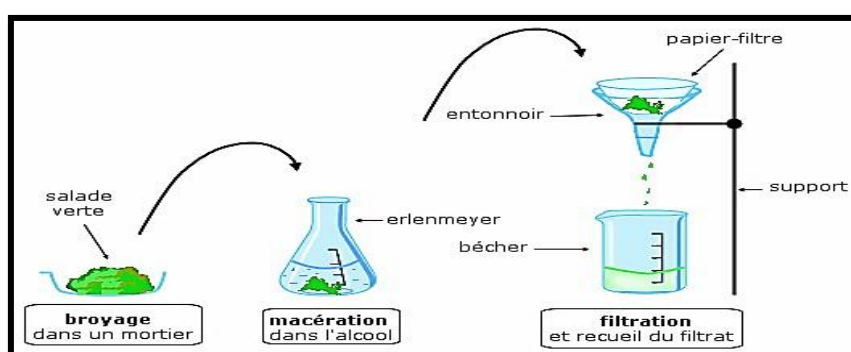


Figure 41 : la méthode d'extraction à froid (macération)

IV.2.3. Extraction par décoctions et d'infusions :

Chaque matériel végétal a été entièrement homogénéisé. Les décoctions ont été préparées comme suit : 2 grammes de plantes ajoutés à 60 ml d'eau distillée et chauffées jusqu'à ébullition dans une marmite en acier inoxydable. Le mélange a été laissé à la température d'ébullition pendant 2 ou 15 min et finalement filtré sous pression réduite. **Figure 42.**

Les décoctions et les infusions ont été concentrées à sec sous pression à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40 C°. Le rendement de l'extraction a été calculé en g de résidu sec pour 100 g de masse végétale sèche. Le résidu sec de chaque décoction ou infusion a été pesé et conservé pour les analyses RMN et spectrophotométriques. Une concentration de 2 mg de résidu sec/ml a été utilisée pour l'analyse spectrophotométrique.

IV.2.3.1. Détermination du contenu phénolique total :

Le contenu phénolique total (CPT) de chaque échantillon a été déterminé en appliquant la micro méthode de l'essai colorimétrique de Folin-Ciocalteu (**Lantzourak et al.,2015**).

Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique (EAG) par 100 ml de décoction ou d'infusion, en utilisant une courbe standard avec un intervalle de 25-500 mg L⁻¹ d'acide gallique ($y = 0,001x + 0,003$, $R^2 = 0.997$).

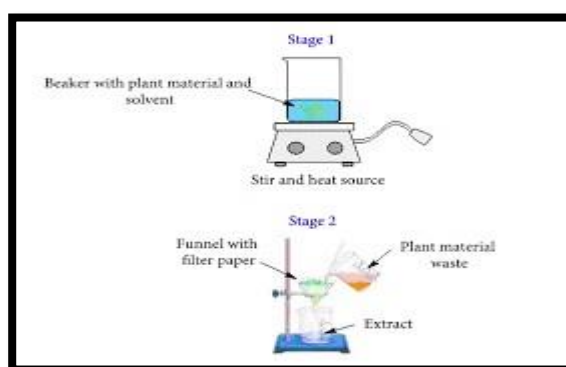


Figure 42 : Extraction des flavonoides par décoction.

IV.2.4. Extraction à chaud ou extraction au Soxhlet :

L'extraction au Soxhlet a été retenue comme technique d'extraction car elle favorise l'extraction relativement complète des métabolites présents dans la matrice végétale. Les extractions au Soxhlet ont été effectuées de façon séquentielle, en utilisant des solvants de polarité croissante. Les solvants utilisés étaient le chloroforme (CHCl₃), l'acétate d'éthyle (C₄H₈O₂) et le méthanol (MeOH). Cette approche d'extraction permet de fractionner grossièrement les divers produits

CHAPITRE IV : Méthodes de préparation des extraits volatils et non Volatils

Naturels de la matrice végétale. Le corps de l'extracteur, contient une cartouche en cellulose remplie de 65 g de matière végétale délipidée phénoliques. Par conséquent, il est extrêmement difficile de mettre au point une procédure d'extraction permettant d'extraire tous les composés phénoliques de la plante (Mahmoudi *et al.*, 2013). Des combinaisons méthanol/eau (80/20, V/V) peuvent éliminer efficacement la plupart des phénols simples présents dans la vacuole. Comme ils sont facilement oxydés, il est préférable de travailler à une température de 0 à 4°C et de les protéger en ajoutant un agent réducteur au milieu d'extraction (acide ascorbique ou métabisulfite de sodium). L'ajout d'un inhibiteur de glucosidases, qui peut encore fonctionner en milieu alcoolique ou acétonique, empêche l'hydrolyse des hétérosides phénoliques fragiles lors de l'extraction. Après élimination de l'alcool par évaporation sous vide une purification est alors nécessaire. Dans les quelques rares cas où un composé phénolique se trouve en forte concentration dans une matière végétale donnée (par exemple, l'acide chlorogénique dans les tubercules de pomme de terre, les acides hydroxycinnamiques dans les feuilles de pêcher, les anthocyanes dans les raisins rouges), le spectre d'absorption (UV ou visible) de l'extrait global peut être utilisé pour faire une estimation rapide de la teneur de la matière. En dehors de ces valeurs aberrantes, il est impossible de tirer des conclusions qualitatives ou quantitatives précises à partir d'une seule étude du spectre d'absorption de l'extrait phénolique global d'une plante (Macheix *et al.*, 2005). (Figure 43).

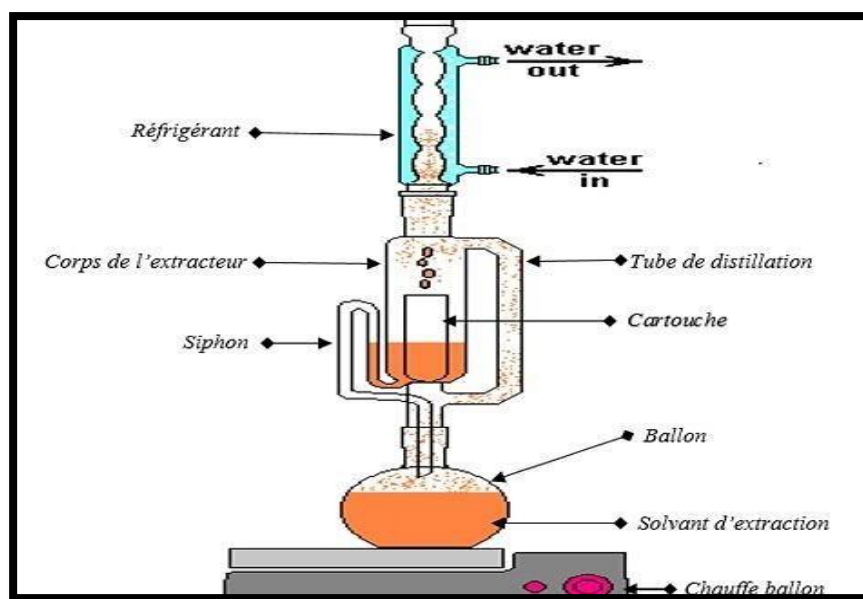


Figure 43 : Appareil de Soxhlet.

CHAPITRE V :

**MATERIEL ET
METHODES**

Matériel et méthodes

V.1. Objectif de travail

L'objectif fixé pour ce présent travail était une étude de quelques activités biologiques de *Curcuma longa*, principalement l'activité antioxydante, insecticide et antimicrobienne, mais malheureusement et par manque inédit de moyens (matériels et réactifs) nous avons rencontré de grandes difficultés pour atteindre cet objectif. Ceci dit et grâce à l'aide d'autres départements, nous nous sommes contentés de réaliser uniquement l'activité antioxydante.

V.2. Lieu de stage :

Ce travail est réalisé dans le laboratoire du département agro-alimentaire et d'autres laboratoires de la faculté de l'université de BLIDA I.

V.3. Matière végétale : Le matériel végétal est constitué d'une espèce appartenant à la famille des Zingibéracées, nommée *Curcuma longa L.* (Figure 44).



Figure 44 : transformation du rhizome du curcuma en poudre (Photo originale).

La plante est achetée sous forme de rhizomes séchés, dans un magasin local d'épices et de plantes médicinales le 24 avril 2022 à Blida, (tableau 8).

Tableau 8 : Matériel végétal utilisé

Plante	Espèces	Pièce utilisée	Origine
Curcuma	<i>Curcuma longa L</i>	Rhizome	Pakistan

V.4. Préparation de l'extrait non volatil :

V.4.1. Principe :

L'extraction était par la méthode de macération (extraction solide-liquide) est l'une des techniques les plus simples consiste à tremper la matière végétale grossière et en poudre (*Curcuma longa* broyé) dans un solvant d'extracteur d'alcool qui est l'éthanol pur pour extraire les différents composés bioactifs de la plante de curcuma (principalement les composés phénolique).

