

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de BLIDA -1
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de Biologie et physiologie cellulaire



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme
MASTER II en biologie
Option : Génie biologique
Thème

**Etude de l'effet anti oxydant et anti
ulcéreux de quelque extraits du
*curcuma longa l.***

Soutenu le 21/05/2015 à 11^{h30}

Présenté par :

➤ **DAMIR Asmaa**

Devant le jury composé de :

Mme OUARAB S.	MCA UB1	Présidente
Mr OUSSADOU L.	MAA UB1	Examineur
Mr BESSAAD M.A	MCB UB1	Promoteur

Promotion : 2014-2015

Liste des abréviations

AINS : anti inflammatoire non stéroïdien

Aq : décocté (extrait aqueux)

C. longa : *curcuma longa*

CRAPC : centre de recherches scientifiques et analyses physico-chimiques

CRD : centre de recherche et développement

CUR : Curcumunoides

DMSO: Le diméthylsulfoxyde

DO : Densité Optique (absorbance).

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

Earlene: earlenemeyer

FAO: *Food and agronomic organization*

FRAP : *Ferric reducing antioxidant power*

HE : Huile essentielle

HP: *Helicobacter pylori*

IPP: Inhibiteur de la pompe à protons

Omeprazole : Omeprazole

pH : Potentiel hydrogène

Ranitidine : Ranitidine

ROS: *réactif oxygène species*

TCA : tri chloroacétique

Liste des figures

N° de figure	Titre de figure	page
Figure 01	Aspect général de <i>Curcuma l.</i>	03
Figure 02	Rhizome frais de <i>Curcuma longa</i>	04
Figure 03	Structure de la curcumine et de ses principaux dérivés	07
Figure 04	Présentation de différents compartiments de l'estomac	11
Figure 05	Schéma, représentant les types d'ulcères gastriques en coupe transversale	12
Figure 06	Structure chimique de la Ranitidine	13
Figure 07	Structure chimique de l'omeprazole	14
Figure 8	Illustration montrant a) Rhizome séché b) poudre de curcuma	15
Figure 9	Présentation de plan de travail expérimentale	16
Figure 10	protocole d'extraction des flavonoïdes	18
Figure11	Photo montre la concentration au rota vapeur	19
Figure 12	Protocole d'extraction de curcumine	20
Figure 13	Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation	21
Figure 14	protocole d'évaluation de l'activité anti oxydante	23
Figure 15	Inoculation des traitements par gavage	24
Figure 16	Protocole d'ulcération	25
Figure 17	La dissection et le prélèvement de l'estomac	26
Figure 18	figure montrant nos Différents extraits obtenus de <i>C. longa</i> : a) Extrait de flavonoïdes, b) Curcuminoïde, c)Extrait aqueux	30
Figure 19	Illustration des phases de l'extrait de curcumine a) L'extait actif b) Cristaux de curcumine sous microscope photonique grossissement $\times 12$, c) La curcumine dilué dans le DMSO	32
Figure 20	Pouvoir réducteur de curcuminoïdes et de l'acide ascorbique par la méthode FRAP	33
Figure 21	Pouvoir réducteur par la méthode FRAP des fractions flavonoïdes et de l'acide ascorbique en fonction de leur concentration : 1) 0.1mg/ml, 2) 0.3 mg/ml, 3) 0.7 mg/ml , 4)1.25 mg/ml, 5) 2.5 mg/ml	34

Figure 22	Etude macroscopique de l'estomac: a) estomac normal, b) estomac après traitement ulcérogène (flèches)	35
Figure 23	Coupe d'estomac normale d'un rat du lot témoin	39
Figure 24	Métaplasie gastrique chez un rat du lot test 3 (curcumine) et 4 (extrait aqueux)	39
Figure 25	Illustration des congestions chez un rat du lot 3 et 4	40
Figure 26	Illustration de l'inflammation chez un rat a-lot du test (extrait aqueux), b-lot du test(curcumine)	41

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre de tableau	N° page
Tableau I	Classification et activités biologiques des composés polyphénoliques	06
Tableau II	tableau des cotations des ulcères	24
Tableau III	Résultats d'extraction des flavonoïdes	29
Tableau IV	Résultat d'extraction de curcuminoïde	30
Tableau V	Rendement et caractères organoleptiques de l'huile essentielle de <i>Curcuma longa</i> .	31
Tableau VI	Tableau récapitulatif avec l'indice d'ulcération	36

Table de matiere

INTRODUCTION

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I-1-Généralités	2
2-Originé géographique et commercialisation	2
3-Usage.....	2
4-1- Description botanique de la plante.....	2
4-2- Classification systématique.....	4
4-3- Etymologie.....	5
4-4- La poudre	5
5-Composition de curcuma (Métabolites secondaires).....	5
A-Les poly phénols.....	5
B-L es huile essentielle.....	8
6-Activités biologiques.....	10
6-1-Effet anti oxydant.....	10
6-1-1-Définition	10
6-1-2-Pouvoir anti oxydant de la curcumine.....	10
6-2-Effet anti ulcéreux.....	10
6-2-1-Quelques notions élémentaires	10
6-2-2-Définition de l'ulcère	11
6-2-3- Facteurs favorisant l'ulcération.....	12
6-2-4-Traitement et prévention des lésions induites par AINS.....	13

MATERIEL ET METHODES

1-Matériel biologique.....	16
2-Méthodes d'extraction.....	16
a* L'extrait aqueux.....	16
b* Extraction des flavonoïdes	17
c. Extraction des curcuminoïdes (l'extrait actif).....	19
d-Extraction des Huiles essentielles	20

Table de matiere

3- Etudes des activités biologiques.....	22
3-1-Pouvoir anti oxydant (<i>in vitro</i>).....	22
Teste de FRAP : (<i>Ferric reducing antioxidant power</i>)	22
3-2-Effet antiulcéreux (<i>in vivo</i>).....	23
3-3-Etude histologique	26
VI- Evaluation statistique	28
RESULTATS ET DISCUSSION	
1. Extraction, rendement et caractéristiques organoleptiques.....	29
1.1. La décoction.....	29
1.2. Extraction des flavonoïdes	29
1.3. Extraction des Curcuminoïdes.....	30
1.4. Extraction de l'huile essentielle	31
2. Etude des activités biologiques.....	31
2.1. Effet anti-oxydant (<i>in vitro</i>).....	31
2.2. Effet antiulcéreux (<i>in vivo</i>)	35
3-Evaluation de l'effet anti-ulcération via l'évolution pondérale des rats.....	37
4- Evaluation histopathologique	38
CONCLUSION	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.	
ANNEXES	

RESUME

Plusieurs travaux scientifiques ont étudiés le curcuma et ses vertus médicinales d'où l'intérêt de notre étude, nous avons réalisé l'extraction de différents constituants de la poudre de curcuma essentiellement les métabolites secondaires tels que les composés phénoliques principalement les curcumunoides avec un rendement de 3.96%, les flavonoïdes 2.8%, l'huile essentielle (HE) 0.8 % et enfin l'extrait aqueux.

Nous avons testé quelques activités pharmacologiques des différents extraits de curcuma tel que l'évaluation *in vitro* du pouvoir antioxydant par la méthodes de *FRAP* qui présente un résultat notable et comparable à celui de l'acide ascorbique.

L'évaluation du pouvoir anti ulcéreux, *in vivo*, chez les rats *WISTAR*, est réalisée par le suivi du calcul des indices d'ulcération qui ont montré une réduction notable d'ulcération accompagné d'une prise de poids de façon significative ($p < 0.05$).

L'étude histologique des estomacs des rats traités par l'extrait actif et aqueux a montré une bonne reconstitution cellulaire.

On peut considérer que l'effet antioxydant du curcuma est établi et que son effet antiulcéreux est notoire mais mérite des travaux supplémentaire pour le confirmer et affiner la dose précise et nécessaire pour un rendement optimal.

Mots clés : *Curcuma longa*, flavonoïdes, curcumunoides, test antioxydant, test antiulcéreux.

هـ العلاجية المختلا حيث أجريت العديد من مية
هذا الصدد، ومن هنا تأتي أهمية دراستنا حيث قمنا في البداية باستخراج بعض مستخلصات
الكرم منها المركبات الفينولية كالكرم نويد و الفلافونويد، الزيت الأساسي (الزيت العطري) وأخيرا
الدراسة الكمية لهذه المركبات النتائج التالية على
الترتي 3.96 ، 2.8 ، 0.8 .

في المرحلة الثانية قمنا بتقييم بعض الدوائية لمختلف مستخلصات الكرم وهي
الكرم نويد و الفلافونويد والتي
لحمض الاسكريك .

تقييم قوة الشفاء عن طريق مضاد القرحة
أجريت ثم من خلال حساب النسب المئوية لتخفيض حدة
القروح تبين أنها قد تبين بشكل ملحوظ ومرفقة بزيادة معتبرة في الوزن.

اظهر الفحص النسيجي لمعدة الفئران المعالجة بالمستخلص النشط والم
المعدية بشكل مثالي.

يمكننا اعتبار تأثير ، تأثير
قد تبين ولكن يحتاج تحديد الجرعة المناسبة من اجل مردود

المفتاحية:

الكرم الطويل ، كالكرم نويد ، الفلافونويد ،

Abstract

Turmeric (*Curcuma longa*) is recognized by its various therapeutic virtues, where several scientific studies has been reported on this plant. Hence the importance of the study that we done. So we started by extracting the secondary metabolites such as phenolic compounds: curcuminoids at 3.96%, 2.8% of flavonoids, 0.8% of essential oil and finally the aqueous extract.

At second step, we were testing the flavonoids extracts and active extract on the anti-oxidant power witch given a similar result as ascorbic acid.

The evaluation of the healing power of anti ulcer with curcuminoids and aqueous extract ,then the evolution of healing by calculating the reduction percentage of ulceration is clear, however it is accompanied by weight gain .

Histological examination of the rat stomach treated by curcuminoids and aqueous extract showed a perfect cellular reconstitution.

We can consider that the antioxidant power of turmeric is established and its anti-ulcer effect is known but it deserves further works to confirm and refine the precise dose for an optimal performance.

Keywords: *Curcuma longa*, flavonoids, curcuminoids, antioxidant test, anti-ulcer test.

INTRODUCTION

Le curcuma, *Curcuma longa* L., est une plante vivace appartenant à la même famille que le gingembre (*Zingiberaceae*). Il est intensivement employé comme épice, conservateur et colorant en Inde. Ainsi il est traditionnellement recommandé dans le traitement de différentes pathologies. (**Chattopadhyay et autres, 2004**).

Plusieurs chercheurs se sont intéressés aux plantes médicinales en l'occurrence le curcuma pour sa richesse en antioxydants naturels à savoir les polyphénols et les flavonoïdes ainsi que ses effets antimicrobiens et anti ulcéreux.

L'organisme humain est doté de systèmes de protection naturels qui lui permettent de garder son équilibre. Il arrive cependant que cet équilibre soit menacé. L'estomac est pourvu d'une muqueuse protectrice qu'il soit attaqué par des agents internes ou externes engendrant les ulcères gastriques.

L'ulcère gastrique est une érosion multifactorielle atteint initialement la muqueuse de l'estomac et peut franchir les couches les profondes (**Sherwood, 2006**), Il se produit en cas de brèche dans la muqueuse permettant à l'acide chlorhydrique d'attaquer la paroi gastrique. Par ailleurs c'est une maladie infectieuse car elle est causée par l'*Helicobacter pylori*, psychogènes induite par le stress.

Notre étude vise à :

- L'évaluation du pouvoir anti oxydant de l'extrait actif par la méthode de FRAP.

- L'évaluation de l'efficacité thérapeutique de l'extrait aqueux et actif des rhizomes de *curcuma longa* sur l'ulcères gastriques induits chez les rats mâles par les anti inflammatoires non stéroïdiens(AINS) comparé à deux médicaments de référence ranitidine et omeprazole .

-L'évaluation histologique des estomacs après traitement.

Lieu de stage

Notre travail expérimental s'est effectué durant une période de 03 mois (de mai 2014 à Juillet 2014) où la quasi totalité de notre travail a été réalisée à SAIDAL d'El Harrach. Nous avons procédé à l'extraction de notre poudre végétale et aux tests biologiques Anti oxydants et anti ulcéreux.

Une autre partie du travail a été effectuée au niveau du centre de recherche scientifique et analyses physico chimiques (CRAPC) de Bou Ismail où a été réalisée l'extraction des essences végétales (HE).

Une dernière partie de test histopathologique a été réalisée au niveau de l'hôpital FRANTZ FANON de Blida.

Matériel et méthodes

1-Matériel biologique

1-1-La poudre

La poudre est obtenue à partir des rhizomes de *curcuma longa* d'origine indienne séchés et moulu chez un herboriste de l'Arbaa-blida- qui nous en a fourni 600g. Elle est de couleur jaune orangée.

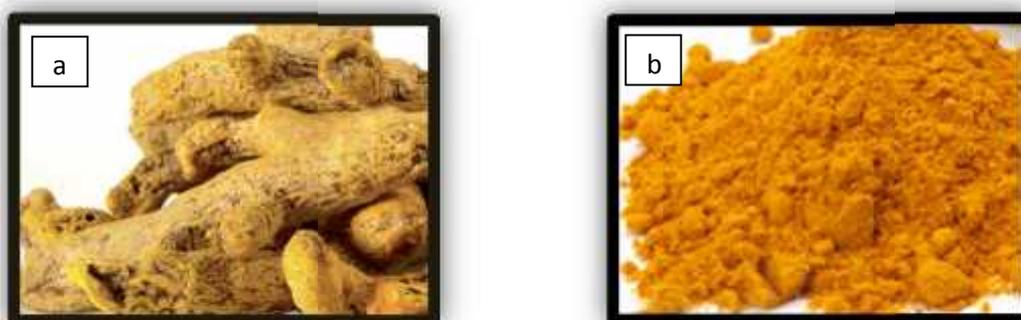


Figure 8 :Illustration montrant a) Rhizome séché b) poudre de curcuma (**Originale,2014**)

1-2-Les animaux :

Nous avons utilisé des animaux qui ont été acheté auprès de l'institut Pasteur d'Algérie, 30 rats de souche WISTAR de sexe mâles et de poids compris entre 160 et 200g. Ces rats ont été hébergés, au niveau de l'animalerie du (CRD), dans des cages en plastique et

nourris par alimentation granulée et l'eau du robinet *ad libitum* avec une température de 26°C et d'éclairage de 12h.

2-Méthodologie

Afin d'effectuer notre étude nous avons travaillé sur 4 extraits.

