

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DEHLEB-BLIDA 1  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire de fin d'études

En Vue de l'obtention du diplôme de  
Master II : En sciences de la nature et de la vie  
Filière : Biologie  
Option : Génie Biologique

### Thème :

**Enquête ethnobotanique et étude phytochimique et  
évaluation de quelques activités biologiques de  
*Curcuma longa* Linne**

Soutenu le 22 /12 /2013

Réalisé par :  
M<sup>r</sup> ATTOU SEIF EL ISLAM  
Mr BOUKHARI FOUAD

Devant le jury composé de :

M <sup>me</sup> : BENAZOUZE F.	MAA (USDB)	Président
M <sup>me</sup> : AMEDJKOUH H.	MAA (USDB)	Examinatrice
M <sup>r</sup> : BOUKHATEM M.N:	MAA (USDB)	Examineur
M <sup>r</sup> : BESSAAD A.	MAB (USDB)	Promoteur
M <sup>r</sup> : BOUHENNA M.	Attaché de recherche (CRAPC)	Co-promoteur

Promotion : 2012 - 2013

# Remerciements

*Avant toute chose, nous tenons à remercier Dieu le clément, le miséricordieux, qui nous a donné le courage et la patience de mener à bien ce travail.*

*C'est avec un grand plaisir que, nous adressons notre sincères remerciements à l'égard de Notre promoteur Mr Bessad A. et co-promoteur Mr bouhena M., pour leurs efforts fournis, les conseils prodigués, leurs patiences et persévérances dans le suivi du travail.*

*Nous tenons à remercier et à exprimer notre respect au président du jury M<sup>me</sup> Benazouze F., qui nous a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous exprimons toute notre gratitude aux membres du jury, Mr. Boukhatem M N., Et Amedjkouh H., qui nous ont fait l'honneur d'examiner ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent aussi aux membres du centre de recherche CRAPC qui nous ont aidé durant notre travail, ainsi que les membres du laboratoire de pharmacologie-toxicologie du groupe SAiDAL D'el Herrache .*

*Nos remerciements vont également à tous nos enseignants ayant contribué notre formation.*

*Nous ne terminerons pas sans avoir exprimé des remerciements envers toutes les Personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet.*

## **Dédicaces**

*Je tiens à dédier ce travail :*

*A ma très chère mère et grand mère à mon très cher père, en témoignage et en gratitude de leur dévouement, de leurs soutien permanent durant tous mes années d'études, leur sacrifices, leurs réconfort morale, eux qui ont consenti tants d'efforts pour mon éducation, mon instruction pour me voir atteindre ce but, pour tout cela et pour ce qui ne peut être dit, mon affection sans limite.*

*A mes frères, ma sœur, et toute ma famille.*

*A mes amis : Rahim, Yacine, Adlen, samir, sihem, ihsen, lamia, ryme et naphysa.*

*A mon binôme islem que j'ai partagé avec luit des moments inoubliables.*

*A tous mes amis de l'université et sur tous mes camarades de classe de la promotion de génie biologique 2012-2013.*

**Fouad**

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail.*

*À mes chers parents Qui ont comblés ma vie de tendresse d'affection et de compréhension, Rien au monde ne pourrait compenser les efforts que vous avez consentis pour mon bien être, et la poursuite de mes études dans de bonnes conditions. Aucune dédicace, ne saurait exprimer à sa juste valeur le profond amour que je vous porte.*

*Puisse Dieu, vous procure santé, bonheur et longue vie.*

*À mes adorables frères, sœur pour leur patience, je vous souhaite plein*

*De réussite et de bonheur.*

*À toute ma grande famille, en particulier mon grand père et ma grande mère*

*À mes amis, pour leurs soutient et encouragements,*

*À toutes les personnes que je n'ai pas citées mais que je porte dans mon cœur*

*À ma promotion de génie biologique*

*2012-2013*

## Glossaire

**Alambic** : appareil de distillation, composé principalement d'un récipient de chauffe relié à une tubulure de condensation.

**Alloxane** : un composé organique basée sur un squelette pyrimidine hétérocyclique, il existe principalement à l'état de monohydrate qui cristallise en prismes incolores, utilisé pour provoquer le diabète expérimentale de type II.

**Arthrose** : dégénérescence des cartilages articulaires qui provoque des douleurs et malformation pouvant conduire à l'invalidité.