V.4.2. Mode opératoire :

Mettre l'échantillon à macérer dans 250 ml d'éthanol pur sous agitation douce pendant 24h à température ambiante.

L'extraction est refaite trois fois avec renouvellement du solvant et filtration à chaque fois afin d'épuiser totalement la matière végétale.

L'extrait alcoolique est récupéré dans un premier temps après filtration du mélange sur verre fritté (entonnoir N°3)

L'éthanol éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite dans un évaporateur rotatif.

L'extrait obtenu caractériser de couleur marron, est considéré comme étant l'extrait non volatil brut (EBr) du *Curcuma longa* (Hadjadj 2015). **Figure 45.**



Figure 45: Dispositif de macération à gauche, Rotavapor (Heidolph) à droite (photos originales, 2022).

V.4.3 Rendement de l'extraction :

Le taux de matière extraite (%) est calculé comme suit :

$$R = [(P1 - P2/E) \times 100$$

Où :

R : rendement en extrait brut non volatil (%)

P1 : poids du ballon après évaporation du solvant (g).

P2 : poids du ballon vide (g).

E : poids de l'échantillon (poudre) (g)

V.5. Détermination de la composition chimique des composés non-volatils :

V.5.1. Dosage des phénols totaux :

V.5.1.1. Principe :

En milieu alcalin, les phénols réduisent le mélange d'acide phosphotungstique et phosphomolybdique en oxydes bleus de tungstène et de molybdène. Cette propriété est utilisée pour le dosage des composés phénoliques du vin en faisant appel au réactif de Folin Denis ou de Folin Ciocalteu (**Singleton et Rossi 1965**).

V.5.1.2. Mode opératoire :

Un volume de 0.25 ml d'échantillon est mélangé avec 1.25 ml du réactif de Folin qui a été diluée 10 fois avec de l'eau distillée. Après 3 minutes de réaction, 1ml de solution de carbonate de sodium est ajoutée. Ensuite la solution est laissée 30 minutes à l'abri de la lumière et l'absorbance est lue à 765 nm, l'expérience est répétée trois fois pour chaque concentration. Le même processus a été réalisé pour un témoin pour régler le zéro en effectuant l'essai à blanc sans ajouter l'échantillon c'est-à-dire le remplacer avec le solvant utilisé.

La quantification des phénols totaux a été faite en se basant sur une courbe d'étalonnage linéaire établie avec l'acide gallique qui est un polyphénol (Figure 15). La teneur en phénols totaux a été donc exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG /g d'extrait).

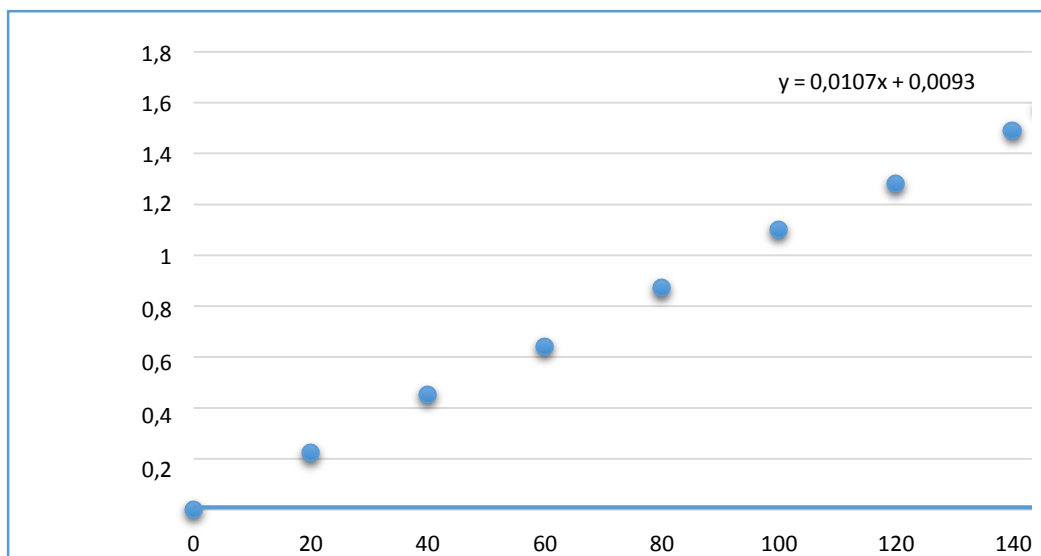


Figure 46 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

V.5.2. Dosage des flavonoïdes :

La technique établie par **Lamaison et Carnet (1990)** a été utilisée pour déterminer la quantité de flavonoïdes dans les extraits des espèces examinées.

V.5.2.1. Principe :

Le réactif employé, le trichlorure d'aluminium (AlCl_3), génère une combinaison jaune avec les flavonoïdes. L'intensité de cette dernière est liée à la quantité de flavonoïdes présents dans l'échantillon analysé.

V.5.2.2. Mode opératoire :

On mélange 1ml d' AlCl_3 avec 1 ml d'échantillon. On lit l'absorbance à 420 nm par un spectrophotomètre après une heure d'incubation. Le même processus a été réalisé avec un témoin qui est un mélange d' AlCl_3 et d'un solvant dans lequel se trouve l'échantillon.

Si les solutions ne sont pas transparentes on centrifuge.

La quantification des flavonoïdes a été rendue possible par l'utilisation d'une courbe de calibration utilisant la Quercétine comme référence (Figure16). Les résultats sont donc exprimés en milligrammes d'équivalent Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ / g d'extrait).

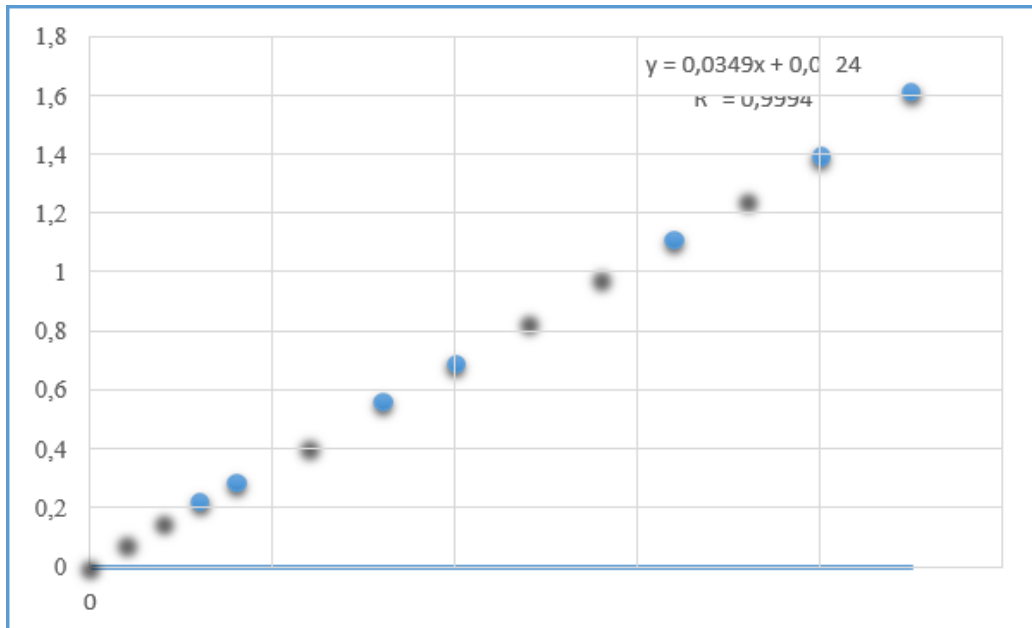


Figure 47 : Courbe d'étalonnage de la Quercetine.

V.5.3. Préparation de la solution mère et les dilutions :

Dissoudre 0,4g d'extrait du curcuma dans 10ml d'éthanol qui constitue la solution mère, à partir de cette solution mère nous avons préparé des solutions filles de concentrations plus faibles de 10 ;25 ;50 ;100 ;200 ;400 ;600 mg/L. **Figure 48.**



Figure 48 : les dilutions préparées à partir de la solution mère (Photo original).

V.6. Evaluation de l'activité antioxydante :

La capacité de piégeage des radicaux libres DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et le test de piégeage des cations radicaux ABTS•⁺ (2,2- azinobis- (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate) ont été utilisés pour évaluer l'activité antioxydante. Les deux procédures sont basées sur le réactif employé dans la coloration ou la décoloration du milieu réactionnel. L'efficacité antioxydante de l'extrait a été comparée à celle de l'antioxydant synthétique BHT (butylated hydroxytoluene).

V.6.1. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH•

V.6.1.1. Principe :

L'un des premiers radicaux libres utilisés pour examiner le lien entre la structure et l'activité antioxydante des composés phénoliques a été le 2,2-diphényl-picrylhydrazyl. L'un des atomes du pont d'azote possède un électron non apparié. Les molécules radicalaires ne forment pas de dimères en raison de cette délocalisation, et le DPPH reste donc dans son état monomère relativement stable à température ambiante. La délocalisation est également responsable de la teinte violette de la solution distinctive de DPPH. L'efficacité d'un antioxydant est déterminée par la diminution de la couleur violette causée par la recombinaison des radicaux DPPH, qui peut être évaluée par spectrophotométrie à 517 nm.