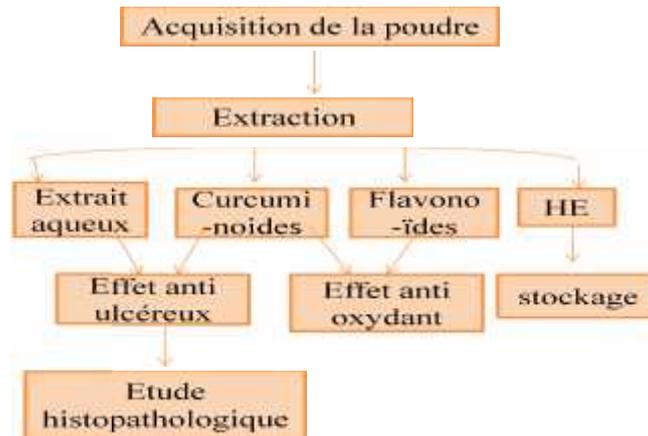


Figure 9 : Plan de travail expérimentale (Originale ,2014)

a- L'extrait aqueux:

Nous avons effectué une décoction aqueuse à 10 %, une valeur qui nous rapproche des doses utilisés traditionnellement (quantité faible).

Dans un erlenemeyer, 10g de poudre végétale sont ajoutés à 100 ml d'eau distillée, le tout est bien mélangé puis porté à ébullition sur une plaque chauffante à 90 °C pendant 1 heure. La solution aqueuse est reprise et filtrée plusieurs fois sur un papier filtre puis sur un papier Whatman. Le filtrat a été conservé à 4 °C pour les différents activités biologiques.

b- Extraction des flavonoïdes

L'extraction des flavonoïdes a été réalisée par la méthode décrite par (Markhan, 1982)

Dans un erlenmeyer, 50 g de poudre végétale de curcuma ont été mélangé à avec 100 ml de méthanol. Le mélange est laissé sous agitation mécanique pendant 24h heures à la température ambiante

Les résidus secs obtenus par évaporation du filtrat méthanolique sont récupéré avec 50 ml d'eau distillée bouillante, nous avons obtenu un extrait aqueux qui est traité par une série de solvants organiques.

*Dans une ampoule à décanter, l'extrait aqueux est repris avec 50 ml de chloroforme, le tout est bien agité et dégazifié , deux phases sont formées on récupère celle qui est chloroformique (sédimenté au fond de l'ampoule) puis nous avons répété l'opération 2 à 3 fois, le lavage au chloroforme permet d'éliminer des impuretés.

*L'extrait aqueux est repris avec 50 ml d'éther diéthylique , le tout est bien agité , puis laissé décanter, la phase diéthylique surnage où l'extrait aqueux est récupérée, nous avons répété l'opération 2 à 3 fois pour faire isoler les composés phénoliques simples tels que les acides phénols et flavones lipophiles.

*L'extrait aqueux est partagé avec 50ml d'acétate d'éthyle, le tout est bien agité, puis laissé décanter, la phase d'acétate d'éthyle est récupérée, nous avons la répété plusieurs fois, l'acétate permet d'éliminer les monosides et entraîne les aglycones, les mono-glycosides et partiellement les di-O-glycosides.

*L'extrait aqueux est repris avec 50 ml de n-butanol, après décantation, la phase butanolique est récupérée, le butanol sert à entraîner les flavonoïdes.

Les différents extraits sont filtrés puis concentré à l'aide de rotavapeur rotatif sous pression réduite à 60°, le rendement de chaque extrait est calculé puis conservés dans des flacons stériles à 4°C.

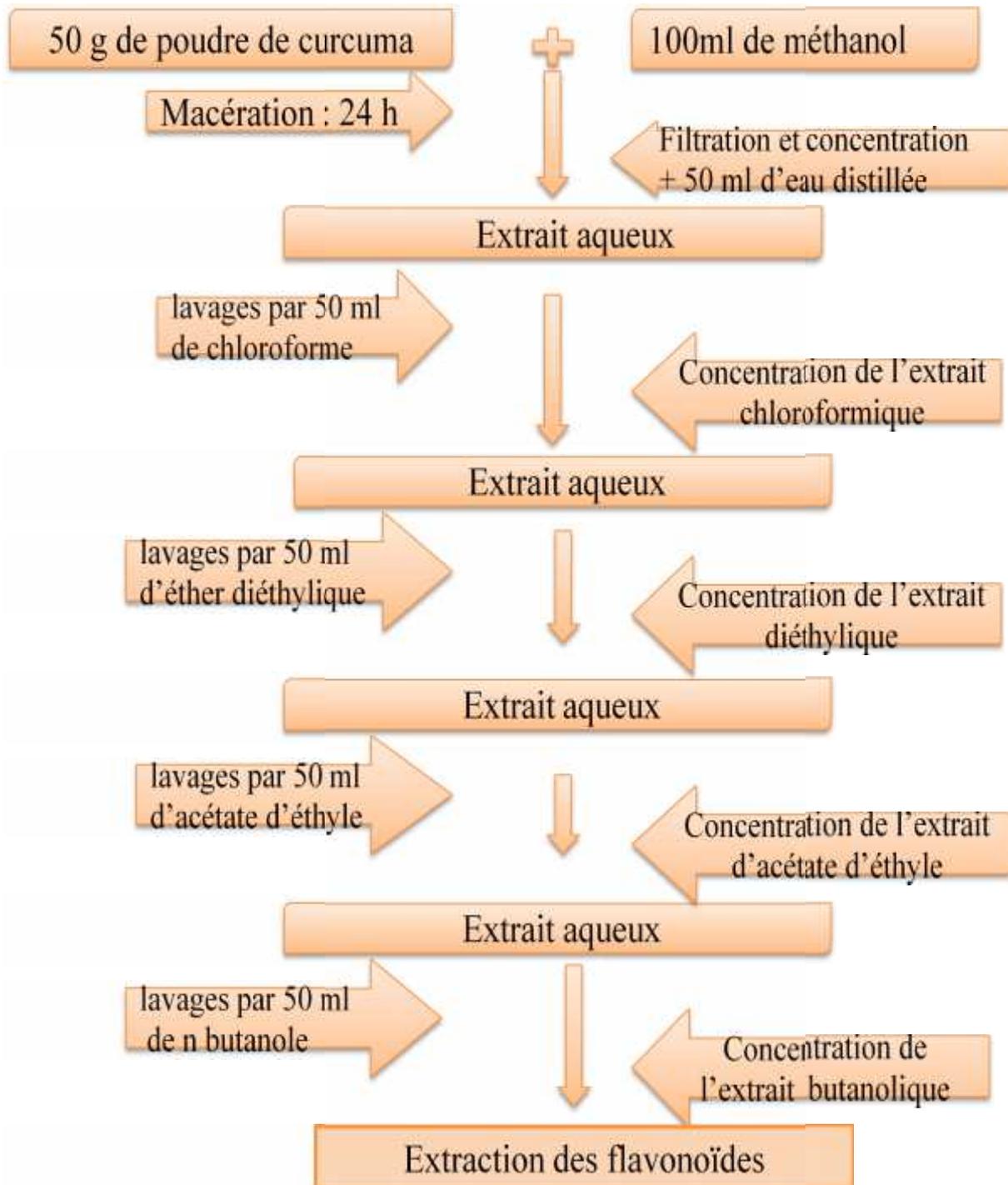


Figure 10:schéma du protocole d'extraction des flavonoïdes (Originale,2014)

c-Extraction des curcuminoïdes (l'extrait actif)

Les curcuminoïdes sont classiquement extraits par des solvants organiques à partir de la poudre de rhizome (FAO ,2001).

On met dans un erlenmeyer 50 g de poudre de curcuma avec 100 ml d'éthanol à 96%.

Le mélange est laissé sous agitation mécanique pendant 24h puis est filtré plusieurs fois (voir l'extrait aqueux). l'extrait éthanolique obtenu est concentré au rotavapeur (**Figure 11**) pour obtenir l'oléorésine de curcuma qui est traitée ensuite par 50ml d'éther de pétrole (**Andrew et al., 2000**).

L'éther de pétrole sert à séparer la curcumine (phase de couleur orange) qui est récupérée puis concentrée au rotavapeur. Le calcul du rendement utilise la formule suivante :

$$P\% = 100 \times (M' - M)$$

P% : du résidu sec obtenu.

M : masse initiale de l'erlenmeyer (vide).

M' : masse de l'erlenmeyer après concentration au rotavapeur.



Figure11 :Photo montre la concentration au rotavapeur(**Originale,2014**)

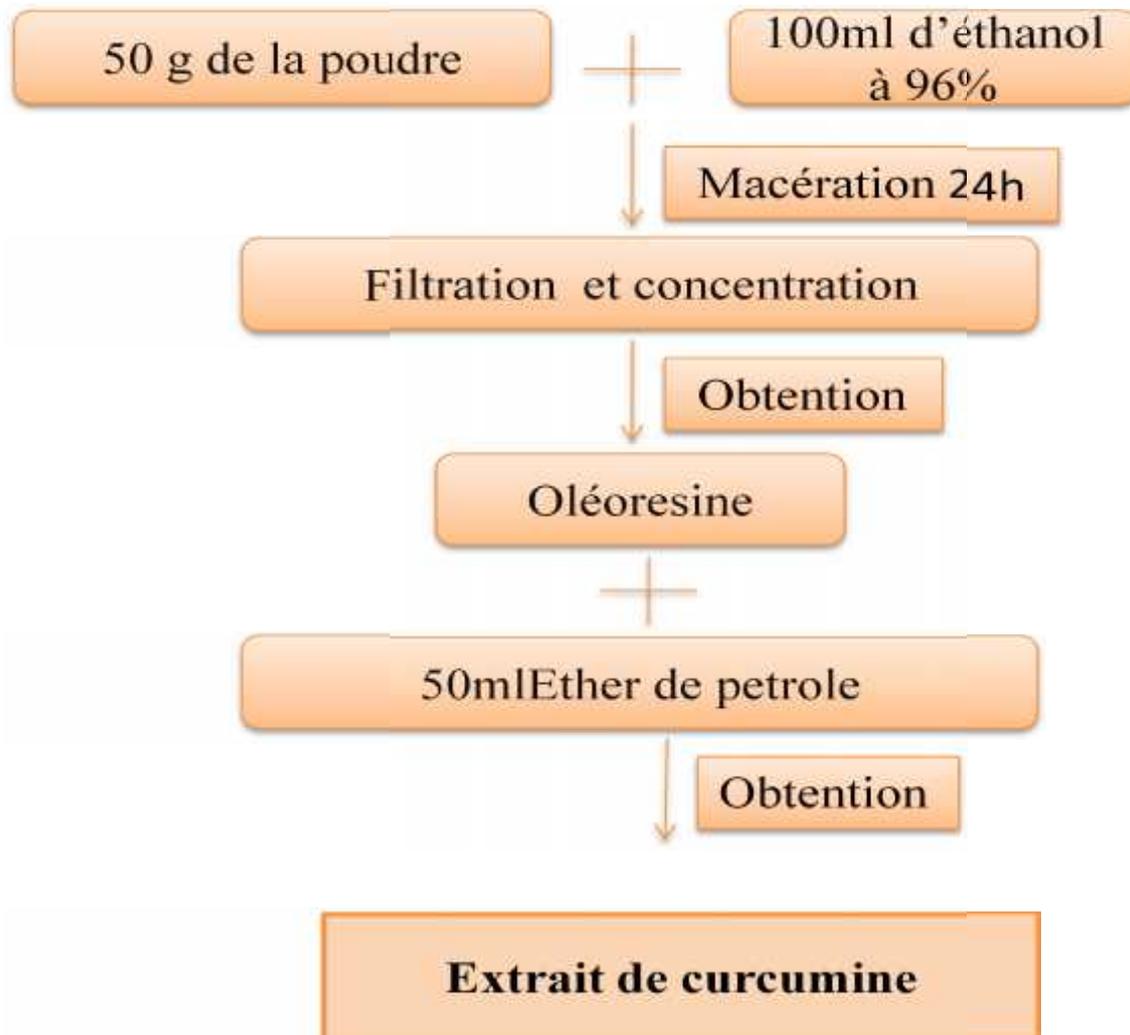


Figure 12: schéma du protocole d'extraction de curcumine (Originale,2014).

d-Extraction des Huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle a été faite par la méthode de l'hydrodistillation à l'aide d'un clevenger.

*Protocole :

100g de poudre végétal sèche sont introduits dans un ballon de deux litres, l'ensemble est porté à ébullition pendant 3 h. Les vapeurs chargées d'huile, en traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité (Beneteaud, 2011).

* Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante (Beneteaud, 2011) :

$$R\% = \frac{MHE}{MMV}$$

R% = rendement en huile essentielle.

MHE = masse de l'huile essentielle extraite.

MMV = masses de la matière végétale utilisée.



Figure 13: Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation (originale, 2014)

3- Etudes des activités biologiques

Pour connaître les propriétés thérapeutiques de *Curcuma l.*, nous avons étudié deux activités biologiques différentes.

3-1- *Pouvoir anti oxydant (*in vitro*)

- **Test de FRAP : (*Ferric reducing antioxidant power*) :**

Cette technique a été décrite par **Oyaizu 1986** dans le principe est de mesurer le pouvoir des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) sachant que le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle.

L'absorbance du milieu réactionnel est mesurée à 700 nm . Toute augmentation de l'absorbance est traduite par une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Hubert, 2006**).

- **Protocole**

1 ml de chaque extrait testé à différentes concentrations (de 0,007 à 2,5mg/ml) est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%.

Le tout est incubé à 50°C pendant 20 min , ensuite, 2.5ml d'acide trichloroacétique à 10% est ajouté .

Le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 10min. puis (2,5ml) de surnageant est additionné à 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ à 0,1%.

La lecture spectrale se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif utilisé est un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dans les mêmes conditions expérimentales.

La préparation de différentes solutions est mentionnée à l'annexe 2.

Le diagramme ci-dessous montre les différents étapes à suivre pour la réalisation du test FRAP qui est fiable et rapide.