**Bractées** : Feuille située à la base (ou aisselle) d'un pédoncule de fleur ou d'inflorescence.

**Carragénine** : un polysaccharide extrait d'algues rouges servant d'agent d'épaississement et de stabilisation dans l'industrie alimentaire, utilisé pour provoquer une inflammation expérimentale.

**Cinéol** : Principal constituant de l'eucalyptus, utilisé en thérapeutique sous le nom d'eucalyptol.

**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 paraboloïde dont certaines sections sont des ellipses, Se dit d'un mouvement à accélération centrale

**Glucophage** : (la metformine) un antidiabétique oral de la famille des biguanides normoglycémians utilisé dans le traitement du diabète de type 2. Son rôle est de diminuer l'insulino-résistance.

**Glucoronides** : oside de glucose composé dont le carbone anomérique du glucuronate possède un groupement hydroxyl provenant d'une molécule de saccharose, d'alcool ou de phénol.

**Interleukines** : Molécule sécrétée par les lymphocytes ou par les macrophages et servant de messenger dans les communications entre les cellules du système immunitaire.

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

**Œdème** : Rétention pathologique de liquide dans les tissus de l'organisme, en particulier dans le tissu interstitiel

**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.)

**Pipérine** : Principe piquant du poivre,  $C_{17}H_{19}NO_3$ , dont l'hydrolyse fournit la pipéridine et l'acide pipérique.

**Réminiscence** : (bas latin *reminiscentia*, du latin classique *reminisci*, se souvenir) Retour à la conscience claire de souvenirs non accompagnés de reconnaissance.

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

**Rhumatisme** : affection douloureuse des articulations ou des muscles, de nature inflammatoire ou dégénérative

**Sinusite** : inflammation des muqueuses qui tapissent les cavités des os de la face

**Sesquiterpènes** : Nom générique des hydrocarbures  $C_{15}H_{24}$ , dont la plupart sont des constituants odorants des huiles essentielles, utilisés en parfumerie et dans l'industrie agroalimentaire.

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

**Tradipraticiens** : sont parfois des personnes formées à l'approche scientifique dispensée en université ou des personnes revendiquant un enseignement traditionnel, qui exercent une pratique médicale non conventionnelle.