V.6.1.2. Mode opératoire

Avant de procéder à l'expérience on règle le zéro avec l'éthanol pur (solvant qui a été utilisé pour la préparation des échantillons et du DPPH). On prélève 975 µL de la solution DPPH et on mesure son absorbance A_0 . Puis, on lui ajoute 25 µL de la solution d'échantillon (huile essentielle ou extraits non volatils). On laisse le mélange incuber pendant 30 min à l'abri de la lumière et on mesure son absorbance A_t par un spectrophotomètre à 517 nm. On répète cette expérience au moins 3 fois pour la même concentration et le même échantillon.

L'activité antioxydante est donnée par la formule :

$$A\% = 100 * [(A_0 - A_t) / A_0]$$

Où :

$A\%$: activité antioxydante exprimée en %

A_0 : absorbance de la solution du DPPH \bullet au temps zéro avant l'addition de l'échantillon

A_t : absorbance de la solution en présence de l'échantillon.

NB : la même expérience est appliquée au témoin positif BHT

V.6.2. Test de réduction du radical-cation ABTS \bullet^+

V.6.2.1. Principe :

L'approche est basée sur la détermination du degré de réduction du cation radical ABTS \bullet^+ de couleur bleu-vert produit par oxydation avec du persulfate de potassium pendant 12-16 heures à 4 degrés Celsius (Scalzo et al, 2005). Après le transfert d'électrons d'un antioxydant (HE, extrait), la solution ABTS \bullet^+ devient incolore (Chemat et Fernandez, 2012). La spectrophotométrie et le suivi de la décoloration de la solution bleue démontrent la capacité de l'échantillon à produire des électrons. Le contrôle BHT est traité de la même manière.

V.6.2.2. Mode opératoire

Le jour de l'analyse la solution d'ABTS \bullet^+ a été diluée avec de l'éthanol jusqu'à une absorbance de 0.7 ± 0.02 à 734nm. Après l'ajout de 25 μ L d'échantillon (HE ou extrait) à un volume de 975 μ L de la solution d'ABTS \bullet^+ la diminution de l'absorbance a été mesurée après 7 minutes à 734 nm dans le spectrophotomètre. L'expérience est répétée 3 fois pour chaque échantillon.

L'activité antioxydante est calculée comme dans le cas du test de pouvoir de piégeage du radical DPPH.

V.6.3. Concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC $_{50}$) :

L'IC $_{50}$ est définie comme la quantité ou la concentration d'antioxydant (HE ou tout autre produit chimique utilisé comme antioxydant) nécessaire pour bloquer ou éliminer 50 % des radicaux, En d'autres termes, il s'agit de la concentration nécessaire pour obtenir une activité de 50 %. Elle est calculée à l'aide de l'équation de l'activité antioxydante (pourcentage) par rapport à la courbe de concentration de l'antioxydant (Hazzit, 2008).

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Taux d'extraction et caractéristiques physiques de l'extrait non volatils brut :

La couleur l'aspect et le rendement en extrait éthanolique non volatils brut, à partir des rhizomes de *Curcuma longa* L sont donné sur le **tableau 9**. Le rendement en extrait non-volatile brut est de l'ordre de 5,93%, un tel rendement reflète la richesse du curcuma en substances bioactives tels que les antioxydants.

Tableau 9 : Caractéristiques physiques et rendement en extrait non-volatiles brut de *Curcuma longa* en (%)

Plante	Espèce	Rendement (%)	Couleur	Aspect
Curcuma	<i>Curcuma longa</i> L	5,93	Marron	visqueux

Notre résultat est en corcordance avec celui de **Manzan et al., (2003)** et se situe dans l'intervalle des valeurs rapportés par la bibliographie (**tableau 10**)

Tableau 10 : Rendements en extrait sec non volatil de *Curcuma longa*. (%) rapportés par la bibliographie

Espèce	Origine et partie	Taux d'extraction	Références
<i>Curcuma longa</i>	Brésil (Rhizome sec)	5.49%	Manzan et al. (2003)
	India (Rhizome frais)	8%	Panpatil et al. (2013)
	Corée	2.01%	Kim et al. (2011)

Ces observations laissent penser que la différence dans les teneurs en ces composés est due à plusieurs facteurs : l'origine géographique, les facteurs écologiques notamment climatiques (la température et l'humidité), l'espèce et/ou la variété végétale elle-même, l'organe végétal, le stade de la croissance, la période de cueillette ainsi que la méthode d'extraction (**khajeh et al, 2004 ; 2005., Viljoen et al., 2006a ; Sefidkon et al., 2007 ; Svoboda et al., 1999**).

2. Composition chimique des composés non-volatils :

L'analyse quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux dans l'extrait de *Curcuma longa* est réalisée par les méthodes spectrophotométriques utilisant le réactif de folin-Ciocalteu et le chlorure d'aluminium respectivement. Les résultats obtenus sont regroupés dans le **tableau 11**.

Tableau 11 : Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait non volatil brut de *Curcuma longa*

Echantillon	Polyphénols totaux (mg EAG /g extrait)	Flavonoïdes totaux (mg EQ / g d'extrait)
<i>Curcuma longa</i>	192,6	159,8

Les résultats obtenus montrent la richesse de l'extrait brut non volatil de curcuma en composés bioactifs notamment en polyphénols et flavonoïdes avec des teneurs respectives de 192,6 mg EAG /g extrait et 159,8 mg EQ / g d'extrait. De telles teneurs offrent à notre extrait un pouvoir antioxydant intéressant.

Une étude menée par **Trinidad et al., (2012)** indique que la teneur en polyphénols totaux de *Curcuma longa* est de l'ordre de 1,94 mg EAG /g extrait alors que celle des flavonoïdes est de 1,25 mg EQ / g d'extrait, ces valeurs sont de loin inférieures aux nôtres.

De nombreuses études effectuées sur les plantes médicinales ont montré que la composition chimique, la teneur et les activités fonctionnelles des composés phénoliques sont influencées par l'origine géographique, la saison de récolte, l'organe végétal utilisé, le processus d'extraction et la nature du solvant extracteur. (**Yahyaoui et al., 2007**).

D'autre part la distribution des métabolites secondaires peut varier au cours des phases de développement de la plante, selon (**Bouterfas et al., 2013**) cela pourrait être lié à des conditions climatiques difficiles. La production des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes est stimulée par ces caractéristiques.

3. Evaluation de l'activité antioxydante :

Deux tests ont été utilisés pour déterminer l'activité antioxydante de *Curcuma longa in vitro* : le

test de piégeage du radical DPPH[•] et le test de réduction du cation radical ABTS^{•+}.

Ces derniers ont été testés sur l'extrait éthanolique non volatil brut. Les résultats sont comparés à ceux d'un antioxydant synthétique, le BHT, qui sert de témoin positif.

3.1 Activité de piégeage du radical DPPH[•]

Ce test est recommandé au vu de sa facilité et sa précision vis-à-vis la mesure de l'activité antioxydante de l'extrait. En effet, il est largement utilisé dans l'étude de cette activité (**Hazzit, 2008**).

Malgré le fait que le test DPPH[•] soit considéré comme une approche simple, rapide et facile à mettre en œuvre. Le test DPPH[•] n'est pas quantitatif, mais il permet d'évaluer les extraits en fonction de leur capacité à piéger le DPPH[•] et donc de saisir les différences qualitatives des composés phénoliques. Il est réalisé à température ambiante, ce qui élimine la possibilité de dégradation thermique des composés thermolabiles (**Popovici et al., 2009**).

Dans ce test, le radical DPPH[•] est réduit en DPPH-H en retirant un atome d'hydrogène (H) d'un antioxydant (AH). Un spectrophotomètre peut détecter un changement de couleur du violet au jaune causé par cette diminution à 517 nm (**Figure 49**).

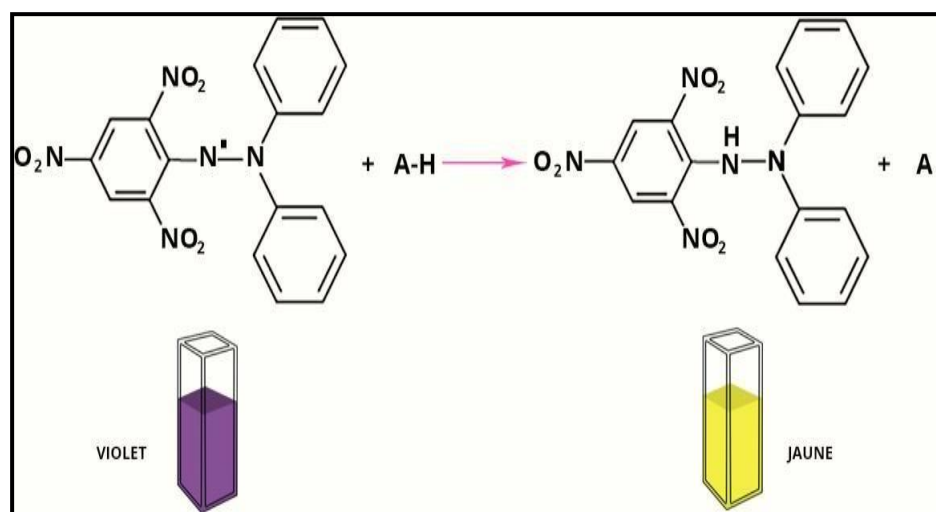


Figure 49 : Inhibition du radical DPPH[•] par un antioxydant AH (**Bercet, 2006**).