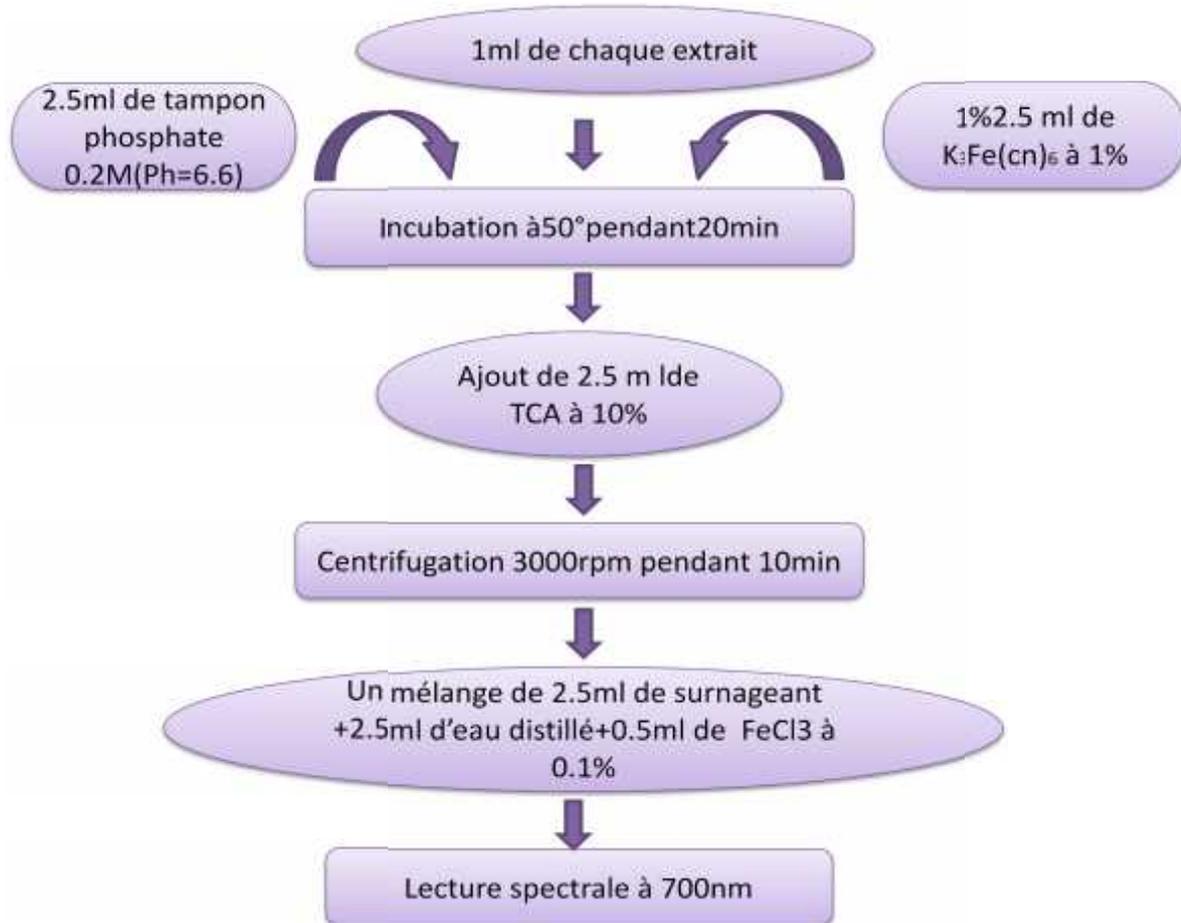


Figure 14 : Schéma du protocole d'évaluation de l'activité anti oxydante (Originale, 2014)

3-2-Effet antiulcéreux (*in vivo*)

a-Principe

Il consiste à évaluer l'action inhibitrice des différents extraits de *Curcuma* sur l'ulcère provoqué chez les Rats Wistar administré oralement (gavage) par une forte dose de (AINS).

b-Protocole expérimentale

Nous avons utilisé six lots de 5 rats qui ont été soumis à une diète hydrique de 18 heures avant la première administration du produit ulcérogène (AINS).

Au premier jour d'expérimentation, nous avons administré par voie orale à l'aide d'une sonde de gavage le DICLOFENAC L.P 75mg à forte dose (10mg /kg /jours) aux 5 lots correspondants sauf que Le lot de témoins négative est gavé par l'eau distillée



Figure 15: Inoculation des traitements par gavage (Photo originale, 2014).

Au quatrième jour, les rats du sixième lot (témoin positif) sont sacrifiés par la suite pour l'étude macroscopique des estomacs prélevés afin de confirmer l'état d'ulcération selon la cotation de **Lowff (1971)** résumé dans le **tableau II**.

Tableau II: tableau des cotations des ulcères d'après **Lowff (1971)**.

Score	Nombre d'ulcère
0	Pas d'ulcère
1	Un à deux d'ulcères
2	Trois à quatre d'ulcères
3	Plus de quatre d'ulcères

A partir du cinquième jour, Les autres lots sont traités comme suit jusqu'au 11^{ème} jour:

Et selon la Commission Européenne et l'O.M.S.

Lot témoin négatif : traité avec 2 ml d'eau distillé.

Lot de référence 1 : traité avec 2 ml de solution de Ranitidine à la dose de 5mg/kg.

Lot de référence 2 : traité avec 2ml de solution de l'Omeprazol à la dose de 0,66 mg/kg.

Lot essai 1 : traité avec 2 ml de solution de l'extrait aqueux à la dose de 50 mg/kg.

Lot essai 2 : traité avec 2ml de solution de curcuminoïdes à la dose de 3.33 mg /kg.

Les estomacs de chaque rat ont été prélevé après six heures d'administration du produit ,lavée délicatement sous un filet d'eau tiède et examinée sous une loupe puis conservé dans le formaldéhyde.

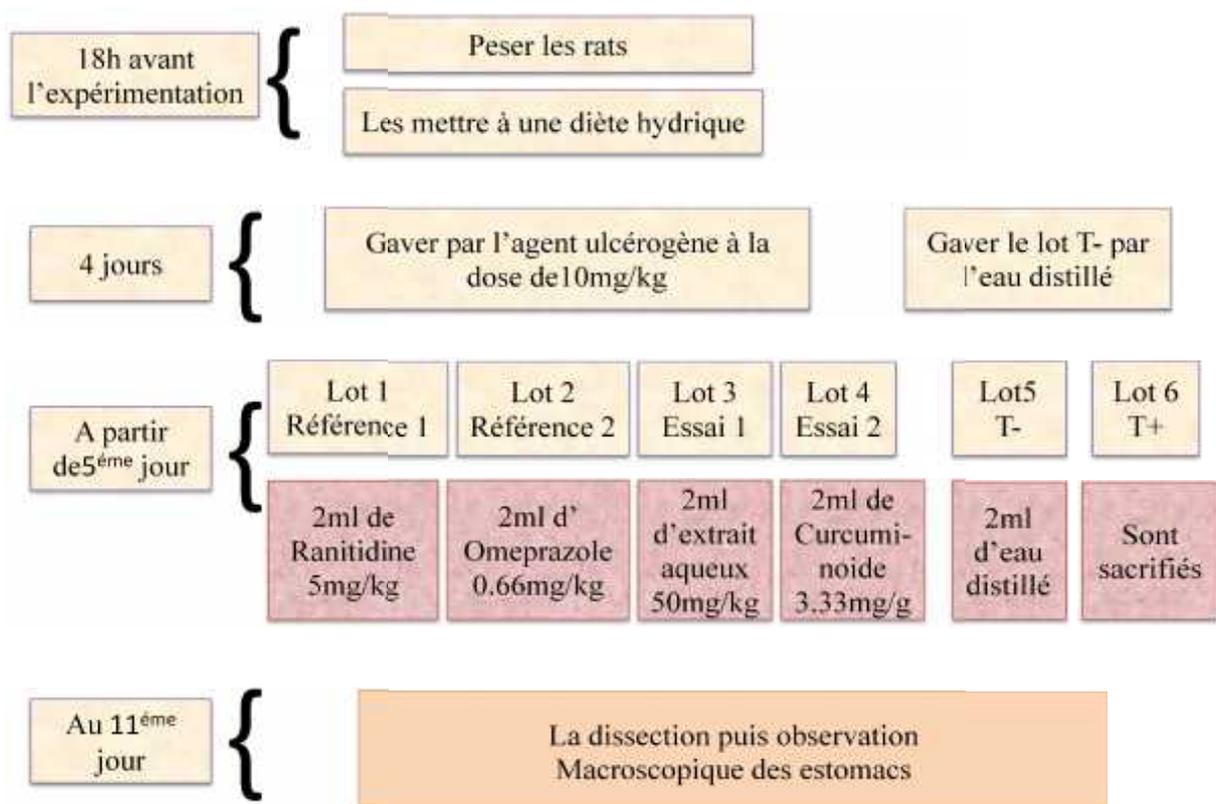


Figure16 : Protocole d'ulcération (Originale,2014)

le prélèvement de l'estomac sert à examiner le degré d'ulcération et l'efficacité de traitement histologiquement (étude anapathologique)



Figure17 : La dissection et le prélèvement de l'estomac (Photo originale, 2014).

3-3-Etude histologique :

La méthode suivie durant cette étude est celle décrite par **CATALA et al.,(2008)**

Protocole :

1-Préparation et mise en cassette des prélèvement

- a- le tissu est acheminé au laboratoire dans un fixateur standard (formaline 10% tamponée)
- b-la coupe est faite en fonction du prélèvement reçu et de l'examen macroscopique

2-Circulation :étape consistant à faire pénétrer la paraffine au sein du tissu

a-Déshydratation de tissu: 3 bains d'alcool à concentration croissante (60%,70% ,85%) pour éviter la distorsion et la dureté des tissus puis 3bains d'alcool absolu afin d'enlever l'eau complètement.

b-L'eclaircissement : 3 bains de toluène à100% qui servent à remplacer l'alcool dans les tissus afin d'augmenter la transparence et élever l'indice de réfraction des tissus.

c-L'imprégnation : bain de paraffine chaude (44 à 60°C) pour solidifier le tissu.

3-Inclusion (enrobage) des tissus :

Le tissu est inclus dans un moule remplie de paraffine chauffée .Il est placé dans le moule selon un certain angle ou une certaine position afin de voir toute les structures désirées lors de l'examen microscopique.

4-Coupe au microtome (préparation des lames)

Les sections sont effectuées la plupart du temps à 4µm d'épaisseur .Elle sont placées dans un bain d'eau chaude (pour assurer la fusion de paraffine sur lames) et on les fait sécher pendant une heure à l'étuve (45°C)

5-Coloration de base (Hematoxyline)

*Déparaffiner les lames

*2 bain de toluène (95%-100%) pour 3 min chacun

*3bains d'alcool(80%-95%-100%) pour 3 min chacun

*Rincer à l'eau courante.

*Hématoxyline de Gill. pour 3à10 min

*Rincer à l'eau courante

*3bains successifs d'alcool à 100%, 40 secondes

*3bains successifs d'alcool à 100%,40 secondes

*3bains de tolueneà100%

*Montage de lames

6-Lecture par le pathologiste et interprétation

4- Evaluation statistique :

L'analyse statistique des résultats a été effectuée par le logiciel de statistique SPSS Statistics 17.0 Afin d'évaluer les variations des moyennes pondérales pendant la période d'ulcération.

Cette analyse a été accompagnée par le test d'ANOVA qui affirme que les populations sont différentes avec un risque d'erreur P tel que

- $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative.
- $0,05 > p > 0,01$ = la différence est significative.
- $0,05 > p > 0,001$ = la différence est hautement significative.
- $p < 0,001$ = la différence est très hautement significative.

Plusieurs travaux ont été réalisés pour découvrir les secrets des plantes médicinales, nombreuses sont ceux qui ont traité le curcuma. Notre étude vient s'ajouter pour étudier d'éventuels activités biologiques à savoir l'antioxydantes et antiulcéreuses sur quelques extraits de la poudre végétal de *curcuma longa*, notamment l'effet des flavonoïdes sur l'activité anti-oxydante n'ayant jamais été abordé par d'autres études à notre connaissance.

Nous allons présenter dans ce chapitre les résultats d'extraction, calcul de rendement puis les résultats des activités biologiques.

1. Extraction, rendement et caractéristiques organoleptiques

1.1. La décoction

L'extrait aqueux qui a été obtenu par décoction de la poudre de *curcuma* à 10% est de couleur orangé.

1.2. Extraction des flavonoïdes

A partir de 50g de la poudre végétale de curcuma, nous avons obtenus les rendements en flavonoïdes, mentionnés dans **tableau III**.

Tableau III : Résultats d'extraction des flavonoïdes

Extrait	Couleur	Masse (g)	Rendement%
Chloroformique	Maron foncé	2.12	4
Ether diéthylique	Jaune claire	0.7	1.4
Acétate d'éthyle	Jaune pâle	0.4	0.8
Butanolique	Jaune pâle	1.2	2.8

Les différentes fractions de l'extraction des flavonoïdes ont un faible rendement qui est due probablement aux conditions de conservation, l'origine d'importation.

L'extrait n-butanolique (les flavonoïdes du *curcuma*), donne un meilleur rendement de **(2.8%)** aux flavonoïdes par rapport aux autres extraits. Ce rendement reste supérieur au rendement décrit par **(Rajeshwari and Jyoti, 2013)** qui est de **0.5 à 0.8%**.

1.3. Extraction des Curcuminoïdes

Les résultats obtenus après extraction de l'extrait actif, montrent le rendement suivant (Tableau IV).

Tableau IV : Résultat d'extraction des Curcuminoïdes

Extrait	Couleur	Masse(g)	Rendement%
Curcuminoïdes	Orange foncé	1.98	3.96

Malgré que le rendement (**3.96%**) est faible par rapport à celui rapporté par d'autres travaux, il reste acceptable et comparable à celui décrit par l'European Medicines Agency (EMA, 2010) qui avance un rendement compris entre 0.6 et 5% , ou celui de **GOEL et al., 2008**, qui est de (0,3 à 8 %).



Figure 18: extraits obtenus de *C. longa* : a) Extrait de flavonoïdes, b) Curcuminoïde, c) Extrait aqueux (Photo Originale, 2014).

1.4. Extraction de l'huile essentielle

A partir de 100g de la poudre de *curcuma longa*, nous avons pu extraire l'huile essentielle par hydro-distillation à l'aide d'un Clevenger. Le rendement et les caractères organoleptiques obtenus, sont cités ci-dessous. (**tableau V**) :

Tableau V : Rendement et odeur de l'huile essentielle de *Curcuma longa*.

	Aspect	Couleur	Odeur	Masse(g)	Rendement%
HE de curcuma	liquide	Jaune pâle	Typique de l'espèce	0.8	0.8

D'après le **tableau V**, notre huile essentielle, présente un aspect liquide, de couleur jaune pâle avec une odeur caractéristique de l'espèce, Ces résultats sont conformes à ceux décrits par (**la Pharmacopée Européenne, 2008**).

Le rendement en huile essentielle est de **0.8%** ce qui est trop faible par rapport à l'étude de **TSAI et al., 2011**) où il est largement plus important (**7.11%**). Notons que le rapport de European Medicines Agency (**EMEA,2010**), avance un rendement compris entre **3 et 7 %**.

Par ailleurs le rendement en huile essentielle du curcuma révélé au cours de notre étude reste proche à celui trouvé par (**GARG et al., 1999**) qui était de **0.16 à 1.94%** ou à celui annoncé par, (**RAINA et al .,2002**) **2.2%**. Cette variation est due probablement aux conditions climatiques, édaphiques et de conservations de notre produit végétal.

2. Etude des activités biologiques

2.1. Effet anti-oxydant (*in vitro*)

L'étude de pouvoir anti-oxydant par la méthode **FRAP**, sur l'extrait actif (curcuminoïdes), les quatre fractions de flavonoïdes précédemment cités et sur l'acide ascorbique (contrôle positif) s'est révélée rapide, reproductible, et facile à effectuer, étant basée sur la capacité des extraits à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} (**Karagozler et al, 2008**).

a. L'extrait actif (curcuminoïdes).

L'extrait de curcumine nous a donné deux différentes phases, une visqueuse et l'autre cristallisée, puis nous les avons dilués dans 50ml de DMSO pour l'évaluation du pouvoir antioxydant.