## Liste des abréviations

***C. longa*** : *curcuma longa*

**CCM** : Chromatographie sur couches minces

**CRAPC** : centre de recherches scientifiques et analyses physico-chimiques

**CRD** : centre de recherche et développement

**CG/SM** : Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse

**HE** : Huile essentielle

**R** : Rendement en huile essentielle

**DO** : Densité Optique (absorbance).

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

**ZI** : Zone d'Inhibition.

**FAO**: Food and agronomic organization

**WHO**: World Health Organization

**Glé** : glycémie

**Tem** : témoin

**CUR** : Curcumunoides

**DEC** : décocté

**REF** : référence

**DIAB** : diabétique

**TNF- $\alpha$** : tumor necrosis factor  $\alpha$

**LOX**: lipoxygénase

**Cox**: cyclooxygénase

**NF-KB**: nuclear factor kappa b

**AP-1**: activated protein 1

**PPAR**: peroxisom proliferator activated receptor

**iNOS** : monoxide d'azote synthase inductible

**NO**: monoxide d'azote

**NOS**: monoxide d'azote synthase

**ROS**: réactif oxygène species

**H2O2**: l'anion superoxyde

**Earlene**: earlenemeyer

**S**: substrat

**JECFA**: Le Comité d'experts FAO/OMS sur les additifs alimentaires

**DMSO**: Le diméthylsulfoxyde

## Liste des figures

FIGURE	TITRE	PAGE
<b>Figure 01</b>	Rhizome de <i>curcuma longa</i>	02
<b>Figure 02</b>	Feuilles de <i>curcuma longa</i>	02
<b>Figure 03</b>	Fleure de <i>curcuma longa</i>	02
<b>Figure 04</b>	Aspect général de <i>C. Longa</i>	03
<b>Figure 05</b>	Le rhizome de <i>Curcuma longa</i> frais, séché et réduit en poudre	05
<b>Figure 06</b>	Structure chimique des principaux constituants de l'huile essentielle de curcuma	08
<b>Figure 07</b>	Structure chimique des principaux curcuminoïdes	09
<b>Figure 08</b>	Voies et médiateurs cibles de l'inhibition de l'inflammation par la curcumine	14
<b>Figure 09</b>	Mécanismes moléculaire de la curcumine dans les processus pro-inflammatoires	15
<b>Figure 10</b>	Rôle des curcuminoïdes dans la diminution des gènes pro inflammatoires	15
<b>Figure 11</b>	Plan générale de l'étude expérimentale	17
<b>Figure 12</b>	Photos originale des rhizomes séchées et de la poudre végétale du curcuma	17
<b>Figure 13</b>	Localisation géographique de régions concernées par l'enquête ethno-pharmacologique	19
<b>Figure 14</b>	Système de filtration sous vide	22
<b>Figure 15</b>	Macération hydro alcoolique	22
<b>Figure 16</b>	Concentration de l'extraie hydro-alcoolique par rotavapeur	22
<b>Figure 17</b>	Protocole d'extraction de la curcumine	23
<b>Figure 18</b>	Protocole d'extraction des flavonoïdes	25
<b>Figure 19</b>	Extraction de l'huile essentielle par hudrodistilidation	26
<b>Figure 20</b>	Pattes postérieurs de souris coupée à hauteur de l'articulation	32
<b>Figure 21</b>	Protocole expérimentale de l'activité anti inflammatoire	32
<b>Figure 22</b>	Protocole expérimental de l'activité antidiabétique	35

<b>Figure 23</b>	Inoculation des substances a testés par gavage	36
<b>Figure 24</b>	Sang résultant de l'incision de la veine caudale	36
<b>Figure 25</b>	technique de diffusion sur gélose	37
<b>Figure 26</b>	Répartition des fréquences de connaissances selon l'âge	39
<b>Figure 27</b>	Fréquence de connaissance de <i>curcuma longa</i> (A) et du curcuma (l'épice) (B)	40
<b>Figure 28</b>	Répartition des fréquences de connaissances selon le sexe	40
<b>Figure 29</b>	Fréquences de connaissances selon le niveau intellectuel	41
<b>Figure 30</b>	Repenses relatives à la partie utilisée de la plante <i>curcuma longa</i>	41
<b>Figure 31</b>	Repenses relative à la provenance de la plante <i>curcuma longa</i>	42
<b>Figure 32</b>	Réponse relative aux cas d'utilisation du curcuma	42
<b>Figure 33</b>	Fréquence de connaissance des vertus médicinales du curcuma	43
<b>Figure 34</b>	Réponses relatives aux propriétés thérapeutiques du curcuma	43
<b>Figure 35</b>	Les différentes maladies traitées par le curcuma	44
<b>Figure 36</b>	Fréquence de connaissance du principe actif du curcuma « la curcumine	44
<b>Figure 37</b>	les extraits obtenus des différentes extractions	49
<b>Figure 38</b>	Courbe d'étalonnage d'acide gallique	50
<b>Figure 39</b>	Analyse GC-MS de l'HE du curcuma	53
<b>Figure 40</b>	Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait méthanolique du curcuma	54
<b>Figure 41</b>	Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait méthanolique de curcuma	55
<b>Figure 42</b>	pourcentage d'inhibition du DPPH par la vitamine C	55
<b>Figure 43</b>	Différence du poids des pattes gauches et droites des souris dans la totalité des lots après injection de la carraginnine	57
<b>Figure 44</b>	Différence du poids entre les deux pattes dans chaque lot individuellement.	57
<b>Figure 45</b>	Distribution du pourcentage d'œdème et du pourcentage de réduction de l'œdème de chaque extrait	58
<b>Figure 46</b>	Variation de la glycémie en fonction du temps avant et après traitement	60

<b>Figure 47</b>	Variations de la glycémie en fonction du traitement	61
<b>Figure 48</b>	Pourcentage de réduction de la glycémie a court et a long terme de chaque extrait	61
<b>Figure 49</b>	Variation de la glycémie chez les rats dans chaque lot	62
<b>Figure 50</b>	Résultats de l'activité antimicrobienne pour l'extrait aqueux	65
<b>Figure 51</b>	Résultats de l'activité antimicrobienne pour l'extrait flavonoïque	66
<b>Figure 52</b>	Résultats de l'activité antimicrobienne pour l'extrait de curcuminoïdes	66
<b>Figure 53</b>	Résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de curcuma	67
<b>Figure 54</b>	Voies d biosynthèses des polyphénols	annexe 1
<b>Figure 55</b>	Voies de biosynthèse proposées des curcuminoïdes	annexe 2
<b>Figure 56</b>	Matériel de laboratoire utilisé	annexe 7
<b>Figure 57</b>	A : Composés chimiques identifiés	annexe 7
<b>Figure 57</b>	B : Concentration par rotavapeur	annexe 7
<b>Figure 57</b>	C : Décantation de l'extrait chloroformique	annexe 7
<b>Figure 58</b>	A: concentration de l'extrait méthanolique préparés pour le test DPPH	annexe 7
<b>Figure 58</b>	B : Glucomètre contour TS	annexe 7
<b>Figure 59</b>	Gavage des extraits aux souris	annexe 7
<b>Figure 60</b>	Système de filtration par un disque contenant un papier Whatman	annexe 7