Figure 50 : Inhibition du radical DPPH• par un antioxydant AH (Photo originale).

Les résultats de l'activité d'inhibition des radicaux DPPH• sont donnés dans la figure 51.

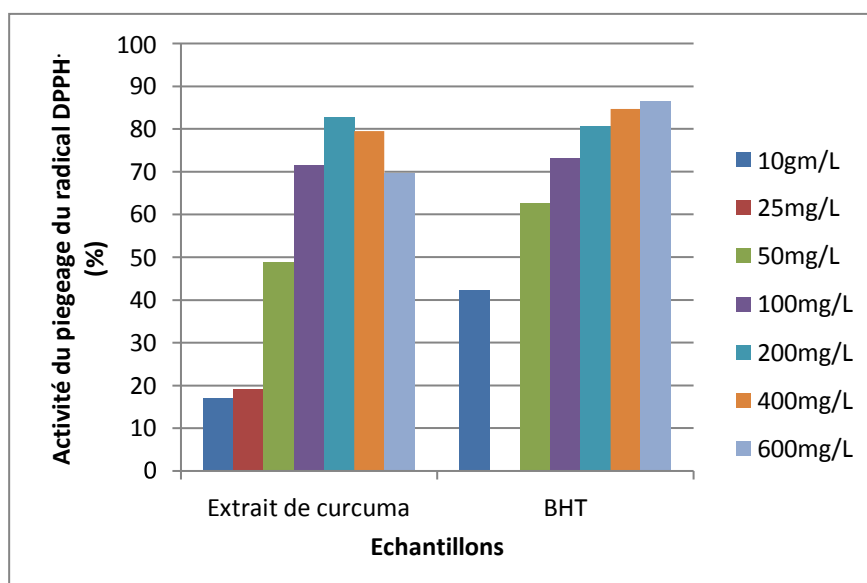


Figure 51 : Activité de piégeage du radical DPPH• par l'extrait non-volatile brut de *Curcuma Longa*, exprimée en %.

D'après les résultats illustrés sur **la figure 51** nous remarquons que quelle que soit la dose utilisée, l'extrait a une capacité de piégeage du radical DPPH même à la plus faible concentration de 10 mg/L cette activité est de 16,988%. L'activité mesurée à la concentration maximale (600 mg/L) de l'extrait de *C. longa* est d'environ 69,63 %. Il est à signaler que le maximum d'activité est enregistré pour la concentration de 200mg/L qui est de 82,64mg/L cette dernière dépasse même celle du BHT pour la même concentration. Néanmoins l'activité de l'extrait reste toujours faible par rapport au BHT (antioxydant de référence) pour la majorité des concentrations étudiée.

Par ailleurs nous constatons que l'activité de piégeage du radical DPPH par l'extrait du *Curcuma longa* est dose dépendante car elle augmente avec la concentration de ce dernier.

Nos résultats se situent dans la plage des valeurs rapportées par la bibliographie. En effet et selon (**Gounder & Lingamallu 2012**), la capacité de piégeage du DPPH[•] par l'extrait de *Curucma longa* se situe entre environ 50% et 65%. (**Priya et al., 2012**) également rapportent un pouvoir de piégeage des radicaux DPPH[•] inférieur par rapport au notre, estimé à environ 65%. En revanche, (**Kim et al., 2011**) ont également obtenu un pourcentage d'inhibition de 74,2% pour l'extrait du rhizome de la même espèce (*Curcuma*). Cette valeur est supérieure au résultat de (**Chen et al.,2008**) (72,1%) et (**Maizura et al.,2011**) (64,6%) et de (**Qader et al., 2011**) (62,3%) et de (**Trinidad et al., 2012**) (54%).

3.2 Activité de piégeage du radical-cation ABTS^{•+}

Selon (**Re et al., 1999**), la méthode de piégeage du radical ABTS^{•+} est une excellente méthode pour déterminer l'activité antioxydante pour une large diversité de substances, comme antioxydants donneurs d'hydrogène ou piégeurs de radicaux en phase aqueuse et d'antioxydant briseur de chaînes ou bien comme piègeur de radicaux pyroxyles.

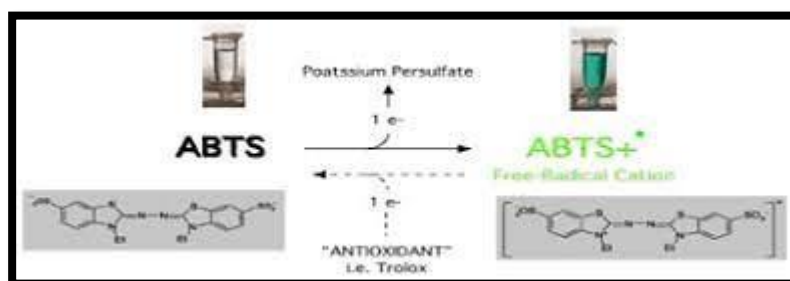


Figure 52 : Réaction du radical ABTS^{•+} en présence d'un antioxydant (Santos-Sánchez et al., 2019).

Résultats et discussion

Les pourcentages d'inhibition du radical ABTS^{•+} peuvent être calculés à partir des valeurs des densités optiques acquises au cours de l'expérience.

Les résultats obtenus sont comparés à ceux d'un antioxydant de synthèse : le BHT pris en tant que référence.



Figure 53 : Réaction du radical ABTS^{•+} en présence d'un antioxydant (Photo original).

Les résultats de l'activité de piégeage du radical ABTS^{•+} par l'extrait non volatil brut de *Curcuma longa* sont illustrés dans la **figure 54**

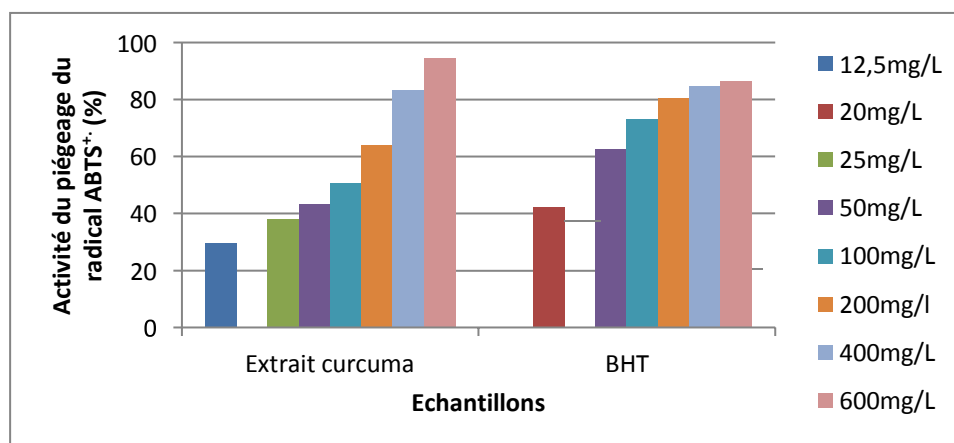


Figure 54 : Activité de piégeage du radical ABTS^{•+} l'extrait non volatil brut de *Curcuma longa* (%).

D'après les résultats obtenus, on constate que plus la concentration des échantillons est élevée, plus l'activité de piégeage du cation radicalaire ABTS^{•+} augmente. L'activité anti-radicalaire de l'extrait de curcuma va de 29,51 % à la plus faible concentration étudiée c'est à dire 12,25mg/L jusqu'à 94,66 % pour la plus grande concentration de 600 mg/L. Cette activité dépasse même celle de l'antioxydant de référence (BHT) pour la concentration maximale testée (600 mg/L) qui est de 86,35 mg/L pour ce dernier. Cette activité antioxydante est attribuée en grande partie à la richesse de l'extrait de curcuma en polyphénols totaux et flavonoïdes mentionnée plus haut.

Dans une étude faite par **Tefiani (2015)**, l'activité antioxydante de l'extrait de cette espèce testée par le pouvoir de piégeage du radical-cation ABTS^{•+} a été estimée à environ 70% pour une concentration maximale de 600 mg/L ce qui est inférieur à nos résultats.