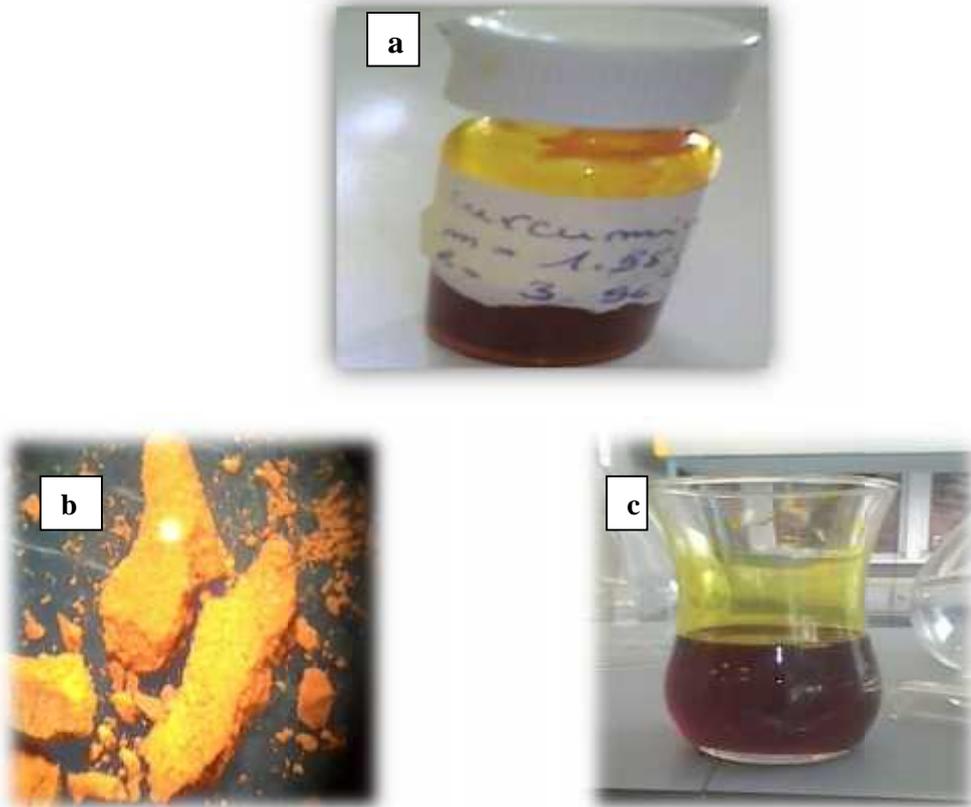


Figure 19 :Illustration des phases de l'extrait de curcumine a) L'extrait actif b) Cristaux de curcumine sous microscope photonique grossissement $\times 12$, c) La curcumine diluée dans le DMSO (photo originale, 2014).

La figure suivante montre le pouvoir antioxydant en comparaison avec l'acide ascorbique

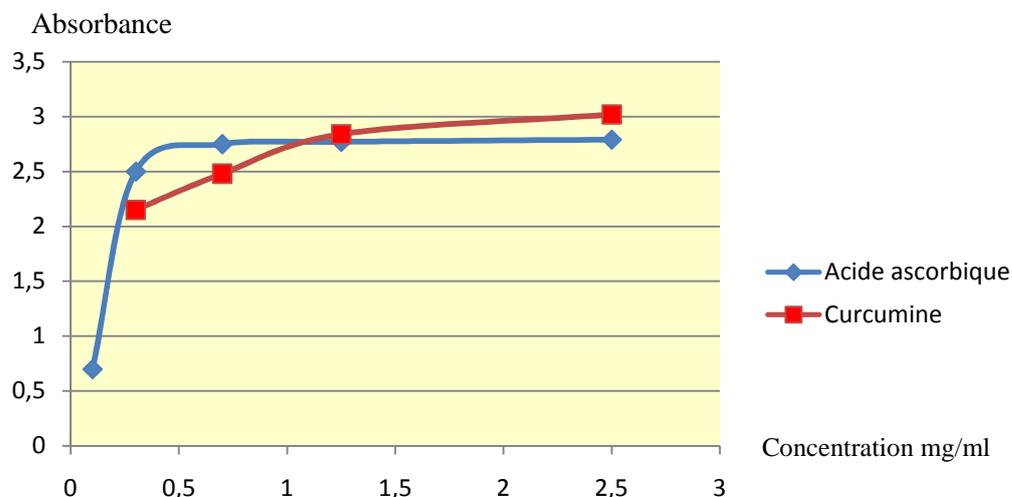


Figure 20 : Pouvoir réducteur de curcuminoïdes et de l'acide ascorbique par la méthode **FRAP**

D'après cette courbe (**figure 20**), on note une forte ascension du taux de réduction du fer pour l'acide ascorbique à la concentration 0.7 mg/ml, qui continue légèrement à augmenter jusqu'à 2.5mg/ml.

Le pouvoir réducteur de la curcumine est plus ou moins similaire à celle de l'acide ascorbique qui présente une densité optique de 2.79 à une concentration de 2.5mg/ml.

Nos résultats ont montré que le pouvoir réducteur est proportionnel à l'augmentation de la concentration des extraits (**Ozturk et al,2007**). Ces résultats (**FRAP**) sont similaires aux résultats obtenus par la méthode de **DPPH** (**Maisura et al., 2011**)

Il faut noter qu'avec la curcumine le plateau n'est pas encore atteint comme dans le cas de l'acide ascorbique. Il est probable que d'autres concentrations plus fortes permettraient d'atteindre des pouvoirs réducteurs plus élevés. De ce fait le curcuma risquerait d'être plus efficace que l'acide ascorbique comme antioxydant.

b. Les fractions de flavonoïdes :

Les composés qui ont été testés par la méthode de réduction de fer sont :

- acétate d'éthyle (Ae)
- n-butanol (But)
- Chloroformique (Ch)
- Ether di éthylique (Ed)

L'acide ascorbique est connu pour ses propriétés antioxydantes pour cela nous l'avons utilisé comme contrôle positif.

Les absorbances des fractions de l'extrait méthanolique obtenues sont illustrées dans la **figure 21**.

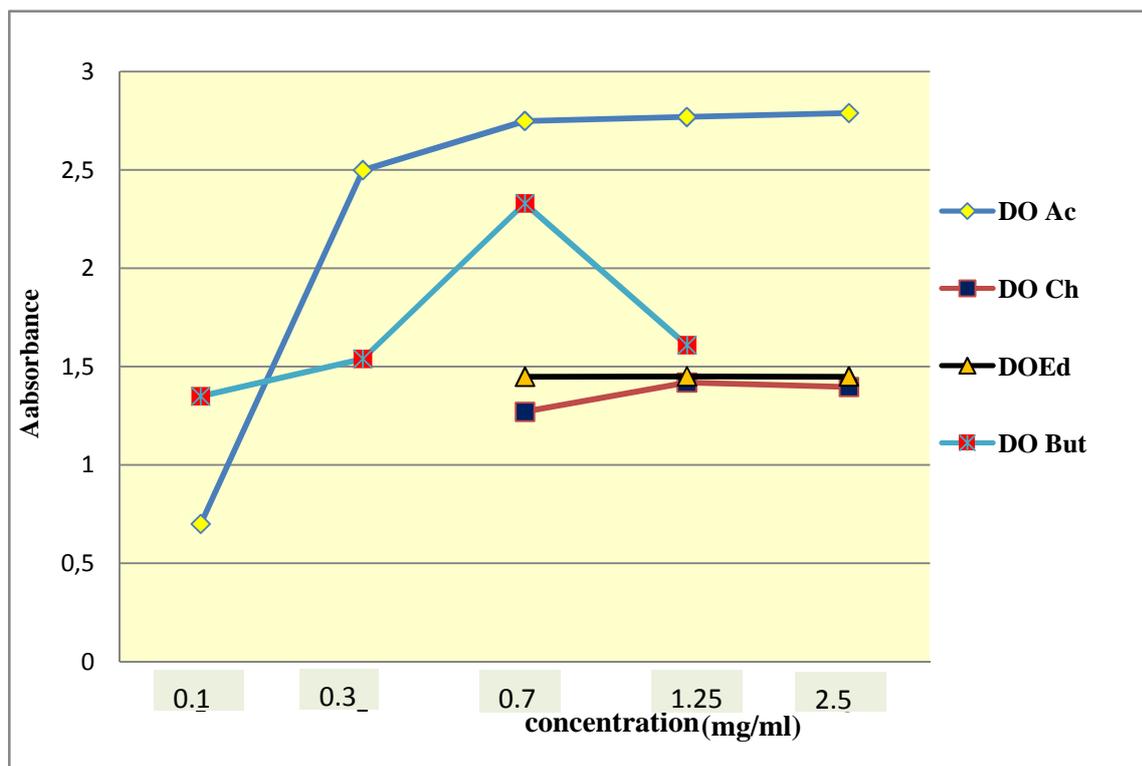


Figure 21 : Pouvoir réducteur par la méthode **FRAP** des fractions flavonoïdes et de l'acide ascorbique

Les résultats obtenus (**figure 21**) montrent que la fraction butanolique représente l'activité la plus élevée pour réduire le fer avec une densité optique maximale de 2.33 à la

concentration 0.7 mg/ml par rapport aux autres fractions. Mais elle reste inférieure à celle de l'acide ascorbique qui présente une densité optique de 2.75 à une concentration de 0.7 mg/ml. Ces résultats sont plus élevés par rapport à ceux obtenus avec d'autres plantes, exemple du *Myrtus communis* L. dont le pouvoir réducteur par la méthode FRAP est de 1.37 à la concentration 0.7 mg/ml (**Wannes et al .,2010**).

Nous remarquons aussi d'après la **figure 21**, que le pouvoir réducteur d'acétate d'éthyle présente une activité à réduire le fer avec une densité optique maximale de 1.497 à une concentration de 2.5 mg/ml.

2.2. Effet antiulcéreux (*in vivo*) :

La thérapie antiulcéreuse développée dans cette partie comprend non seulement les principes antiulcéreux, proprement dit (anti-sécrétoires et cytoprotecteurs), mais aussi les antiémétiques.

L'administration des substances ulcérogène (**DICLOFENAC 75mg**) provoque des ulcérations gastriques visibles à l'œil nu (**Laurent ,2009**). Elles sont représentées par des points et des sillons hémorragiques (**Photos22**)

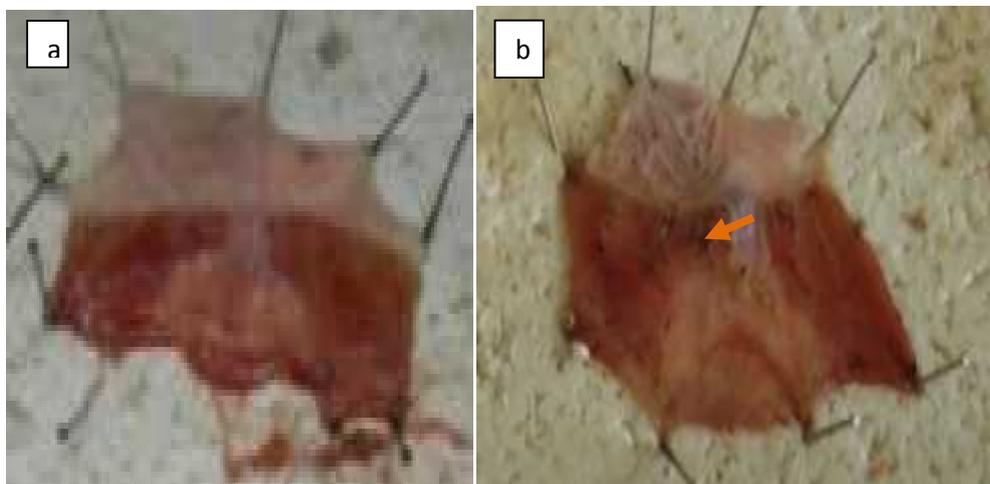


Photo 22: Etude macroscopique de l'estomac: a) estomac normal, b) estomac après traitement ulcérogène (flèches) (**photo originale ;2014**)

La méthode de cotation proposée par (**LWOFF ;1971**), nous permet d'apprécier les différentes ulcérations et de calculer les indices d'ulcération à partir de la formule suivante :

$$IU = \frac{\text{Somme des cotations} * \% \text{des estomacs présentant des ulcères}}{\text{nombre de rats}}$$

Tableau VI : Tableau récapitulatif avec l'indice d'ulcération

Lot I ran	Numéro	1	2	3	4	5	Nbr des animaux	IU=16
	Nbr d'ulcère	2	5	4	3	5	% d'estomac présentant l'ulcère= 40%	
Cotation	0	1	0	1	0	Somme des cotation= 2		
Lots II omep	Nbr d'ulcère	2	5	4	3	5	% d'estomac présentant l'ulcère= 0%	IU=0
	Cotation	0	0	0	0	0	Somme des cotation= 0	
Lots III aq	Nbr d'ulcère	2	5	4	3	5	% d'estomac présentant l'ulcère= 40%	IU=16
	Cotation	0	1	0	1	0	Somme des cotation= 2	
Lots IV cur	Nbr d'ulcère	2	5	4	3	5	% d'estomac présentant l'ulcère= 20%	IU=12
	Cotation	0	0	0	3	0	Somme des cotation=3	

Dans cette partie, nous avons évalué l'efficacité de la plante de curcuma contre l'ulcère gastrique.

D'après les résultats, nous avons remarqué que le lot de curcumine présente l'indice le plus faible après l'oméprazole. La curcumine montre un effet assez intéressant contre l'ulcère mais aussi assez loin de ce qui est réalisé avec le traitement de référence.

Les travaux de (**Holt, Katz;2005**) ont montré que la curcumine orale a réduit la gastrite et l'ulcère chez leurs patients à 76% on peut considérer, mais avec beaucoup de réserve vu le nombre de patients élevé dans le travail de **Holt et Katz** (50 patients), que nous avons eu des résultats relativement similaire avec 80% de nos rats ayant positivement répondu au traitement à la curcumine.

De nombreuses études ont démontré l'efficacité du curcumine dans le traitement de la dyspepsie, troubles digestifs, tels que maux d'estomac, nausées, perte d'appétit et les syndrome de l'intestin irritable (**Holt et al.,1986 ; Isabelle et Anne,2011**).

Selon le mode de traitement, les ulcères des médecins se basent sur la tri thérapie (anti sécrétoire, proton, anti biotique) pour assurer les résultats surtout en cas d'infection par *Helicobacter pylori* (HP). Dans notre cas, le curcuma équivaut à la tri thérapie en un seul produit anti bactérien, cyto protecteur et anti sécrétoire.

3-Evaluation de l'effet anti-ulcération via l'évolution pondérale des rats

Les résultats obtenus après la pesée des rats pendant 11 jours sont reportés dans les tableaux VII

Tableau VII : Variation pondérale pendant la période d'ulcération

Au premier jour :

T-	Ran	Omeprazole	Aq	Cur
135	192	189	167	186
153	199	177	182	164
152	188	196	200	185
150	173	200	156	179
150	168	173	170	174

Au 4^{ème} jours

T-	Ran	Omeprazole	Aq	Cur
154	130	135	175	164
145	152	154	158	134
152	140	163	149	150
152	160	173	132	147
155	162	153	148	152

Au 7^{ème} jour

T-	Ran	Omeprazole	Aq	Cur
155	163	182	174	170
157	174	156	161	174
161	184	164	155	171
157	151	193	161	135
159	175	170	161	173

Au 11^{ème} jour

T-	Ran	Omeprazole	Aq	Cur
157	190	226	193	205
170	186	211	190	202
176	200	195	194	187
179	183	180	184	124
169	187	170	193	208

Les tableaux, nous dévoilent qu'il y'a une diminution pondérale chez les rats des quatre lots, le 4^{ème} jour, ceci est dû probablement à la prise quotidienne des anti-inflammatoire pendant les 4 jours ce qui a fait augmenter les effets secondaires et mener à l'ulcération (**Richardson et al,1998**), s'ajoute à ça la prise à jeun et le stress.