## List des tableaux

TABLEAU	TITRE	PAGE
<b>Tableau 01</b>	Les dénominations du curcuma	04
<b>Tableau 02</b>	Principales classes de composés phénoliques	07
<b>Tableau 03</b>	fractions chimiques des curcuminoïdes	09
<b>Tableau 04</b>	composition nutritionnelle de la poudre de curcuma	11
<b>Tableau 05</b>	Propriétés thérapeutiques des molécules bioactifs du curcuma	12
<b>Tableau 06</b>	Les souches utilisées dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne	19
<b>Tableau 07</b>	Gamme d'étalonnage de l'acide gallique	28
<b>Tableau 08</b>	concentrations préparées pour le test de l'activité antioxydant	29
<b>Tableau 09</b>	Résultat du screening phytochimique	45
<b>Tableau 10</b>	Teneur en eau de la poudre végétal de curcuma	46
<b>Tableau 11</b>	Résultat de l'extraction hydro alcoolique	47
<b>Tableau 12</b>	Résultats de l'extraction avec les solvants à polarité croissante	47
<b>Tableau 13</b>	résultats de l'extraction du principe actif du curcuma	48
<b>Tableau 14</b>	Rendement en huile essentielle	48
<b>Tableau 15</b>	Caractères organoleptiques de l'HE du curcuma	49
<b>Tableau 16</b>	Teneur en composés phénoliques et curcumine dans la poudre du curcuma	51
<b>Tableau 17</b>	Analyse qualitative et quantitative de l'HE de curcuma par	52
<b>Tableau 18</b>	Résultats de l'activité antimicrobienne pour l'extrait aqueux	65
<b>Tableau 19</b>	Résultats de l'activité antimicrobienne pour l'extrait flavonoïque	65
<b>Tableau 20</b>	Résultats de l'activité antimicrobienne pour l'extrait de curcuminoïdes	66
<b>Tableau 21</b>	Résultats de l'activité antimicrobienne pour l'huile essentielle	67
<b>Tableau 22</b>	L'analyse statistique de l'activité anti inflammatoire	Annexe 5

<b>Tableau 23</b>	L'analyse statistique de l'activité anti diabétique	Annexe 5
<b>Tableau 24</b>	profile chromatographique de l'HE du curcuma	Annexe 5

## Résumé

---

Plusieurs travaux scientifiques ont étudiés le curcuma mais elle reste assez méconnue en Algérie. D'où l'intérêt de l'étude que nous avons menée. Ainsi nous avons procédé dans un premier temps par une enquête ethnobotanique réalisée auprès de 40 personnes, des herboristes, phytothérapeutes, tradipraticiens, agronomes et simple utilisateurs du curcuma, l'enquête nous a confirmé que les propriétés thérapeutiques du curcuma sont inconnues dans notre région, le centre algérien.

Pour l'étude expérimentale, nous avons réalisé un test phytochimique qualitatif comportant un Screening chimique, dont le but est de connaître les différents constituants chimiques de la poudre de curcuma dont les résultats ont montré la présence de plusieurs métabolites secondaires tels que les composés phénoliques principalement les curcumunoides, les terpènes, les flavonoïdes, leuco-anthocyane et les saponosides, suite à quoi nous avons réalisé l'extraction des flavonoides, curcumunoides, l'huile essentielle (HE) et en fin l'extrait aqueux.

Un dosage des polyphénols totaux et du principe actif du curcuma (la curcumine) a été effectué et qui a révélé une teneur de 38.4 (mg EAG/g) en polyphénols et 3.586(%) en curcumine. L'analyse CG/SM de l'huile volatile a révélé la présence de 3 fractions majoritaires (Ar-tumerone 21.46%,  $\alpha$ -tumerone 19.23%,  $\beta$ -tumerone 13.40%).

nous avons prospecté quelques activités pharmacologiques des différents extraits de curcuma à savoir une évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante, de son extrait méthanolique, qui a donné un pourcentage de réduction du DPPH de 75.4%, comparé avec celui de l'acide ascorbique qui est de 96% ce qui est considéré comme étant une très bonne réponse.