Priya et al., (2012), ont étudié l'activité de piégeage du radical-cation ABTS^{•+} par l'extrait de *Curcuma longa* et ont trouvé un pourcentage d'activité beaucoup plus faible (20%) pour une concentration de 1000 mg/L ce qui est encore plus faible à nos résultats.

Il est à signaler qu'il y a peu de travaux qui ont testé l'efficacité antioxydante des extraits de cette plante par le test ABTS^{•+}.

3.3. Concentration inhibitrice de 50% des radicaux libres (IC₅₀) :

Les valeurs IC₅₀, définies comme la concentration de l'échantillon qui permet de piéger 50% des radicaux libres (DPPH[•] et ABTS^{•+} dans notre cas), ont été également calculées. **Le tableau 12** regroupe les résultats obtenus.

Tableau 12 : Concentrations inhibitrices de 50% des radicaux libres (DPPH[•] et ABTS^{•+}) de l'extrait non volatil brut de *Curcuma longa* exprimée en mg/L.

IC ₅₀ (mg/L, moyenne ± Ecart type)		
Echantillon	DPPH [•]	ABTS ^{•+}
Extrait <i>Curcuma. longa</i>	48,43±0,89	50,42±1,97

Rappelons que l'IC₅₀ est d'autant plus faible que l'activité antioxydante d'un échantillon est élevée. En d'autres termes, une faible valeur de la IC₅₀ implique que l'échantillon a un potentiel plus élevé pour servir de piègeur de radicaux libres, comme le DPPH[•] et l'ABTS^{•+} qui ont été utilisés dans notre étude.

Résultats et discussion

Les valeurs IC₅₀ calculées confirme l'activité de piégeage de l'extrait de curcuma vis à vis des deux radicaux libres testés DPPH et ABTS, avec des valeurs respectives de 48,43±0,89mg/L et 50,42±1,97mg/L. La plus faible IC₅₀ est enregistrée pour le radical DPPH traduisant ainsi la plus grande capacité de piégeage de celui-ci par notre extrait.

Tableau 13 : Concentrations inhibitrices de 50% des radicaux libres de l'extrait non-volatile brut de *Curcuma longa* rapportées par dans la littérature.

Origine	IC ₅₀ (mg/L)	Test	<i>Curcuma longa</i>	Références
Karnataka (India)	4.43	ABTS ^{•+}	Extrait	Mbadiko et al.,2019
	15.63	DPPH [•]	Extrait	
West bengal (India)	5,99	DPPH [•]	Extrait	Denre (2014)
	8,33	DPPH [•]	Extrait	Widowati et al., 2009

Les résultats obtenus par (Tanvir et al., 2017) indiquent que la bonne activité anti radicalaire des extraits éthanolique peut être attribuée à la teneur élevée en composés phénoliques et en flavonoïdes ayant un pouvoir réducteur plus élevé.

En outre, (Maizura et al., 2011), affirme que pour le même échantillon, l'analyse de l'activité antioxydante en utilisant le test ABTS^{•+} a montré dans la plupart des cas des valeurs IC₅₀ plus faibles que celles du test DPPH[•]. Ceci confirme l'hypothèse de l'effet additif ou synergique des substances composés polyphénoliques et non polyphénoliques dans l'activité antioxydante des extraits étudiés et ont révélé que les composés non polyphénoliques contribuent de manière significative à leur propriété antioxydant.

Conclusion :

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait non volatil brut de *Curcuma longa* afin de le proposer comme alternative aux conservateurs chimiques utilisés dans les industries alimentaires. Ces derniers avérés dangereux pour la santé car ils sont incriminés dans beaucoup de maladies de part leurs toxicité et actions cancérigènes et allergènes.

Au terme de cette étude nous avons pu relever les résultats suivants :

Le rendement en extrait non volatil brut est de l'ordre de 5,93%, un tel rendement reflète la richesse du curcuma en substances bioactives tels que les antioxydants.

Cette richesse de l'extrait brut non volatil de curcuma en composés bioactifs est confirmée par les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes qui sont respectivement de 192,6 mg EAG/g extrait et 159,8 mg EQ/g d'extrait. De telles teneurs offrent à notre extrait un pouvoir antioxydant intéressant.

En effet, dans le but de confirmer ce pouvoir antioxydant nous l'avons estimé au moyen de deux tests à savoir le test de piégeage du radical DPPH \cdot et le test ABTS $^{\bullet+}$ et nous pouvons conclure ce qui suit :

L'extrait non volatil brut de *Curcuma longa* manifeste une capacité de piégeage du radical DPPH même à la plus faible concentration de 10 mg/L avec un taux d'inhibition d'environ de 17%. L'activité maximale est d'environ 69,63 % mesurée à la concentration (600 mg/L). L'activité de piégeage du radical DPPH est dose dépendante car elle augmente avec la concentration de ce dernier. Cette activité reste plus faible à celle du BHT et ceux pour toutes les concentrations étudiées..

D'autre part l'activité de piégeage du cation radicalaire ABTS $^{\bullet+}$ augmente également avec l'augmentation des concentrations. Elle va de 29,51 % à la plus faible concentration (12,25mg/L) jusqu'à 94,66 % pour la plus grande concentration étudiée (600 mg/L). Cette activité dépasse même celle de l'antioxydant de référence (BHT) (86,35 mg/L) pour les plus grandes concentrations testées. Une telle activité est attribuée en grande partie à la richesse de l'extrait de *Curcuma longa* en polyphénols totaux et flavonoïdes précédemment évoquée.

En perspective, il serait fort intéressant de compléter cette étude par :

Le développement des conservateurs contre l'oxydation et le rancissement dans le domaine agro-alimentaire à base de cette espèce.

L'étude de la partie volatile de cette espèce (les huiles essentielles) afin d'exploiter toutes les substances bioactives intéressantes du curcuma

L'étude d'autres activités des huiles essentielles et extraits non volatils de cette plante (antimicrobienne, anti-inflammatoire, anti-cancérigène, anti-cholinestérase...).

Références bibliographiques

A

1. **Afzal A., Oriqat G., Khan M.A., Jose J., Afzal M. (2013).** Chemistry and biochemistry of terpenoids from *Curcuma* and related species. *J. Biol. Act. Prod. Nat.*3:1–55.
2. **Aggarwal, B. B, Sundaram, C, Malani, N., & Ichikawa, H. (2007).** Curcumin: The Indian solid gold. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 595, 1-75.
3. **Akram M. (2010).** *Curcuma Longa* and curcumin: a review. *Rom. J. Biol. Plant Biol. Bucharest*;55(2):65–70
4. **Amin, K. A., Hameid, H. A. and Elsttar, A. H. (2010).** Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2994-2999.
5. **Ammon HPT, Wahl MA. (1991).** Pharmacology of *Curcuma longa*. *Planta Medica*; 57: 1–7
6. **Anon. (1950).** *Curcuma* in "The wealth of India", raw materials (Vol. 401. p. 11). New Delhi
7. **Ashcroft G.S, Lei K, Jin W, Longenecker G, Kulkarni A.B, Greenwell-Wild Hale-Donze H, McGrady G, Song X.Y and Wahl S.M (2000).** Secretory leukocyte protease inhibitor mediates non-redundant functions necessary for normal wound healing. *Nat Med*, 6, 1147-53.

B

8. **Bae Y.S, Kang S.W, Seo M.S, Baines I.C, Tekle E, Chock P.B, Rhee S.G (1997).** Epidermal growth factor (EGF)-induced generation of hydrogen peroxide. *J.Biol. chem*, 272, 217- 221
9. **Baheti R, Gill H. (2011).** Cyber-physical systems, In T. Samad and A.M. Annaswamy (eds.),
10. **Berger M.M (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances
11. **Beta T, Nam S, Dexter J.E, Sapirstein H.D (2005).** Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chem*, 82, 390-393
12. **Blain H, Jouzeau J.Y, Netter P, Jeandel C (2000).** Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. *Rev Med Interne*, 21, 978-88.
13. **Boga C, Delpivo C, Ballarin B, Morigi M, Galli S, Micheletti G, et al. (2013).** Investigation on the dyeing power of some organic natural compounds for a green approach to hair dyeing. *Dye Pigment*.97:9-18.
14. **Bojadziewski P. The health services in Bitola through the centuries. (1992).** Bitola: Society of science and art pp. 15–27

15. **Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z. and Jore D. (2014).** Reactive Oxygen Species, how can oxygen become toxic? *Chemical news*, 91-96
16. **Borovikova L.V, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina G.I, Watkins L.R, Wang H, Abumrad N, Eaton J.W and Tracey K.J (2000).** Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nat Med*, **405**, 458-62.
17. **BOULLARD Br J Cancer 2004;90:1011–5.**
18. **Bruneton J. 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, Plantes médicinales (2e édition). *Tec et Doc.*, Lavoisier, Paris. 915 p
19. **Bruneton J. 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, Plantes médicinales (2e édition). *Tec et Doc.*, Lavoisier, Paris. 915 p
20. **Bulboacă AE, Porfire AS, Tefas LR, Boarescu PM, Bolboacă SD, Stănescu IC, Bulboacă AC, Dogaru G.Molecules. 2019 Feb 27;24(5):846. doi: 10.3390/molecules24050846.**