Nous avons remarqué une augmentation pondérale notable chez les rats des quatre lots pendant la période de traitement (du 4^{ème} jusqu'au 11^{ème} jours).L'augmentation de poids durant les derniers dix jours est justifiée par la capacité préventive de curcuma contre la perte de poids et l'ulcération elle-même plus la diminution du stress (**HANAI et al,2006**).

4- Evaluation histopathologique

Les coupes histologiques des ulcères provenant des estomacs chez les rats au 11^{ème} jour, sont illustrées dans les figures suivantes.

La figure 23 montre l'aspect d'un estomac normal sans induction ulcéreuse à l'anti-inflammatoire pas de congestion, métaplasie ni aspect inflammatoire caractérisé de rougeur, agglomération de cellules immunitaires entre autre.

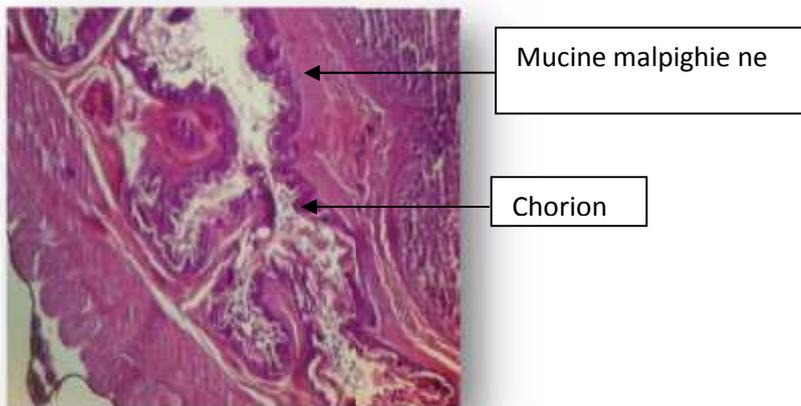


Figure23: Coupe d'estomac normale d'un rat du lot témoin Grossissement x40 (photo originale, 2014).

La figure 24 montre un état de métaplasie caractérisant un stade ulcéreux modéré. Cette photo a été prise sur un estomac d'un rat traité à la curcumine et d'un autre traité à l'extrait aqueux. Ceci pourrait être en faveur de l'effet anti ulcéreux des deux composés

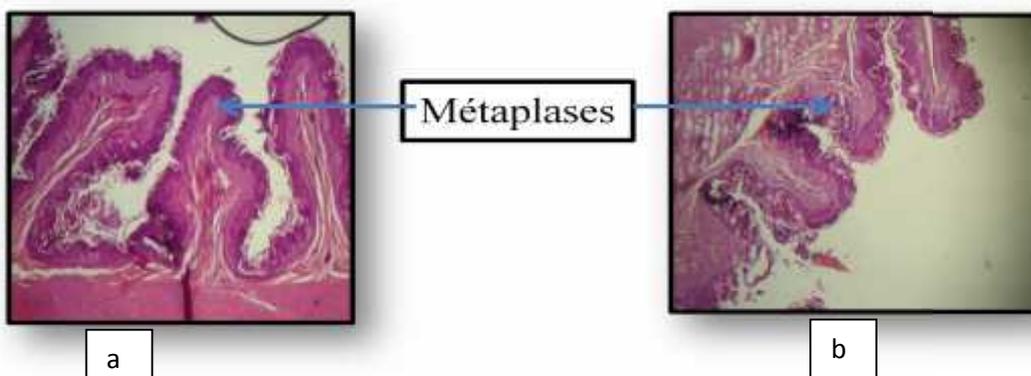


Figure24 : Métaplasie gastrique a -chez un rat du lot test 3 (curcumine) et b- lot test 4 (extrait aqueux) grossissement x40 (photo originale, 2014).

La figure 25 montre des congestions retrouvées habituellement dans un stade d'ulcère avancé. Il faut noter que cette prise est faite sur un rat ayant été traité à la curcumine. Cependant c'est le seul rat du lot qui n'a pas répondu positivement au traitement. Il est possible que ce rat ait été préalablement atteint ou d'un profil génétique ou physiologique prédisposé à la pathologie en question.

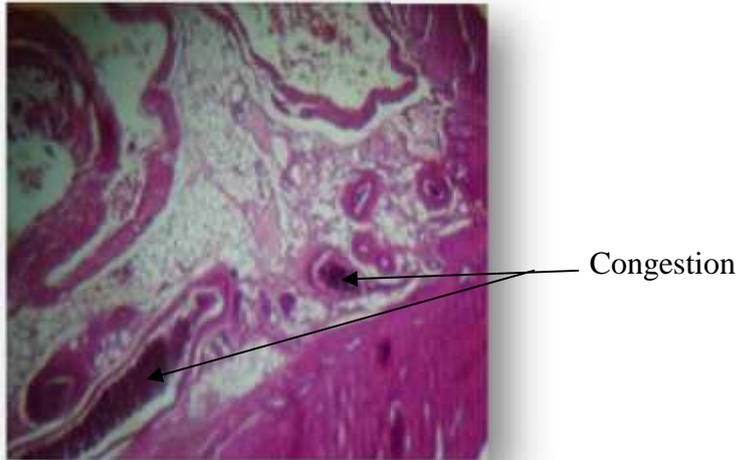


Figure25 : Illustration des congestions chez un rat du lot 3 et 4 (grossissement x100) (photo originale, 2014).

La dernière photo montre un site inflammatoire caractérisé par une agglomération de cellules de l'immunité dont la coloration à l'Hématoxyline le met en évidence. Ce cas est retrouvé chez un rat traité à la curcumine et un autre à l'extrait aqueux. Il faut noter que l'inflammation n'est pas toujours signe de dégradation tissulaire, elle est aussi à part égale signe de rétablissement et précisément celui d'une cicatrisation. Deux arguments viennent en faveur de celle-ci : la prise de poids des rats traités à partir du 4^{ème} jour et la courte durée du traitement. Il est de ce fait recommandé de reprendre l'étude sur un nombre de rat important et sur une durée plus étendue.

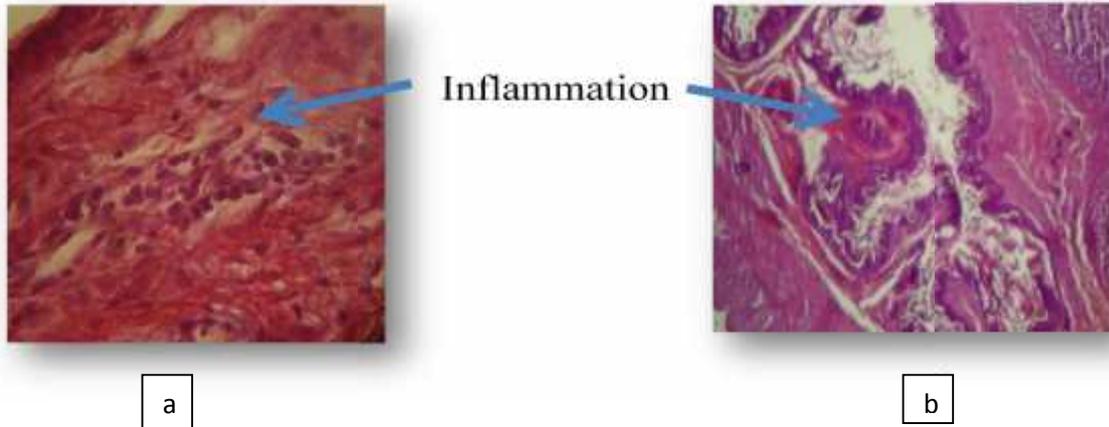


Figure26 : Illustration de l'inflammation chez un rat a-lot du test (extrait aqueux), b-lot du test(curcumine) (grossissement x40)(photo originale, 2014).

CONCLUSION

Curcuma est une plante aromatique et médicinale .Elle est une bonne source d'antioxydants naturels qui participent significativement à la prévention contre différentes maladies.

L'extraction des composés phénoliques (flavonoïdes et principe actif), l'extrait aqueux et HE a donné un rendement assez satisfaisant de chaque fraction. Ceci permet de dire qu'un matériel et condition de travail favorable sont nécessaires pour optimiser l'extraction des différentes fractions et leur exploitation.

Le pouvoir antioxydant par la méthode de FRAP a confirmé que le curcuma a un pouvoir antioxydant fort particulièrement par le biais de sa fraction la curcumine.

Le décocté et les curcuminoïdes ont montré une efficacité modérée comparée à celle de la Ranitidine et l'Omeprazole contre les ulcères gastriques. Ceci a été validé par l'étude histopathologique qui a montré microscopiquement une échelle d'homogénéité cellulaire disparates car il n'a pas été complètement élucidé comment la curcumine produit ses effets thérapeutiques, mais ceux-ci sont probablement médités par son activité antioxydante et anti inflammatoire.

Dans le cadre de futurs travaux, il serait particulièrement intéressant d'étudier plus de composés du curcuma tel que les sesquiterpènes de l'HE, de tester l'effet conservateur de cette dernière et d'élargir le champs d'action dans un premier temps de l'ulcère gastrique à celui de duodénum puis dans un deuxième temps de l'inflammation aux différents dysfonctionnements systémiques et cytologique en premier le cancer.

I-1-Généralités

Il existe plus de 80 espèces du genre *Cucuma*, qui sont principalement d'origine Asiatiques tropicales et Australienne septentrional (**GULDNER ,1986**).

La plus grande partie de cette diversité se situe en Inde et en Thaïlande, peu en Chine (**Ravindran et al,2007**) ., la plante est caractérisée par leur robustesse et leur densité en feuillage .Leur hauteur varie entre 50 cm et 1,50 m, fleurissent au début de la saison pluvieuse (**LOAP ,2008**). Aussi c'est une plante proche du gingembre au goût amer, possédant des propriétés comparables (**Vaquier ,2010**).

Ces plantes ont des poudres obtenues à partir du rhizome, tel que *Curcuma longa* L. (**Ravindran et al .,2007**) .

2-Origine géographique et commercialisation

Curcuma Longa L. provient des pays suivants : Inde, Chine, Indonésie, Vietnam, Laos. Ainsi que dans les régions de l'Amérique Latine.

Ainsi cette plante représente 80% de la production mondiale en Inde qui l'exporte (**Dioscoride, 2005**) et la consomme dans le domaine cosmétique et médicinal

Les pays importateurs de curcuma sont : le Japon, l'Iran, les Émirats Arabes Unis, le bangladesh, Singapour, les Pays-Bas et le Sri Lanka (**Bruneton ,2009**).

3-Usags

Le *Curcuma* a été utilisé comme épice pour la cuisine où il fait partie des ingrédients de la poudre de curry (**Aggarwal et al., 2007**) puis , comme anti-inflammatoire (médecine ayurvédique) et contre la gale. En chine cette plante est indiquée pour éliminer la stase sanguine, soulager des douleurs (**Araujo et Leon 2001 ; Goel et al., 2008**). Toutefois les bouddhistes l'utilisaient pour teinter les vêtements des moines (**Jansen et al., 2005**).

4-1- Description botanique de la plante

Curcuma longa L. est un arbuste touffu qui peut atteindre une hauteur d'un mètre et demi (voir Figure01) (**Espinoza et al., 2009**).

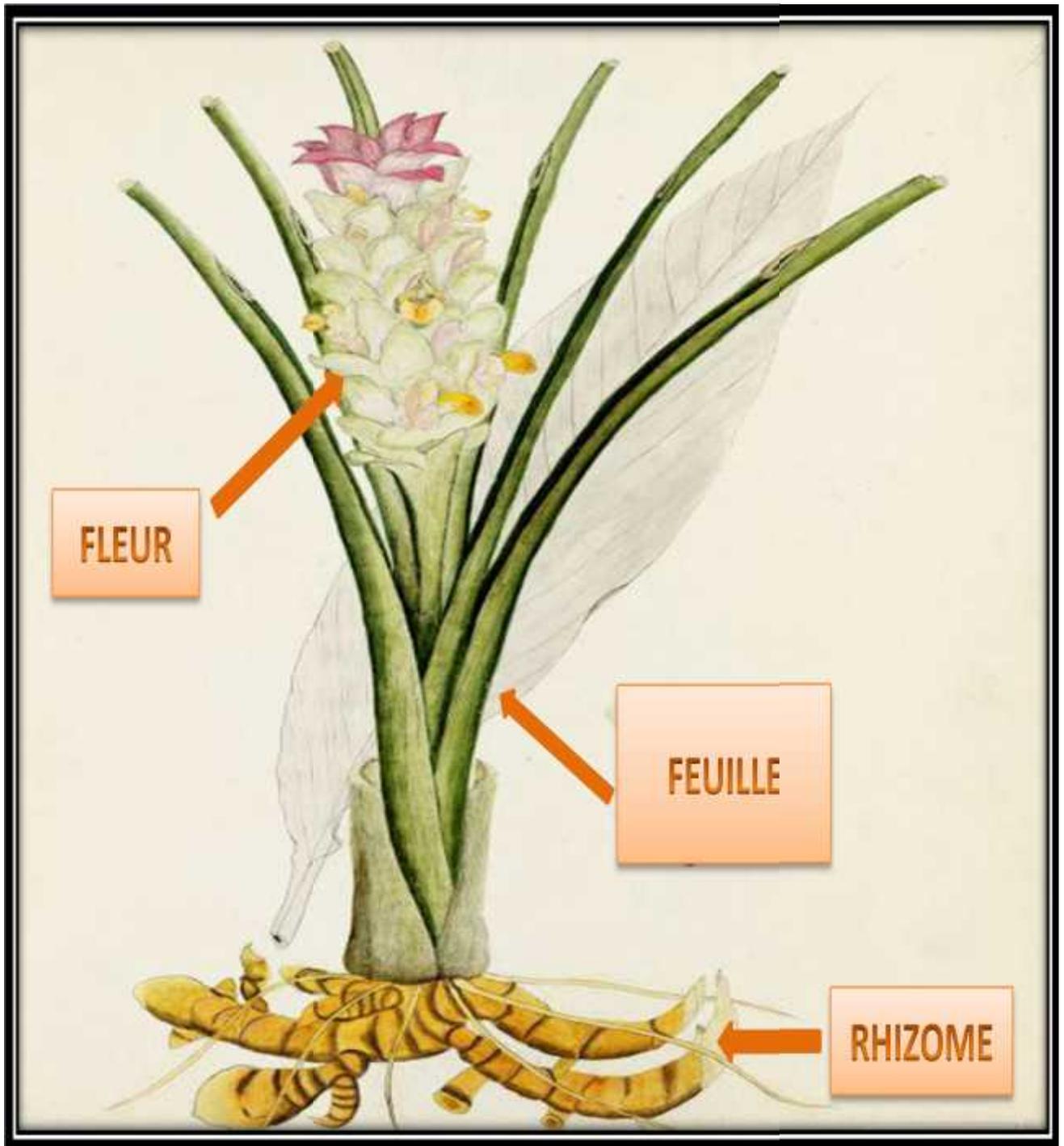


Figure 01 : Aspect général de *Curcuma longa* L.(Espinoza et al., 2009)

L'AFNOR décrit les rhizomes comme étant secs, bien développé, de forme et de couleur caractéristique de l'espèce.