Cette partie du travail avait aussi pour but d'évaluer *in vivo* l'activité anti inflammatoire de l'extrait aqueux et de l'extrait de curcumunoides qui ont réduits l'œdème induit par carragénine de façon aussi significative que le Diclofenac avec les taux d'inhibition respectifs (54.81%, 51.62%, 53.35%), tant dis que l'extrait flavonoïque et l'huile essentielle ont faiblement réduits l'œdème (26%, 28%) avec une marge d'erreur très inférieure à 0.0001 ( $p < 0.001$ ). L'évaluation *in vivo* de l'activité antidiabétique de l'HE a fortement diminué la glycémie de 61.80%, qui concurrence le glucophage avec 63.28% avec une marge d'erreur très inférieure à 0.0001 ( $p < 0.001$ ). Quand à l'activité antimicrobienne évaluée par la méthode de diffusion sur milieu solide, elle a montré que l'effet anti bactérien et anti fongique de l'HE est plus important que celui des autres extraits, flavonoïque, aqueux et curcumunoides.

Ce travail met la lumière sur les grands bienfaits du curcuma et ouvre une porte sur des travaux ultérieurs afin de généraliser son utilisation dans notre pays.

**Mots clés :** *Curcuma longa*, curcuma, curcumunoides, activités biologiques, screening phytochimique.



## Abstract

Several scientific studies have been reported on this plant (*curcuma longa*), but it remains relatively unknown in Algeria. Hence the importance of the study that we conducted. So we proceeded at first by an ethnopharmacological survey of 40 people, herbalists, traditional healers, agronomists and simple user of tumeric. Our investigation confirmed that the therapeutic properties of tumeric are relatively unknown in our region.

At second step, we carried out a qualitative test comprising phytochemical Screening, whose purpose is to know the different chemical constituents of turmeric powder, the results showed the presence of several secondary metabolites such as: phenolic compounds mainly curcuminoids, terpenes, flavonoids, leuco anthocyanin and saponins, whereupon we made the extraction of flavonoids, curcuminoids, essential oil and the aqueous extract.

After the qualitative study, we passed to a quantitative analysis, which is summarized by a determination of total phenolic content and the active ingredient of turmeric (curcumin), whose contents are 38.4 (EAG mg / g) and 3.586 (%) respectively. The GC / MS analysis of the volatile oil revealed the presence of 3 fractions majority (Ar-tumerone 21.46%,  $\alpha$ -tumerone 19.23%,  $\beta$ -tumerone 13.40).

In the third step, we explored some pharmacological activities of various extracts of tumeric, including in vitro evaluation of the antioxidant activity of the methanol extract, which give a percentage of reduction of DPPH of 75.4 % compare with that of ascorbic acid is 96 %, which is considered a very good response.

This part of the work was also to evaluate in vivo anti-inflammatory activity of the aqueous extract and extract of curcuminoids, who reduced the edema induced by carragénine as significantly as Diclofenac, with rates respective inhibition ( 54.81% , 51.62% , 53.35%), while that the flavonoid extract and essential oil were slightly reduced edema (26%, 28%).

The in vivo evaluation of the anti-diabetic activity of the essential oil has declined from 61.80% of glucose, which competes glucophage with 63.28%.

When antimicrobial activity evaluated by the diffusion method on solid medium, showed that the antibacterial and antifungal effect of the essential oil was more important than other extracts, flavonoid, curcuminoids and aqueous extract.

This study highlights the large benefits of tumeric, and opens larges perspectives for more investigations in order to generalize the use of turmeric in our country.

**Keywords:** *Curcuma longa*, turmeric, curcuminoids, biological activities, phytochemical screening.

يعتبر الكركم (الكركم الطويل) من النباتات المعمرة الصغيرة ذات الجذور، حيث أنها تنتمي إلى الفصيلة الزنجبيلية يعود أصلها إلى جنوب شرق آسيا، حيث أجريت عدة دراسات علمية على هذه النبتة على الصعد العالمي، مع ذلك لا تزال غير معروفة في الجزائر، و من هذا المنطلق تأتي أهمية هذه الدراسة التي أجريناها.