C

21. **Capiralla H, Vingtdeux V, Zhao H, Sankowski R, Al-Abed Y, Davies P, Marambaud P. (2012).** Resveratrol mitigates lipopolysaccharide- and Abeta-mediated microglial inflammation by inhibiting the TLR4/NF-kappaB/STAT signaling cascade. *J Neurochem*, **120**: 461-472.
22. **Chambers H.F and Sande M.A (1998).** Médicaments antimicrobiens. In: Hardman J.G, Limbird L.E, Molinoff P.B, Rudon R.W and Gilman A.G. Les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments. *New York: Mc Graw Hill*, 1027-1029.
23. **Chan K.L (2003).** Role of nitric oxide in ischemia and reperfusion injury. *Curr Med Chem*.
24. **Chandra A., Nair M.G. (1998)** Novel bioactivities of Curcuma longa constituents. *J. Nat. Prod.* 61:542–545. doi: 10.1021/np970459f
25. **Chen I.N., Chang C.C., Ng C.C., Wang C.Y., Shyu Y.T., Chang T.L. (2008),** Antioxidant and antimicrobial activity of Zingiberaceae plants in Taiwan. *Plants Food Hum. Nutr.* 63:15–20. doi: 10.1007/s11130-007-0063-7. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
26. Chowdhury, J. U.; Nandi, N. C.; Bhuiyan, M. N. I.; Mobarok, M.
27. **Cuzzocrea S, Zingarelli B, Hake P, Salzman A.L and Zabo C (1998).** Antiinflammatory effects of mercaptoethylguanidine, a combined inhibitor of nitric oxide synthase and peroxynitrite scavenger, in carrageenan-induced models of inflammation. *Free Radic BiolMed*, **24**, 450-459.

D

28. **Daglia M (2011).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotechnol*, **23**, 1-8.
29. **Dalto A, Matte J J. (2017).** Pyridoxine (Vitamin B6) and the Glutathione Peroxidase System; a Link between One-Carbon Metabolism and Antioxidation. *Nutrients*, **9(189)**, 1-13.
30. **Daum-Badouard C. (2006).** Les lésions d'acides nucléiques : détection par HPLC-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation. Thèse de doctorat. Grenoble. Université Joseph-Fourier.

- 31. Deepika Yadav, Shiv Kumar Yadav. (April-June 2013.)** International Journal of Green Pharmacy.
- 32. Demoly P (2007).** Les hypersensibilités aux anti-inflammatoires non stéroïdiens anciens et nouveaux concepts. Quelles explorations Non-steroidal anti-inflammatory drug
- 33. Deogade et Ghate (2015).** Efficacy of turmeric on blood sugar and polyol pathway in diabetic albino rats. *Plant Foods for Human Nutri*; 57: 41-52
- 34. DESMIER, T. (2016).** Antioxidants today: Definition and applications. Doctoral thesis. University of Limoges, France
- 35. Dhulipalla Naga Harish** International Journal of Pharmaceutical and Chemical Science. Vol. 5 (4) **Oct-Dec 2016**
- 36. Dorward D.A, Lucas C.D, Rossi A.G, Haslett C, Dhaliwal K. (2012).** Imaging inflammation: Molecular strategies to visualize key components of the inflammatory cascade, from initiation to resolution. *Pharm Ther*, 135, 182-199.
- 37. Draelos ZD. (2010).** Nutrition and enhancing youthful-appearing skin. *Clin Dermatol*.28:400-8.
- 38. Dufour C, Loonis M, Dangles O (2007).** Inhibition of the peroxidation of linoleic acid by the flavonoid quercetin within their complex with human serum albumin. *Free Radic Biol Med*, **43**, (2) 241-252.
- 39. Duggi Shrishail Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. (2007)** Ravindran PN, Nirmal Babu K, Sivaraman K. Turmeric. The goldenspice of life. In: Turmeric. The Genus Curcuma. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. p. 1- 14.
Falleh, M. Ben Jemaa, M. Saada, R. Ksouri Essential oils: A promising eco-friendly food preservative

E

- 40. Elzaawely A.A, Xuan T.D and Tawata S (2005).** Antioxidant and antibacterial activities of weil
- 41. Eming S.A, Krieg T, Davidson J.M (2007).** Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *J Invest Dermatol*, **127**, 514–525.

F

- 42. Favier A (1997).** Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann Biol Clin* 55, 9-16.
- 43. Ferhat MA, Meklati BY, Smadja J, Chemat F. 2006.** An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *J Chromatogr A*, 1112 : 121-126.

G

- 44. Ganzler K, Salgo A, Valko K. 1986.** A novel sample preparation method for chromatography, *J. Chromatogr. A*, 371 : 299-306.
- 45. Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010).** Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, *15*(12), 8813-8826.
- 46. Golding, B. T.; Pombo, E.; Christopher, J. S. (2013).** Turmerones: isolation Goto S, Radak Z. Implication of oxidative damage to proteins and DNA in aging and its intervention by caloric restriction and exercise. *J sport health Sci*, **2**, 75-80.

47. **GUPTA S., PRAKASH J., 2009.** Studies on Indian Green Leafy Vegetables for their antioxidant activity, *Plant Foods Hum. Nutr.*, 64, p 39-45.
48. **Gutteridge JC. (1992).** Biologically relevant metal ion dependent hydroxyl radical generation-An update. *FEBS Letters*.307:108-112

H

49. **Hale A.L (2003).** Screening potato genotypes for antioxidant, identification of the responsible compounds, and differentiating Russet Norkotah Strains using a *flp* and microsatellite marker analysis. *Genetics*. Office of Graduate Studies of Texas A&M University. 260.
50. **Halliwell B, Gutteridge JC. (1992).** Biologically relevant metal ion dependent hydroxyl radical generation-An update. *FEBS Letters*.307:108-112
51. **Halliwell B, Gutteridge JM. 1999** *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. Midsomer Norton, Avon, England: Oxford University Press
52. **Hamaguchi, T.; Ono, K.; Yamada, M. (2010).** Review: curcumin and Alzheimer's disease. *CNS Neurosci. Therapeut*, 16, 285-297
53. **Haraguchi H, Tanimoto K, Tamura Y, Mizutani K and Kinoshita T (1998).** Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochem*, **48**, 125-129
54. **Harman D. Aging, (1956).** a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology*.11:298-300
55. **Headland S.E, Norling L.V (2015).** The resolution of inflammation: Principles and challenges.
56. **Hellsten Y, Svensson M, Sjödin B, Smith S, Christensen A, Richter E.A, Bangsbo J (2001).**Allantoin formation and urate and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. *Free Radic Biol Med*, 31, (11) 1313-22.
57. **Heng MC. (2010).** Curcumin targeted signaling pathways: Basis for anti-photoaging and anti-carcinogenic therapy. *Int J Dermatol*.49:608-22.
58. **Henzen C. (2003).** Traitement aux glucocorticoïdes: risques et effets secondaires. *Forum Med Suisse*, **3 (9)**, 442-446.
59. **Hong J.R, Lin G.H, Lin C.G, Wang W.P, Lee C.C, Lin T.L, Wu J.L.. (2002).**

I

60. **Inoue M., Hayashi S. (2021)** Blessings of Medicinal Plants—History and Prospects. In: Ekiert H.M., Ramawat K.G., Arora J. (eds) *Medicinal Plants. Sustainable Development and Biodiversity*, vol 28. Springer, Cham
61. **Itokawa H., Shi Q., Akiyama T., Morris-Natschke S.L., Lee K.H. (2008).** Recent advances in the investigation of curcuminoids. *Chin. Med*.1:3. doi: 10.1186/1749-8546-3-11.

J

62. Jaggi Lal. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*. June 2012; 1(7): 11–17.
63. **Jan 2015**;4(special issue) NCSC

- 64. Jayaprakasha G.K., Jagan L., Rao M., Sakariah K.K. (2005).** Chemistry and biological activity of *Curcuma longa*. *Trend Food Sci. Technol.*16:533–548.
- 65. JOHNSON J.J., MUKHTAR H. (2007).** Curcumin for chemoprevention of colon cancer. *Cancer Letters* 255
- 66. Jurenka J (2009).** Ageing free radicals and cellular stress, *Med. Sci (Paris)*, 22(3): 266-272.