Le rhizome présente des écailles, charnu, comportant un tubercule primaire ellipsoïde de 5 cm × 2,5 cm environ et présente lors de la maturité plusieurs rhizomes latéraux de 1 cm. La surface externe est gris-jaune et portant la cicatrice des racines aussi avec cassure franche et de fins granulés, non fibreuse et varie du jaune à l'orange sombre. Quand on le sectionne, le rhizome dégage une odeur aromatique.. (Delaveau,1987).



Figure 02: photo montrant du Rhizome frais de *Curcuma longa*, (Lamouche, 2011)

Cependant les feuilles Présentent un pétiole engainant, portant un limbe penninervé, long d'une cinquantaine de centimètres, de couleur glabre sur les deux faces. Par ailleurs, les fleurs sont regroupées en inflorescences coniques. Elles sont verdâtres ou blanches à sommet rose. Longues de 5 à 6 cm, tubulaires.

4-2- Classification systématique

Selon la classification APG III (Angiosperms Phylogeny Group), le genre de *Curcuma* appartient à :

- Règne : végétal
- Embranchement : spermaphyte
- Sous embranchement : angiosperme
- Classe : monocotylédones
- Ordre : zingibérales
- Famille: zingiberaceae
- Genre : curcuma
- Espèce : curcuma longa l.

4-3- Etymologie

Le terme *curcuma* dérive du sanscrit *kartouma* pour devenir *kurkum* en perse et *kourkoum* en arabe puis *Curcuma* en latin qui demeure à ce jour, sauf que les anglais le désignent sous le nom de "turmeric" qui a bien gardé l'origine de mot *terra merita* (terre mérite), il faut noter que sa couleur jaune intense le fait parfois nommer, bien à tort, *safran des Indes* (DELAVEAU,1987).

4-4-La poudre

La poudre est obtenue à partir du rhizome moulu, elle est caractérisée par un couleur jaune des cellules parenchymateuses de couleur jaunâtre qui contient des grains d'amidon et autres masses granuleuses jaunes. Une fois écrasées, on constate qu'elles peut contenir de nombreux grains d'amidon (GULDNER ,1986).

5-Composition de curcuma (Métabolites secondaires)

Parmi les constituants du curcuma on va cibler celles qui nous intéressent directement dans ce travail :

Les polyphénols dont les curcuminoïdes (curcumine, monodesméthoxy et bidesméthoxycurcumines.

les Huiles essentielles: riches en sesquiterpènes et zingiberènes.

Il est inscrit à la Pharmacopée européenne que le *Curcuma L.* doit contenir au moins 2,5 % de curcumine et plus de 25 ml/kg d'huile essentielle (Fleurentin et Hayon, 2011).

1-Les poly phénols

Sont les plus importants dans le règne végétal. Il existe environ de 8000 structures phénoliques présentes dans tous les organes de la plante.

Ils résultent génétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et acétate présenté aux **annexes (Lugasi et al, 2003)**. Son élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont liés un ou plusieurs groupes hydroxyles (libres ou engagés) dans une fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (**Bruneton, 1993**).

Les composés phénoliques sont classés en se basant sur leur nombre d'atomes constitutifs et leur structure de squelette de base et qui sont dotées de certaines activités résumées dans le (**Tableau I**).

Tableau I : Classification et activités biologiques des composés polyphénoliques (**Herbert, 1989 ; Bahorun, 1997 ; Macheix et al., 2005**)

Squelette carbonée	Classe	Activités Biologiques
C6	Phénols simples	Antioxydantes
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	Anti-bactériennes , Antifongiques Antioxydantes
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Antibactériennes, Antifongiques Antioxydantes
C6-C3-C6	Flavonoïdes	Anti-tumorales ,Anti-carcinogènes Anti-inflammatoires, Antioxydantes
(C6-C3-C6) _n	Tanins condensés	Anti viral

1-1- Flavonoïdes

Ce sont des pigments très répandus dans les plantes qu'ils soient fruits ou légumes même les graines ou les racines et ils sont parfois responsables de la coloration de leurs fleurs et leurs fruits. A l'état naturel, ils existent sous forme d'hétérosides. Ces flavonoïdes sont

formés d'un squelette de base à 15 carbones (C6-C3-C6), c'est à dire une structure de 2-phényl-benzopyrone. (Kim *et al.*, 2004).

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune dérivant de la voie de l'acide shikimique. Leur précurseur est le 4-hydroxycinnamate-coenzyme A fabriqué à partir de la phénylalanine (Bruneton, 1999).(voir annexe1).

1-2-L es curcuminoïdes

Les curcuminoïdes sont les principaux colorants de la drogue, appartiennent à la famille des diarylheptanoïdes coiffés par la curcumine .Leur teneur se situe entre 0,3 et 5,4 % allant jusqu'à 8 % (Goel *et al.*,2008).

Les fractions de curcuminoïdes pondéralement importants sont la déméthoxycurcumine, la bisdéméthoxycurcumine et La cyclocurcumine qui a été nouvellement identifiée chez *C. longa* (Bruneton.,2009)

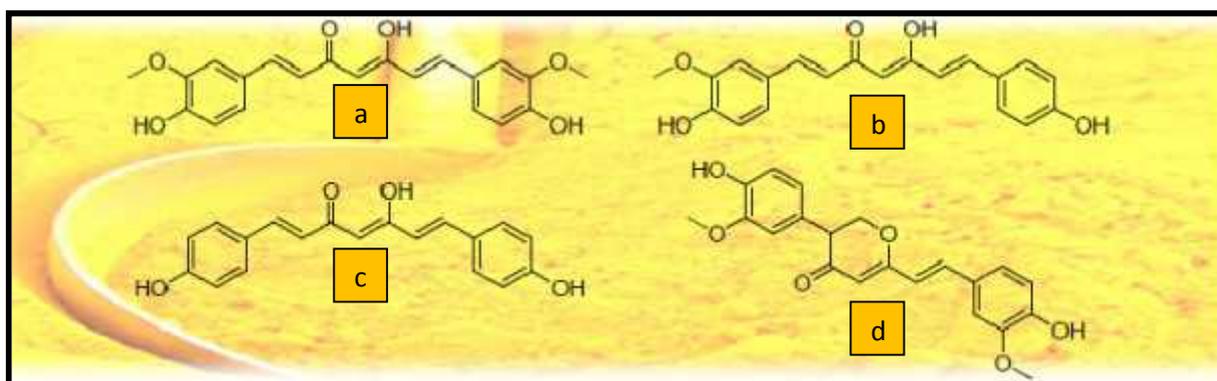


Figure03 : Structure de la curcumine et de ses principaux dérivés : a- déméthoxycurcumine, b- bisdéméthoxycurcumine,d- La cyclocurcumine (Bruneton.,2009).

1-2-1- biosynthèse des curcuminoïdes

Deux voies pour la formation du squelette curcuminoïde ont été proposées par Roughley et Whiting(voir annexes1)

voie a :greffe de10 atomes de carbone sur une unité phénylpropénique .le second cycle aromatique se forme par cyclisation de la partie polyacétique.

voie b: c'est la condensation de deux unités phénylpropéniques et d'un carbone central obtenu à partir d'une molécule d'acide malonique, probablement sous forme de thioester du coenzyme A (**Katsuyama et al., 2007**)

1-2-2-Propriétés physico chimiques des curcuminoides

1-Solubilité de la curcumine

La curcumine pâte jaune-orange est insoluble dans l'eau et l'éther, mais soluble dans l'éthanol, le méthanol, le diméthylsulfoxyde (DMSO) et l'acétone (**FAO, 2001**). La curcumine est jaune-orange pour un pH compris entre 2,5 et 7, et rouge à pH supérieur à 7.8 (**Goel., 2008**).

2- Spectre d'absorption de la curcumine

Le maximum d'absorption de la curcumine au spectrophotomètre est à la longueur d'onde 430 nm dans le méthanol et entre 415 et 420 nm dans l'acétone.

1-2-3-Propriétés pharmacologiques de la curcumine

La curcumine présente un fort potentiel d'activités pharmacologiques dont les activités anti-inflammatoires, anticancéreuses, cicatrisantes, antiulcéreuses (**Sidhu et al., 1998**), antimicrobiennes et antiparasitaires (**Koide et al., 2002**).

La curcumine possède aussi un grand pouvoir antioxydant (**Toda et al 1985**) (dix fois plus important que la vitamine E), Ses dérivés naturels agissent comme anti-oxydants moins importants. (**Gupta et al., 2011**).

2-L es huiles essentielles

Le terme « huile » désigne la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les matières grasses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » se réfère au parfum et à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante (**AFNOR, 2000**).

C'est un mélange de composés lipophiles, volatils, jaunâtres et souvent liquides, synthétisés dans des cellules glandulaires spécialisées et stockés dans les poches sécrétrices. Les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées par des membranes spéciales qui limitent fortement leur évaporation (**Bruneton, 1993 ; Anton et Lobstein, 2005**).

D'après **Pibiri, 2006** les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes :

- le groupe de terpénoïdes (Les monoterpènes , Les sesquiterpènes)
- le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

2-1- Procédés d'extraction

2-1-1- Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées. L'injection de vapeur se fait à la base de l'alambic (**Richard et Peyron, 1992**).

2-1-2- Extraction par hydro distillation

Ce mode d'extraction a été proposé par **Garnier en 1891**, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les HE et pouvoir les séparer à l'état pur avec un meilleur rendement (3à5%). Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparée par différence de densité (**Bruneton, 1993**).

2-1-3- Extraction par solvants organiques

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone (**Dapkevicius et al., 1998**)

L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement (**Lagunez Rivera, 2006**).

B-2-Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues pour être dotées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses,

antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (Valnet, 2005).

6-Activités biologiques

6-1-Effet anti oxydant

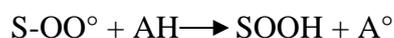
a-Définition

Les substances anti-oxydantes sont des substances capables de retarder ou de prévenir l'oxydation de substrat. Elles ont la capacité de piéger les radicaux libres impliqués dans la dégradation cellulaire. Quelques antioxydants (endogènes) sont fabriqués par le corps humain, d'autres (exogènes) tels les vitamines (E,C) et poly phénols, doivent être apportés par notre alimentation (Pincemail et Defraigne, 2004).

b-Pouvoir anti oxydant de la curcumine

Les activités biologiques de curcuma sont dues à sa forte activité anti oxydante qui a été reportée dès 1975(Halliwell et Gutteridge ;1990)., la curcumine peut protéger l'organisme contre la peroxydation. Elle empêche significativement la génération de l'espèce réactive de l'oxygène (ROS) comme des anions de superoxyde (Unnikrishnan et Rao ;1995) en jouant un rôle préventif contre les maladies dont ROS est à l'origine de celle-ci (Chattopadhyay et al ;2004).

De plus, l'activité antioxydante de la curcumine sert à maintenir les enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase et la catalase contre la dégradation dans la régulation de la peroxydation lipidique (Vaquier L, 2010). Aussi, elle agit comme un piègeur de radicaux libres en incluant leurs phénols méthoxylés en deux étapes :



où S est la substance oxydée, AH l'antioxydant phénolique, A° le radical antioxydant et X° un autre radical. A° et X° se dimérisent pour former un produit non radicalaire (Chattopadhyay et al ;2004).

6-2-Effet anti ulcéreux

a-Quelques notions élémentaires

L'estomac est un sac allongé de Cardia jusqu'au Pylore, muqueux enfermé dans un sac musculaire tapissé lui-même de l'extérieur vers l'intérieur de 04 tuniques qui ont un rôle bien défini :

- La muqueuse : secrète les sucs gastriques.
- La sous muqueuse : secrète aussi les sucs gastriques.
- la musculuse : brasse les aliments.
- La séreuse : permet le glissement de l'organe.

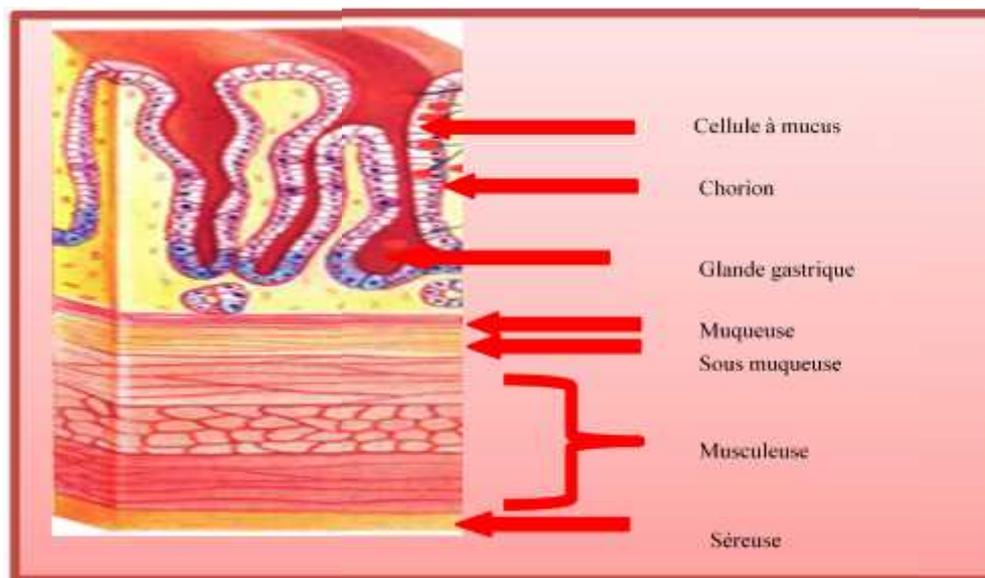


Figure04 : Présentation de différents compartiments de l'estomac (STANTON et BRIGHT;1989)

b-Définition de l'ulcère

Un ulcère gastrique est défini par une perte de substances d'un revêtement épithélial cutané ou muqueux s'accompagnant d'une lésion des plans tissulaires sous-jacents (Levart et Lambert, 1959). Il survient quand il y a un déséquilibre entre les facteurs de protection (barrière muqueuse) et les facteurs d'agression (acide) de l'estomac en faveur de ce dernier (Lilian *et al*, 2006) généralement il s'accompagne de douleurs de l'abdomen, gastrite et une

perte de poids (**Pospdi et al, 2000**) mais il peut également être asymptomatique (**ETTINGER ;2000**)