هذا فقد تطرقنا في البداية إلى دراسة ميدانية تضم 40 شخصا، من بائعي الأعشاب، أطباء أعشاب، مهندسين زراعيين و مستعملين عاديين للكركم، أثبتت نتائج التحقيق أن الخصائص العلاجية للكركم غير معروفة نسبيا في منطقتنا. في المرحلة الثانية قمنا بإجراء اختبار فيتوكيميائي نوعي المتمثل في فحص كيميائي الهدف منه معرفة مكونات المركبات الكيميائية لمسحوق الكركم، حيث أظهرت النتائج عن وجود العديد من نواتج الأيض الثانوية و هي المركبات الفينولية الكركمونيديد أساسا، التربين، الفلافونويد، الأنتوسيانين، الصابونين و غيرها قمنا باستخراج الفلافونويد و الكركمونيديد، الزيت الاساسي و المستخلص المائي بعد الدراسة النوعية تطرقنا إلى دراسة كمية و التي يمكن تلخيصها في تقرير إجمالي للمركبات الفينولية و العنصر النشط في الكركم (الكركمين) حيث قدرت محتوياتها ب 38,4 (ملغ EAG/غ) و 3,58 بالمئة على التوالي وكشف تحليل GC/MS للزيت الاساسي عن وجود تسعة مكونات تمثل الأغلبية AR تيميريون % 21,46،  $\alpha$  تيميريون % 19,23،  $\beta$  تيميريون % 13,4، سيسكيفلندران % 3,12، Ar كركمان % 2,66  $\alpha$  زنجبيران % 2,58، كركمان  $\alpha$  % 2,57،  $\alpha$  أثلنتون % 2,52، فالندران % 1,80.

في المرحلة الثالثة من الدراسة قمنا بتقييم بعض الأنشطة الدوائية لمختلف المستخلصات من الكركم و هي تقييم في المختبر للنشاط المضاد للأكسدة لمستخلص الميثانول الذي أعطى نسبة لل DPPH تقدر ب % 75,4 مقارنة مع حمض الأسكوربيك ب % 96 و التي تعتبر نتيجة جيدة جدا.

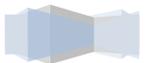
هذا الجزء من العمل هو لتقييم النشاط المضاد للالتهاب في الجسم الحي، حيث كانت النتائج جيدة لمستخلص المائي و مستخلص الكركمونيديد اللذان قاما بتقليص الوذمة الناجمة عن الكاراجينان مقارنة مع الديكلوفيناك بنسبة تثبيط (54,8%، 51,62%، 53,35%) على التوالي أما بالنسبة لمستخلص الفلافونويد و الزيت الاساسي فكانت نسبة تقليص الوذمة ضعيفة % 26، % 28.

أظهر التقييم في الجسم الحي للنشاط المضاد لسكرى أن الزيت الاساسي قام بنسبة تخفيض عالية للسكر ب % 61,80 منافسا بذلك للجلكوفيج % 63,28 في حين أن مستخلص الكركمونيديد و المستخلص المائي قاما بالتخفيض النسبي لنسبة السكر في الدم (% 46,82 و % 42,06) على التوالي.

أما بالنسبة لتقييم النشاط المضاد للمكروبات من خلال طريقة نشرها على المتوحطة الصلبة أظهر أن التأثير المضاد للجراثيم و المضاد للفطريات للزيت الاساسي له نتيجة أكثر أهمية من باقي المستخلصات.

هذا العمل يسلط الضوء على المنافع الرئيسية للكركم و يفتح باب أعمال مستقبلية لتعميم استعمالها في الجزائر.

الكلمات الرئيسية: الكركم الطويل، الكركم، الكركمونيديد، مضاد الأكسدة، مضاد الالتهاب، مضاد لداء السكري.