K

- 67. K. F., & Etherton, T. D. (2002).** Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American journal of medicine*, 113(9), 71-88.
- 68. K. F., ... & Etherton, T. D. (2002).** Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American journal of medicine*, 113(9), 71-88.
- 69. KANG B Y, SONG Y J, KIM K -M, CHOE Y K, HWANG S Y, ET KIM T S. (1995).** Curcumin inhibits Th1 cytokine profile in CD4+ T cells by suppressing interleukin-12 production in macrophages.
- 70. Kardeh S, Ashkani-Esfahani S, Alizadeh A M. (2014).** Paradoxical action of reactive oxygen species in creation and therapy of cancer. *Eur J Pharmacol*, 735, 150- 168.
- 71. Karłowicz-Bodalska K, Han S, Freier J, Smolenski M, Bodalska A. (2017).** *Acta Pol Pharm. Mar*;74(2):605-61029
- 72. Kelly K. 2009** History of medicine. New York: Facts on file. pp. 29–50
- 73. Kessel L, Tendal B, Jorgensen K.J, Erngaard D, Flesner P, Andresen J.L, Hjortdal J. (2014).** Post cataract prevention of inflammation and macular edema by steroid and non steroidal anti-inflammatory eye drops. *Ophthalmol*, 121, 1915-1924.
- 74. Kevin W George., Jorge Alonso-Gutierrez., Jay D Keasling. Taek Soon Lee 2002.** *Flammarion Médecine – Sciences _ journées de diabétologie.*
- 75. Khanna S, Biswas S, Shang Y, Collard E, Azad A, Kauh C, et al. (2010).** Macrophage dysfunction impairs resolution of inflammation in the wounds of diabetic mice. *PLoS ONE*, 5, 953-959.
- 76. Khazdair MR, Kianmehr M, Anaeigoudari A. Adv (2021).** *Pharm Bull. Feb*;11(2):224-232. doi: 10.34172/apb.2021.026. Epub 2020 Jul 1
- 77. Knorr, S. Guilbert D.G. Hoover M. D Hubinger B. McKenna C. Stanton P. Taoukis**
- 78. Koffi, E., Sea, T., Dodehe, Y., & Soro, S. (2010).** Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twentythree Ivorian plants. *Journal of Animal and Plant Sciences (JAPS)*, 5(3), 550-558.
- 79. Kohen R, Nyska A.** Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, anti oxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*,
- 80. Koo E, Kimbal AB, Wanner M. (2016).** Cosmeceuticals. In: Griffiths C, Barker J, Bleiker T, Chalmers R, Creamer D, editors. *Rook's Textbook of Dermatology*. 9th ed. Oxford, UK: John Wiley & Sons p. 156.6.
- 81. Koolman J, Rohm K.H (1999).** *Atlas de Poche de Biochimie.* Flammarion: Paris.
- 82. Kordali S, Cakir A, Ozer AH, Cakmakci R, Kesdek M and Mete E (2008).** Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresour Technol*, 99 (18), 8788-8795.

83. **Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, Krishna M, Upendra K. (2012).** Enhancement of wound healing with roots of *Ficus racemose*
84. **Kumar V, Abul K A, Nelson F, Richard M (2007).** Robbins Basic
85. **Kusuda M, Inada K, Ogawa T.O, Yoshida T, Shiota T, Tsuchiya T and Hatano T (2006).**

L

86. **Lahmidani N, Mellouki I, El Yousfi M, Aqodad N, El Abkari M, Ibrahimi A, Benajah D (2012).** L'ulcère bulbaire hémorragique et les anti-inflammatoires non stéroïdiens: quelle gravité de l'accident hémorragique Bleeding peptic ulcer and Non steroidal Anti Inflammatory Drugs: what severity of bleeding. *J Afr Hépatol Gastroentérol*, **6**, 193-195.
87. **Lambole V, Upendra K. (2012).** Effect of *Moringa oleifera* Lam. on normal and dexamethasone suppressed wound healing. *Asian Pac J Tropic Biomed*, **2**, 219-223.
88. **Lantzouraki, D. Z., Sinanoglou, V. J., Tsiaka, T., Proestos, Ch., & Zoumpoulakis, P. (2015).** Total phenolic content, antioxidant capacity and phytochemical profiling of grape and pomegranate wines. *RSC Advances*, **5**, 101683–101692.
89. **Lecerf, J. M. (2012).** Effets métaboliques du Curcuma (obésité, lipides circulants, insulino-résistance, diabète et athérosclérose). *Phytothérapie*, **10(2)**, 100-104
90. **Lloyd M.M., Grima M.A., Rayner B.S., Hadfield K.A., Davies M.J., Hawkins C.L. (2013).** Comparative reactivity of the myeloperoxidase-derived oxidants hypochlorous acid and hypothiocyanous acid with human coronary artery endothelial cells. *Free Radic Biol Med*, **65**, 1352-1362.
91. **Ly, T. N., Shimoyamada, M., Kato, K., & Yamauchi, R. (2003).** Isolation and characterization of some antioxidative compounds from the rhizomes of smaller galanga (*Alpinia officinarum* Hance). *Journal of agricultural and food chemistry*, **51(17)**, 4924-4929.

M

92. **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques
93. **Mahmoud Koudayri Olgah. (2020).** bioavailability of curcumin; problems and promises *Mol pharm.*
94. **Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L). *Nature & Technology*, (9), 35.
95. **Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L). *Nature & Technology*, (9), 35.
96. **Majdalawieh A.F, Fayyad M.W. (2015).** Immunomodulatory and anti-inflammatory action of *Nigella sativa* and thymoquinone: A comprehensive review. *Int Immunopharmacol*, **28**, 295-304.
97. **Malle M, Gogny M. (2014).** Anti-inflammatoires en médecine vétérinaire. *J EMC Vet*, 1-12.

- 98. Margaritis I, Palazzetti S, Rousseau AS, Richard MJ, Favier A (2003).** Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise- induced antioxidant response. *J Am Coll Nutr*, **22**, (2) 147-156
- 99. Martinez-Cayuela M (1995).** Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, **77**, 147- 161.
- 100. Mau J., Lai E.Y.C., Wang N.P., Chen C.C., Chang C.H., Chyau C.C. (2003).** Composition and antioxidant activity of the essential oil from *Curcuma zedoaria*. *Food Chem.*82:583–591.
- 101. Meggs, Philip B. 1998.** A History of Graphic Design. John Wiley & Sons, Inc. (p 25)
- 102. Mesaros N, Bambeke F.V, Avrain L, Glupczynski Y, Vanhoof R, Plesiat P, Tulkens P.M (2005).** L'efflux actif des antibiotiques et la résistance bactérienne : état de la question et implications. *La lettre de l'infectiologue-Tome xx-n°4*.
- 103. Mondello L, Lewis AC, Bartle KD, Marriott PJ. 2002.** Multidimensional Chromatography. John Wiley & Sons Ltd. Baffins Lanes, Chichester, West Sussex PO19 1UD, England. Chapter 3 and 4, pp47-108.
- 104. Muzamal I, Robert V, Korthout H, Mustafa N.R. (2013).** Phytochemicals as apotential source for TNF- α inhibitors. *Phytochem Rev*, **12**, 65-93.

N

- 105. Nahar L. 2013.** Chemistry for Pharmacy Students: General, Organic, and Natural Product Chemistry. John Wiley Sons Inc 1-383.
- 106. Nambiar, M.C., Thankamma Pillai, P.K. and Sarma, Y.N. (1982)** Seedling propagation in turmeric (*Curcuma aromatica* Salisb). *J. Plantation Crops*, **10**, 81-85.
- 107. Nazeem, P.A., Menon, R. and Valsala. P.A. (1994)** Blossom, biological and hybridization studies in turmeric (*Curcuma* spp.). *Indian Cocoa Arecanut and Spices J.*, **16**. 106-109.
- 108. Nigam, M. C.; Ahmed, A. (1991).** *Curcuma longa*: terpenoid composition of its essential oil. *Indian Perfumer*, **3**, 201-205
- 109. Nordberg J, Arnér E.S.J. (2001).** Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Rad Biol Med*, **31**, 1287-1312.
- 110. NOTARBARTOLO M, POMA P, PERRI D, et al (1992)** *Nut Clin Metabol*, **20**, 48-53 ,*Nutr Cancer* **17**:77–83

P

- 111. Pandey A.K P. Kumar, P. Singh, N.N. Tripathi, V.K. Bajpai** Essential oils: Sources of antimicrobials and food preservatives *Frontiers in Microbiology*, **7** (2017)
- 112. Paré JRJ, Sigouin M, Lapointe J. 1990.** Extraction de produits naturels assistée par micro-ondes. *Brevet européen*, EP 398798.
- 113. Parry, J. W. (1969).** Spices. Vol I. The story of spices and spices described. Vol II (Morphology. histology and chemistry). New York: Chemical Publishing.
- 114. Pathak, S., Patra. B.C. and Mahapatra, K.C. (1960)** Flowering behaviour and anthesis of *Curcuma longa*. *Curr. Sci.*, **29**, 402
- 115. Paul, B., Munshi, M., Ahmed, M., Saha, G., & Roy, S. (2011).** The Fatty Acid Composition and Properties of Oil Extracted from Fresh Rhizomes of Turmeric

(*Curcuma longa* Linn.) Cultivars of Bangladesh. Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research, 46(1), 127–132.