L'administration orale d'AINS, surtout pour le DICLOFENAC et l'Asperine, semble augmenter la probabilité de formation des ulcères qui peuvent apparaître dans différentes zones du tractus gastro-intestinal, mais ils se retrouvent le plus souvent au niveau de l'estomac ceci est due à une accumulation à hautes doses de ces médicaments surtout lorsqu'elles sont administrées sur estomac vide . (**STANTON et BRIGHT;1989**)

Selon la profondeur de la lésion, on peut avoir :

- **une abrasion** : c'est une destruction de l'épithélium et de la partie superficielle des cryptes
- **une érosion** : c'est une perte de substances pariétales à bords nets, taillés à fond inflammatoire non scléreux avec amputation de la musculaire muqueuse et de la sous muqueuse et devient mortelle Lorsque l'érosion touche les artères formant une hémorragie.
- **un ulcère vrai** : c'est une perte de substances amputant la musculature qui se franchie le bloc scléreux (**Keith et Arthur, 2006 ; Rambaud, 2000**)

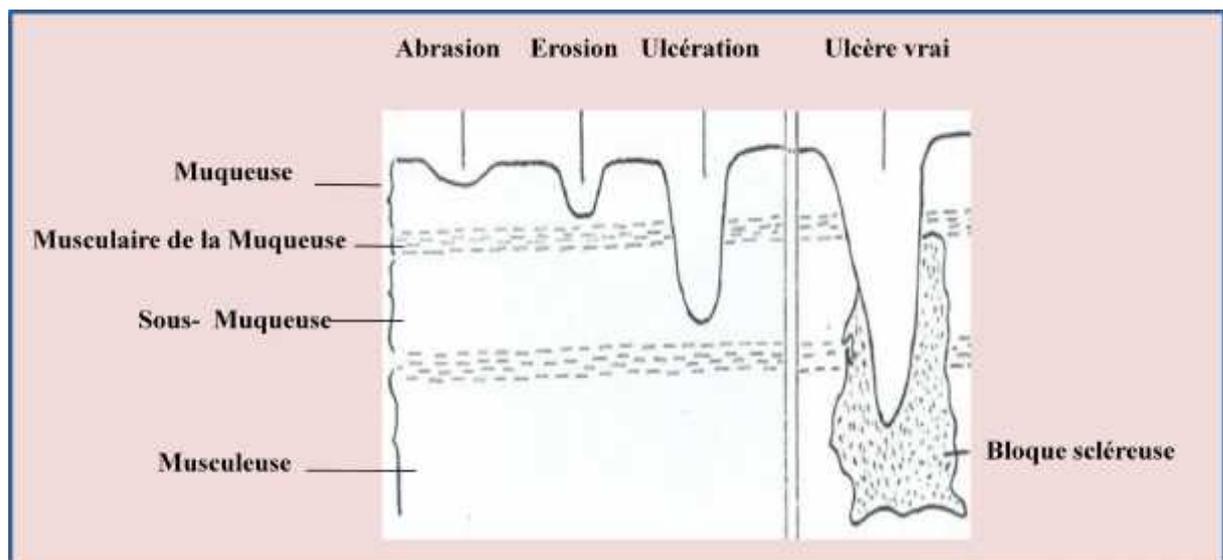


Figure05 : Schéma, représentant les types d'ulcères gastriques en coupe transversale (**Rambaud, 2000**).

c-Facteurs favorisant l'ulcérations (RICHTER;1992)➤ **Médicaments**

Anti-inflammatoires non stéroïdiens(AINS), aspirine.

➤ **Stress**

Choc, Traumatisme, Septicémie, Maladie neurologique.

➤ **Maladies infiltrantes**

Tumeurs digestives, Maladie inflammatoire de l'intestin.

➤ **Maladies métaboliques**

Insuffisance hépatique , Insuffisance rénale, Pancréatite aiguë .

➤ **Infections**

Parasitaires, Bactériennes ,Virales , et fongique.

d-Traitement et prévention des lésions induites par AINS

Les thérapies les plus utilisés dans le traitement des ulcères sont celles à base d'inhibition de la sécrétion d'acide gastrique ou des cytoprotecteurs et sont donc choisies selon l'étiologie de l'ulcère (**ETTINGER ;2000**)

Ils sont deux groupes: (**NEIGER;2000**)

1-Anti-histaminique H2

Ranitidine (AZANTAC®, RANIPLEX®) Dont le groupe nitroéthèneaminal est le meilleur en ce qui concerne l'activité

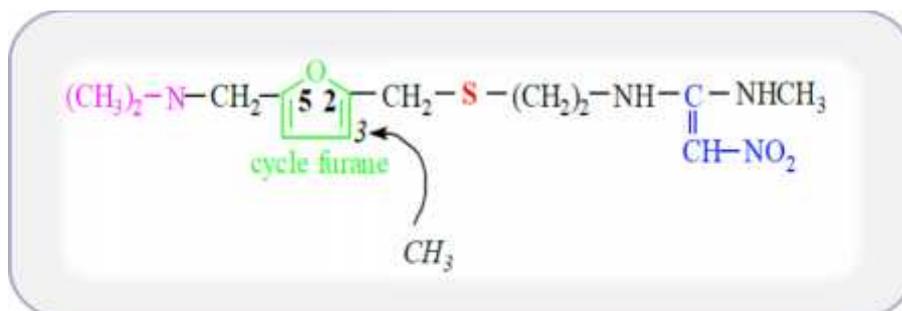


Figure 06: Structure chimique de la Ranitidine (**Patrick , 2003**)

2. Inhibiteur de la pompe à protons (IPP)

Oméprazole 20 mg/j (MOPRAL®, ZOLTUM®) à dose quotidienne



Figure07 : Structure chimique de l'Oméprazole (Patrick, 2003)

les différents **IPP** (oméprazole, pantoprazole) et la ranitidine ont une efficacité similaire dans le traitement des ulcères et sur leurs symptômes (Richardson *et al*;1998; Rehner *et al* ;1995)

La médecine arabo-persane a mis des recettes pour atténuer les ulcères et la gale (Fleurentin et Hayon ;2011) tel l'utilisation de la curcumine qui a un effet bénéfique sur l'estomac .

Des études ont montré que le safran des indes protège l'estomac contre les effets ulcérogènes de phenylbutazon (Sinha et Mukherjee ;1974) et augmente la sécrétion de mucine ainsi il peut agir en tant que gastroprotectant contre les irritants (Lee *et al*,2003) .

Plus récemment, les résultats sont venus confirmer l'hypothèse de (Misra, et Sahu ;1977) qui dit ceci : « la curcumine peut bloquer les ulcères gastriques provoqués par la tension et peuvent également empêcher la sécrétion acide au niveau du pylore -induite par hélicobacter pylori (HP) » . il est manifeste que les études autour de l'effet antiulcéreux de la curcumine restent limitées.

Références bibliographiques

-A-

AFNOR ,2001.Recueil des normes françaises : contrôle de la qualité des produits alimentaires, épices et aromates, Paris.

AGGARWAL B. B., SUNDARAM C., MALANI N., & ICHIKAWA H., 2007.

"Curcumin: The Indian

Solid Gold The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease". Springer US ; 595 : 1-75.

ANDREW M. A., MATTHEW S.M., RAM S.M., 2000. "Isolation of Curcumin from Turmeric". *J. Chem. Educ.* , 77(3) ,p 359.

ANTON R. & LOBSTEIN A., 2005. Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris, 522p.

ARAUJO C.A.C., LEON L.L., 2001. "Biological activities of *Curcuma longa*". *L. Mem. I. Oswaldo Cruz* ; 96(5): 723 – 728

ATTOU S.et BOUKHARI F.,2013. Enquête ethnobotanique et étude phytochimique et évaluation de quelques activités biologiques de *Curcuma longa* Linne, université de blida1.pp.70.

-B-

BAHORUN, T. ,1997. Substances Naturelles actives: La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius* , p 83.

BENETEAUD E., 2011. "Les techniques d'extractions". Comité français du parfum.

BRUNETON J., 1993. Pharmacognosie et phytochimie, plantes médicinales, *Tec et Doc Lavoisier*. Paris, p 278-279.

BRUNETON, J.,1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2^{ème} éd, médicales internationales, *Tec et Doc Lavoisier*, Paris, p 1120.

BRUNETON J., 2009. Pharmacognosie – Phytochimie, plantes médicinales, 4^e éd., revue et augmentée, *Tec & Doc–Éditions médicales internationales*, Paris, p 1288.

-C-

CATALA M., ANDRE J-M., ESCUDIER E., POIRIER J., 2008. « histologie des tissus », faculté de médecine pierre et marie curie, France ,p119.

Références bibliographiques

CHATTOPADHYAY J., BISWAS K., BANDYOPADHYAY U., BANERJEE RK., 2004. Turmeric and curcumin: biological actions and medicinal applications. *Curr Sci.*, 87, p 44–53.

-D-

DAPKEVICIUS A., VENSKUTONIS R, VAN BEEK T.A. & LINSSEN J.P.H., 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of Science Food and Agriculture*, 77(1), p140-146.

DELAVEAU P. 1987. Les épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments, Albin Michel, Paris, p130-136.

DIOSCORIDE J.-C., 2005. dans son oeuvre *De Materia Medica* véritable précurseur des pharmacopées Le *Curcuma* ou le safran des Indes, *Plantes et Nature* n°15, 16–17.

-E-

EMA "European Medicines Agency", 2010. "Evaluation of Medicines for Human Use". London.

ETTINGER SJ., 2000. Diseases of the stomach. *Text book of Veterinary Internal Medicine : diseases of the dog and cat*, 5^{ème} éd, Chapter ,103, p1153-1164

-F-

FAO "Food and Agriculture Organization", 2001. *Food and Nutrition Paper 52* Add.

FLEURENTIN J, HAYON J.-C. 2011. Des plantes toxiques qui soignent. Rennes, Éd. Ouest-France, p81-82.

-G-

GAR, S.N., BANSAL R.P., GUPTA M.M. ET KUMAR S. ,1999. Variation de la qualité d'huile essentielle de rhizome et de pétrole de contenu de curcumine dans les races de terre du *longa de safran des Indes de safran des indes des plaines indiennes du nord*. *Journal de saveur et de parfum*, 14, 3, p115-318.

GOEL A., KUNNUMAKKARA A. B., AGGARWAL B. B., 2008. "Curcumin as Curecumin" : From kitchen to clinic". *Biochem. Pharmacol.*, 75, 787–809.

GULDNER S., 1986. Les Zingiberacées, une famille à épices.-116f. Th., Pharm., Nancy I , p86-102.

GUPTA S. C., PRASAD S., KIM J. H., PATCHVA S., WEBB L. J., PRIYADARSINI I. K., AGGARWAL B. B., 2011 .*Nat .Prod. Rep.*, 28, p1937–1955.

Références bibliographiques

-H-

HALLIWELL B. ET GUTTERIDGE J.M.C., 1990.Rôle des radicaux libres et ions catalytiques en métal dans la maladie humaine : une vue d'ensemble. *Méthodes Enzymol.*, 186, p1-85.

HANAI H., IIDA T., TAKEUCHI K., WATANABE F., 2006. Curcumin maintenance therapy for ulcerative colitis: randomized, multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 4, 1502–1512.

HERBERT R.B., 1989."The Biosynthesis of secondary metabolites". 2^{ème} éd, Chapman and Halle p 2-11. [56] **FAO** "Food and Agriculture Organization", **2001.** *Food and Nutrition Paper* 52 Add.

HOLT PR., KATZ S., KIRSHOFF R., 1986. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.* Dec,24(12), p 651-658

HOLT, KATZ S, 2005 .thérapie de curcumine de kirshof . Dans la maladie d'entails Inflammatoire :une étude préliminaire. *Fouille DIS Sci.*,50 (11) ,p2191-3052.

HUBERT A.J., 2006. Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine, Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, école doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries, spécialité : qualité et sécurité des aliments, p 174.

-I-

ISABELLE D., ANNE D., 2011. Mes petits recettes magique au curcuma. Alliée digestive unique, anticholestérol, anticancer... l'épice aux mille vertus. , 17 Éd, LEDUC.S, rue du Regard Paris – France.

-K-

KATSUYAMA Y., MATSUZAWA M., FUNA N., HORINOUCI S., J2007. *Biol.Chem.*, 282, 37702–37709

KEITH L M., ARTHUR F.D., 2006. Anatomie médicale: Aspects fondamentaux et applications cliniques. Edition De Boeck, Paris, p 134.

KIM H P, SON K H, CHANG H W AND KONG S., 2004. Antiinflammatory plant flavonoids and cellular action macanism. *J Pharmaco .Sci*, 96, 229-254.

KOIDE T., NOSE M., OGIHARA Y., YABU Y., OHTA N., 2002. *Biol. Pharm. Bull.*, 25,p 131–133.

-L-

Références bibliographiques

LAMOUCHE C.,2011. Etude des conditions de mise en œuvre d'une indication géographique sur le curcuma, *Plantation de curcuma longa*, anivorano-est-madagascar, 2,p156-185.

LAURENT C., 2009. Nutrition, principes et conseils. Edition De Boeck, Paris,p 214.

LEE C.J., SEOK J.H., HUR G.M., PARC Y.C., SEOL I.C. ET KIM Y.H., 2003. Effets de baicalein, berberine, curcumine et hespiridin sur le dégagement de mucine des cellules de gobelet de voie aérienne. *Med de Planta.*, 69,p 523-526.

LEVART M., LAMBERT R.,1959. Ulcère médicamenteux chez le rat. *Gastroenterologia* ,91(3), p182-198.

LILLIAN S. B., SMELTER S., BARE B., 2006. Fonctions digestives. Edition De Boeck, Paris, pp 95.

LOAP S., 2008*Phytothérapie*, 6, 22–28.

LUGASI A.,HOVARI J., SAGI K.V.,ET BIRO L.,2003. The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. *Acta. Biologica Szegedientsis* 1-4: 119-125.[41]

LWOFF J M., 1971. Activité ulcérogène chez le rat. Fiche technique n°12, *J.Pharmacol.* Tome II,p81-83.

-M-

MAIZURA M., AMINAH A., AIDA BLEME W.M., 2011. "Total phenolic content and antioxidant activity of kesum (*Polygonum minus*), ginger (*Zingiber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) extract". *International journal de recherche alimentaire*,19,p2096.

MARKHAM K.R., 1982. "Technics of flavonoids identification". Academic Press.

MISRA S.K. ET SAHU K.C., 1977.Examen de quelques usines indigènes pour l'activité antifongique contre des dermatophytes. *J. indien Pharmacol.*, 9,p 269-272.

-N-

NEIGER R., GASCHEN F., JAGGY A.,2000. Gastric Mucosal Lesions in Dogs with Acute Intervertebral Disc Disease: Characterization and Effects of Omeprazole or Misoprostol. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14 , p33-36.

-O-

OMS, 2010. "Infection à *Helicobacter pylori* chez 755 patients présentant des symptômes digestifs " *Eastern. mediterranean health journal*7 (16), Institut Pasteur du Maroc, 1998-2007.

Références bibliographiques

OYAIZU M., 1986. Studies on products of browning reaction-Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, p 307–315.