116. **Pincemail J, Jacques L, Emmanuel C, Castiaux J.P, Defraigne J.O (2001).** Stress oxydant, antioxydants et exercice physique. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, **6**, N°5, 1-3.
117. **Pinkham Medical 2170 Riverside Dr. Ste A Columbus, OH 43221 (2022)**
118. **Pisoschi A.M, Pop A. (2015).** The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem*, **97**, 55-74.
119. **Prasad S (2014)** “Recent Developments in Delivery, Bioavailability, Absorption and Metabolism of Curcumin: the Golden Pigment from Golden Spice”. *Cancer Res Treat.*, **46**(1), 2- 18
120. **Prin L, Hachulla E, Hennache B, Bonnotte B, Dubucquoi S, Abbal M, Faure G,Bouletreau P. (2009).** Available from: http://w3med.univlille2.fr/inflammation/documents/Immuno_1.pdf

Q

121. **Quinones M, Miguel M, Aleixandre A. (2013).** Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease . *Pharmacol Res*, **68**(1), 125-131.

R

122. **Raedschelders K, Ansley D.M, Chen D.D.Y. (2012).** The cellular and molecular origin of reactive oxygen species generation during myocardial ischemia and reperfusion. *Pharmacol Ther*, **133**, 230-255.
123. **Reanmongkol W., Subhadhirasakul S., Khaisombat N., Fuengnawakit P., Jantasila S., Khamjun A. (2006).** Investigation the antinociceptive, antipyretic and anti-inflammatory activities of *Curcuma aeruginosa* Roxb. extracts in experimental animals. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **28**:999–1008
124. **Remote Sens.2021,13, 1807**
125. **Reverchon E, De Marco I. 2006.** Supercritical fluid extraction and fractionation of natural Matter. *J. of Supercritical Fluids*, **38** : 146-166
126. **Rodríguez Castaño P, Parween S, Pandey AV. Int J Mol Sci. 2019 Sep 17;20(18):4606. doi: 10.3390/ijms20184606**
127. **Roifman I, Beck P.L, Anderson T.J, Eisenberg M.J, Genest J. (2011).** Chronic inflammatory diseases and cardiovascular risk: a systematic review. *Can J Cardiol*, **27**, 174-182.

S

128. **SAKARIAH K.K. 2006** Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Food Chemistry* **98**.720-724.
129. **Sarker SD, Nahar L. 2013** Chemistry for Pharmacy Students: General, Organic, and Natural Product Chemistry. John Wiley Sons Inc 1-383
130. **Sasikumar B. 2005** Genetic resources of *Curcuma*: Diversity, characterization and utilization. *Plant Genet Resour.* **3**:230-51.

131. **Sayre L.M, Moreira P.I, Smith M.A, Perry G (2005).** Metal ions and oxidative proteinmodification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità*, **41**, (2) 143-164.
132. **Sayre L.M, Moreira P.I, Smith M.A, Perry G (2005).** Metal ions and oxidative proteinmodification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità*, **41**, (2) 143-164.
133. **Selloum L, Bouriche H, Tigrine C, Boudoukha C. (2003).** Anti-inflammatory effect of rutin on rat paw oedema, and on neutrophils chemotaxis and degranulation. *Ex Toxicol Pathol*, **54(4)**, 313- 318
134. **Serhan C.N, Savill J (2005).** Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *NatImmunol* , **6**, 1191-7.
135. **Serhan C.N. (2007).** Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annu Rev Immunol*, **25**, 101-37.
136. **Shaffrathul JH, Karthick PS, Rai R, Srinivas CR. 2007.** Turmeric: Role in hypertrichosis and acne. *Indian J Dermatol*.52:116
137. **Sharifi-Rad J, Rayess YE, Rizk AA, Sadaka C, Zgheib R, Zam W, Sestito S, Rapposelli S, Neffe-Skocińska K, Zielińska D, Salehi B, Setzer WN, Dosoky NS, Taheri Y, El Beyrouthy M, Martorell M, Ostrander EA, Suleria HAR, Cho WC, Maroyi A, Martins N.2020.** *Front Pharmacol*.Sep 15;11:01021. doi: 10.3389/fphar.2020.01021. eCollection 2020.
138. **SHARMA H, SINGH N.** Sensitization of taxol-induced apoptosis by curcumin involves down-regulation of nuclear factor-kappaB and the serine/threonine kinase Akt and is independent of tubulin polymerization
139. **Shen L, Ji H-F 2012.** The pharmacology of curcumin: is it the degradation products? *Trends Mol Med*, 18(3):138-144. 10.1016/j.molmed.2012.01.004
140. **SHISHODIA S, SINGH T, CHATURVEDI MM.**Modulation of transcription factors by curcumin **1996**
141. **Shiyou Li , Wei Yuan, Guangrui Deng, Ping Wang, Peiying Yang. 2011.** Chemical Composition and Product Quality Control of Turmeric (*Curcuma longa* L.) *Pharmaceutical Crops*, Volume 2 33
142. **Sikha A., Harini A., Prakash H. (2015).** Pharmacological activities of wild turmeric (*Curcuma aromatica* Salisb): A review. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 3:1–4.
143. **Singh G., Singh O.P., Maurya S. (2002).** Chemical and biocidal investigations on essential oils of some Indian *Curcuma* species. *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.* 45:75–81. doi: 10.1016/S0960-8974(02)00030-X
144. **Songklanakarin J. Sci. Technol. 2006.** 28:999–1008. [Google Scholar]
145. **Steinbeck M.J, Khan A.U, Karnovsky M.J (1993).** Extracellular production of singlet oxygen by stimulated macrophages quantified using 9, 10-diphenylanthracene and perylene in a polystyrene film. *J. Biol. Chem*, **268**, 15649-15654.
146. **Stevens A, Lowe J. (2009).** *Core Pathology*. Ed Mosby Elsevier, China, 50-54.
147. **Stojanoski N. (1999).** Development of health culture in Veles and its region from the past to the end of the 20th century. *Veles: Society of science and art*.13–34.Structural relationship of curcumin derivatives binding to the BRCT domain of human DNApolymerase lambda.
148. **Sultan S. (2014).** Reviewing the protective role of antioxidants in oxidative stress caused by free radicals. *Asian Pacific Journal of Health Sciences*. 1(4):401-406)

149. **Sultan S. (2014).** Reviewing the protective role of antioxidants in oxidative stress caused by free radicals. *Asian Pacific Journal of Health Sciences*.1(4):401-406

T

150. **Tchiégang, C., & Bourely, J. (1990).** Analyses chromatographiques des composés phénoliques d'amandes de graines de cotonniers (*Gossypium hirsutum* L. et *G. barbadense* L.).
151. **Tréchet P, Jouzeau J.Y (2014).** Bases chimiques et pharmacologiques des AINS: Chimicaland pharmacological basics of NSAIDs, *Rev fr Allergol*, **54** (3), 212–217.
152. **Tsuchiya H and Linuma M (2000).** Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from *Sophora exigua*. *Phytomedicine*, **7**, 161-165.

U

153. **Ulanowska K, Traczyk A, Konopa G, Wegrzym G (2006).** Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch Microbiol*, **184** (5), 271-8.

V

154. **Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. (2009).** Free radicals enhance metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, **160**(1),1-40.
155. **Vaubourdolle M. (2013).** Infection ,4eme Ed. Walters Climers. **Pp**,183
156. **Velayudhan, K. C., Muralidharan. V. K., Amalraj, V. A., Gautam, P. L., Mandal, S., & Kumar, D. (1999).** Curcuma genetic resources (Scientific monograph no. 4, pp. 149) New Delhi: National Bureau of Plant Genetic Resources.
157. **Ventola C.L. (2007).** The antibiotic resistance crisis: Causes and threats ,*PMC J.* **40**, 277– 283.

W

158. **Weill B, Batteux F, Dhainaut J (2003).** Immunopathologie et reactions inflammatoires. Eds, De Boeck Universite (Paris), 12-23
159. **Weill B, Batteux F, Dhainaut J (2003).** Immunopathologie et reactions inflammatoires. Eds, De Boeck Universite (Paris), 12-23
160. **Wilson B., Abraham G., Manju V.S., Mathew M., Vimala B., Sundaresan S., Nambisan B. 2005** Antimicrobial activity of Curcuma zedoaria and Curcuma malabarica tubers. *J. Ethnopharmacol.* 99:147–151. doi: 10.1016/j.jep.2005.02.004
161. **Wiyasiriwardene T.D.C.M.K., Premakumara G.A.S. 2017.** Comparative GC-MS analysis of all Curcuma species grown in Sri Lanka by multivariate test. *Ruhunu J. Sci.*8:1–9. doi: 10.4038/rjs v8i2.29. [CrossRef] [Google Scholar]

Y

- 162. Yoon J.H, Baek S G. (2005).** Molecular targets of dietary polyphenols with anti-inflammatory properties, *Yonsie Med J.* **46(5)**, 585-596.

Z

- 163. Zhang D.X, Gutterman D.D (2007).** Mitochondrial reactive oxygen species-mediated signaling in endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **292**, 2023-2031.