OZTURK M., AYDOGMUS-OZTURK F., DURU M.E., TOPCU G., 2007. Antioxidant activity of stem and root extracts of rhubarb (*Rheum ribes*): an edible medicinal plant, *Food Chemistry*, 106,p 1264-1270.

-P-

PATRICK G.L., 2003. Chimie Pharmaceutique, 2^{ème}éd. Boeck , p82-102.

PIBIRI M.C, 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. thèse de Doctorat, Lausanne, Canada, p177.

PINCEMAIL J.,DEFRAIGNE J.D.,2004. Les antioxydants un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. Service de Chirurgie Cardio-vasculaire, Pro biox SA. Sart Tilman 4000 Liège, Belgique.

POSDI, D., SOBHANI, I., MIGNON, M.,2000.Maladie ulcéreuse et duodénale non compliquée. Dans traité de gastroentérologie, Rambaud, J. C., Edition Flammarion-Medecine-Sciences, Paris, p 329-330.

-R-

RAINA V.K., SRIVASTAVA S.K., JAIN N., AHMAD A., SYAMASUNDAR K.V. ET AGGARWAL K.K. (2002). Composition d'huile essentielle de cv du *longa L. de safran des Indes. Roma des plaines de l'Inde nordique. Journal de saveur et de parfum*, 17, p99-102.

RAJESHWARI S., JYOTI S., 2013. "Screening of Total Phenolic and Flavonoid Content in Conventional and Non-Conventional Species of Curcuma". *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* ,2(1).

RAMBAUD, J.C., 2000.Physiologie de la maladie ulcéreuse duodénale et gastrique. Dans le traité de gastroentérologie, Edition Flammarion, Paris, p 331.

RAVINDRAN P. N., NIRMALBABU K., SIVARAMAN K., 2007.Medicinal and Aromatic Plants–Industrial Profiles: Turmeric: The Genus *Curcuma*. *CRC Press*, Washintogton , p 484.

REHNER M., ROHNER HG., SCHEPP W. ,1995.Comparison of pantoprazole versus omeprazole in the treatment of acute duodenal ulceration. *Aliment Pharmacol Ther.* ,9 ,p 411-416.

Références bibliographiques

RICHARD H. ET PEYRON F., 1992. Epices et aromates. 2^{ème} éd .Tec & Doc-Lavoisier, Paris, p :339

RICHARDSON P., HAWKEY CJ., STACK WA., 1998 . Proton pump inhibitors. *Pharmacology and rationale for use in gastro-intestinal disorders .Drugs* , 56 ,p 307-335.

ROUGHLEY P. J., WHITING D. A., J., 1973. *Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 20, 2379–2388.

-S-

SHERWOOD P., 2006. Physiologie humaines , 2^{ème} édition. ·Boeck, Paris, p452-462.

SIDHU, G. S., SINGH, A. K., THALLOOR, D., BANAUDHA, K. K., PATNAIK, G. K., SRIMAL, R. C., MAHESHWARI, R. K., 1998. *Wound Repair Regen.*, 6, p167–177 .

SINHA M., MUKHERJEE B. ET DASGUPTA S.R., 1974. Etude sur les 5 contenus de hydroxytryptamine dans l'estomac de cobaye en ce qui concerne le phenylbutazone ont induit les ulcères gastriques et les effets de la curcumine là-dessus. *J. indien Pharmacol.*, 6, p87-96.

STANTON ME., BRIGHT RM., 1989. Gastroduodenal Ulceration in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 3, p238-244.

-T-

TODA, S., MIYASE, T., ARICHI, H., TANIZAWA, H., TAKINO, Y., 1985, *Chem. Pharm. Bull.* 33, p1725–1728.

TSAI S.H., 2011. Asian Journal of Arts and Sciences , 2(1),p 57-66.

-U-

UNNIKRISHNAN M.K. ET RAO M.N., 1995. Inhibition d'oxydation nitrique-induite d'hémoglobine par des curcuminoids. *Pharmazie* , 50.

-V-

VALNET M., 2005. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* intyndallized carrot broth International, *Journal of Food Microbiology*, 85, p 73-81.

-W-

WANNES W.A.,MHAMDI B., SRITI J., BEN JEMIA M., OUCHIKH O., HAMDAOUI G.,KCHOUK ME., MARZOUK B.,2010. Antioxdant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis var. italica* L.) leaf stem and flower, *Food and Chemical Toxicology*, 48,p 1362–1370.

Références bibliographiques

Annexe I

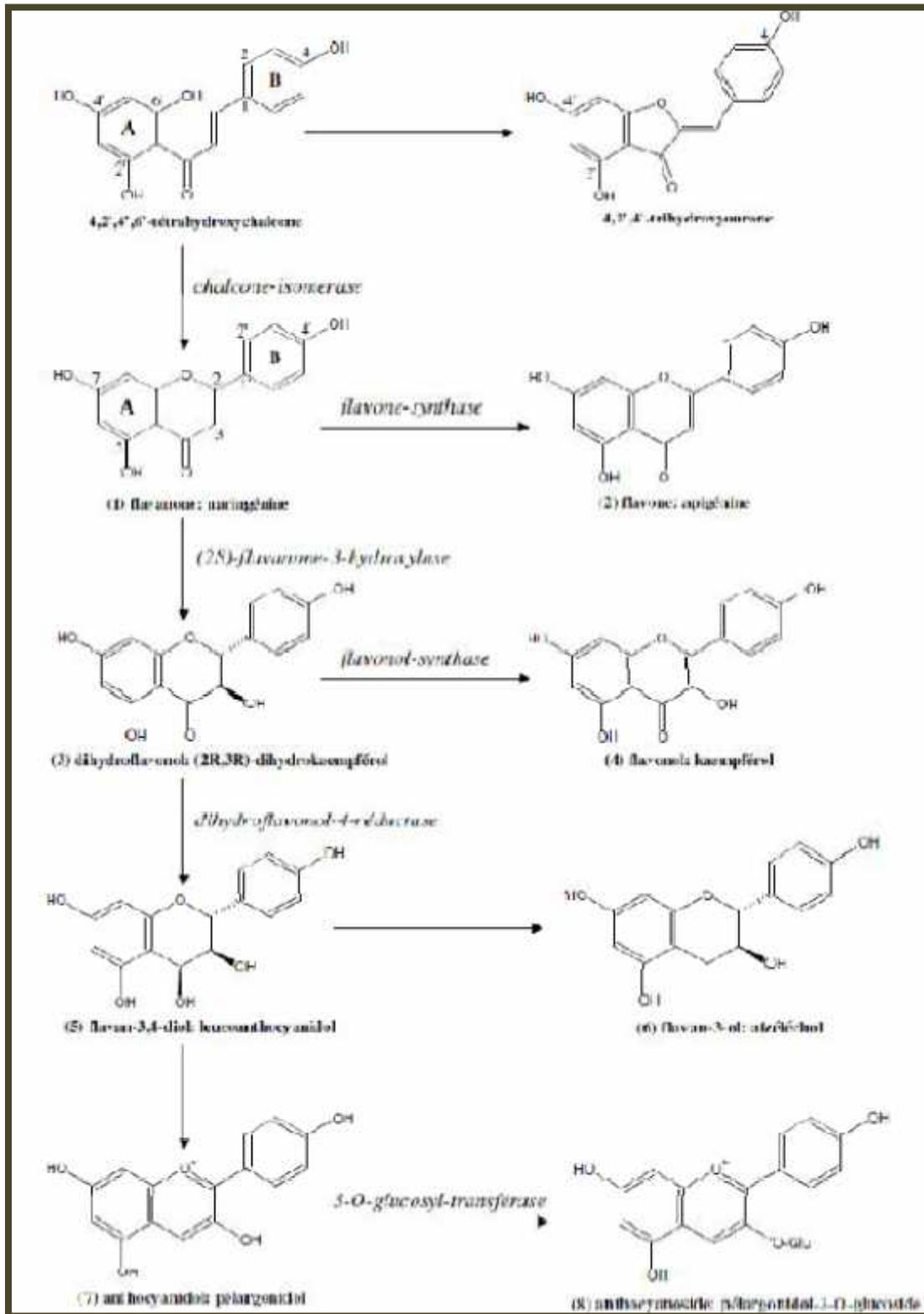


Figure 28 : Voies de biosynthèse des Flavonoïdes (Bruneton, 1999)

Annexe I

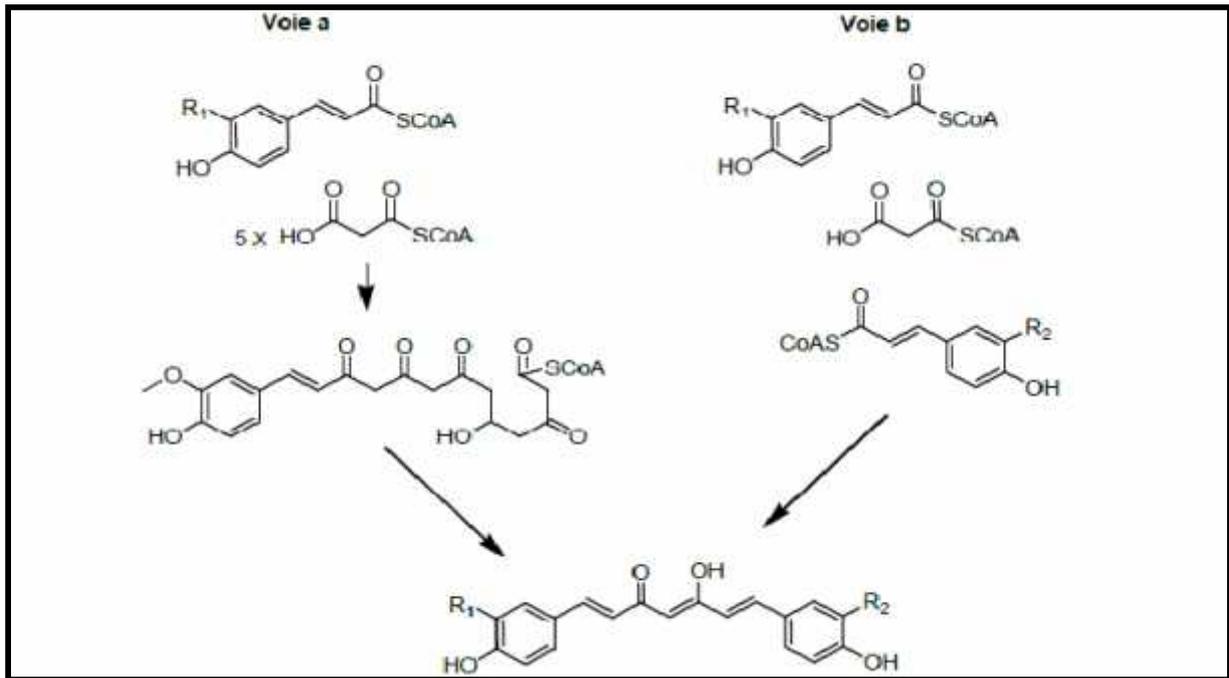


Figure 29 : Voies de biosynthèse des curcuminoïdes (Roughley *et al.*, 1973)

Annexes 2

La méthode préparative des solutions utilisés dans l'activité anti oxydante selon la **pharmacopée européenne 2010**

1-Tampon phosphate pH=6.6:

à 250ml de la solution de phosphate mono potassique (0,2M), ajoutez 89ml d'hydroxyde de sodium(0,2M)et complétez à 1000ml avec de l'eau .

2-Préparation de la solution de phosphate mono potassique (0,2M)(KH₂PO₄) :

Dans une fiole de 1000ml, dissoudre 27,22 g de phosphate mono potassique dans l'eau distillée et complétez au volume.

3-Ferricyanure de potassium 1% :

Dans une fiole de 100ml, dissoudre 1 g de poudre dans l'eau distillée.

4-Chlorure de fer 0.1%(FeCl₃)

Dissoudre 0.1g de la poudre dans 100 ml d'eau distillée.

5-Acide tri chloroacétique à 10%:

Dissoudre 10 g de poudre dans 100 ml d'eau distillée.

Annexes 3

Tableau des moyennes des poids

	Ran	Omeq	Aq	Cur
1j	184	187	175	180
4j	149	155	153	150
7j	169	173	162	167
11j	189	196	191	185

Résultats du teste ANOVA pour la variation pondérale par le logiciel SPSS.

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	3227,989	3	1075,996	11,331	0,000
Intra-groupes	1519,336	16	94,959		
Total	4747,325	19			

Le seuil de signification est inférieur de 0.05 donc il existe une signification .

Annexes 4

Verrerie et matériel non biologique

-  Bécher gradué.
-  Ballon
-  Spatules métalliques.
-  Paire de ciseaux
-  Boite de dissection
-  Lames bistouri
-  Erlenmeyer
-  Sonde à gavage
-  Loupsring de 2ml

Appareillage

-  Appareil d'hydro-distillation de type Clevenger
-  Balance pour animaux de laboratoire.
-  Balance analytique.
-  Plaque chauffante agitatrice.
-  Rotavapeurde type BUCHI R 210
-  Spectrophotimetre (UV-VIS).
-  Centrifugeuse.
-  Bain marie.
-  Appareil photo numérique.
-  Microtome.
-  Microscope optique.

Produits, réactifs et solutions

-  Xylène
-  Paraffine
-  Ethanol (80% et 100%).
-  Chloroforme
-  Ether diéthylique
-  Acetate d'éthyl
-  N- butanol
-  Diclofenac Ip 75mg
-  Ranitidine 150mg
-  Omeprazol 20mg
-  Ether

Colorant

-  Hématoxyline
-  Eosine

GLOSSAIRE

Cuticule : Membrane imperméable, souvent présente à la face supérieure des feuilles des dicotylédones, constituée de cutine.

Elliptiques : Se dit d'un cylindre ou d'un paraboløide dont certaines sections sont des ellipses, Se dit d'un mouvement à accélération centrale

Monoterpènes : Nom générique des composés dérivant de ces hydrocarbures, ils jouent un rôle important dans les industries de la parfumerie et des arômes alimentaires.

Oléorésine : Sécrétion naturelle telle que les exsudats des conifères, des copaiers et des élémis, formée d'une essence et de la résine résultant de l'oxydation de cette essence. (On recueille les oléorésines par incision du tronc.

Oxydation : Réaction chimique, souvent provoquée par l'oxygène, par laquelle on retire des électrons à un atome ou à une molécule. (L'opération opposée est la réduction.

Rhizome : tige souterraine qui porte des bourgeons, émet des racines et des tiges aériennes et sert de réserve nutritive à la plante.

Terpène : hydrocarbure insaturé cyclique présent dans les essences naturelles parfumées distillées à partir des végétaux.

Métaplasie : (*metaplasia*). Production, par les cellules d'une espèce déterminée, de tissu distinct de celui qu'elles produisent normalement ; transformation d'un tissu en tissu différent.

Anti sécrétoire : Qui inhibe partiellement ou totalement l'activité sécrétoire d'une glande, en particulier la sécrétion d'ions H⁺ par la muqueuse gastrique.

Anti émetteur : Qui arrête ou prévient les vomissements. syn. *antivomitif*.