Glossaire	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	
Introduction	
<b>CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
1. Historique et origine du curcuma .....	01
2. Usage .....	01
3. Présentation de la plante .....	01
3.1. Description botanique de la plante .....	01
3.2. Classification systématique .....	04
3.3. Etymologie .....	04
3.4. Répartition géographique .....	04
3.5. Exigence édaphique de la plante.....	04
3.6. L'épice .....	05
4. Les huiles essentielles .....	05
4.1. Localisation des huiles essentielles .....	05
4.2. Extraction des huiles essentielles .....	05
4.3. Principale méthode d'extraction .....	06
4.3.1. L'entraînement à la vapeur .....	06
5. Les composés phénoliques .....	06
5.1. Biosynthèse des composés phénoliques.....	06
5.2. Classification des polyphénols.....	06
5.3. Les flavonoïdes .....	07
6. La Composition chimique de la poudre de curcuma .....	07
6.1. Les nutriments .....	07
6.2. La fraction volatile .....	07
6.3. La fraction non volatile .....	08
6.4. Les curcuminoïdes .....	08
6.4.1. Biosynthèse des curcuminoïdes .....	08
6.4.2. Extraction .....	09
6.4.3. Propriétés physico-chimique .....	10

## *Sommaire*

---

6.4.4. Solubilité et stabilité .....	10
6.4.5. Spectre d'absorption .....	10
6.4.6. Propriétés pharmacocinétique et Biodisponibilité .....	10
<b>7. Vertus médicinales et activités biologiques .....</b>	<b>12</b>
7.1. Activité antioxydante .....	12
7.2. Activité anti-inflammatoire .....	13
7.3. Activité antidiabétique .....	16
7.4. Curcuma et cancer .....	16

### **CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES**

1. Matériel biologique .....	18
2. Enquête ethnobotanique .....	19
3. Mise en évidence des principaux constituants chimiques .....	20
4. Détermination du taux d'humidité .....	20
5. Extraction et profil chimique de la poudre de curcuma .....	20
6. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles par GC-MS .....	26
7. Dosage des composés phénoliques totaux .....	27
8. Détermination de la teneur en curcumine (%) .....	28
9. Étude des activités biologiques .....	29
9.1. Evaluation de l'activité antioxydant ( <i>in vitro</i> ) .....	29
9.2. Evaluation de l'Activité anti-inflammatoire ( <i>in vivo</i> ) .....	30
9.3. Évaluation de l'Activité antidiabétique .....	33
9.4. Evaluation de l'activité anti microbienne .....	36
10. Evaluation statistique .....	38

### **Chapitre III: RESULTATS ET DISSCUSION**

1. L'enquête ethnobotanique .....	39
2. L'étude phytochimique .....	45
2.1. Mise en évidence des principaux constituants chimiques .....	45
2.2. Détermination du taux d'humidité .....	46
3. Extraction, rendement et caractéristiques organoleptiques .....	46
4. Dosage des polyphénols totaux et de la curcumine .....	49
5. Analyse de l'huile essentielle par GC-MS .....	51
6. Etude des activités biologiques .....	53
6.1. Activité antioxydante ( <i>in vitro</i> ) .....	53

## *Sommaire*

---

6.2. Activité anti inflammatoire ( <i>in vivo</i> ) .....	56
6.3. Activité antidiabétique ( <i>in vivo</i> ) .....	60
6.4. Activité antimicrobienne ( <i>in vivo</i> ) .....	65

Conclusion

Références bibliographiques.

Annexes

## Introduction générale

---

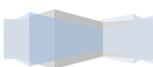
Le curcuma, *Curcuma longa L.*, est une plante vivace appartenant à la même famille que le gingembre, les Zingibéracées. Le rhizome est la partie utilisée de la plante, réduit en poudre il est utilisé en tant qu'épice alimentaire. La poudre a une saveur poivrée et amère. La couleur jaune caractéristique de la poudre de rhizome est donnée par les curcuminoïdes. Parmi ceux-ci, la curcumine est la molécule la plus abondante et la plus étudiée (**Hombourger, 2010**).

utilisée depuis des siècles en médecine traditionnelle indienne (médecine ayurvédique) et chinoise, pour traiter l'asthme, les allergies, les désordres hépatiques comme la jaunisse, l'anorexie, les rhumatismes, le rhume et la sinusite (**Aggarwal et al., 2007**).

Ces dernières années, avec l'augmentation entre autre des maladies inflammatoires chroniques, des cancers et de la maladie d'Alzheimer, le monde occidental s'est intéressé de plus en plus à cette épice. En effet, il a été constaté que le cancer du côlon est moins fréquent dans les pays où l'on consomme du curry quotidiennement (**Hombourger, 2010**).

Plusieurs études utilisant les techniques modernes ont authentifié le curcuma utilisé comme anti-inflammatoire, antimicrobien, anticancéreux, antidiabétiques, antioxydant, hypolipédimiant, anti-venin, anti hépato-toxique, néphroprotecteur, anticoagulant et autres (**Ishita , 2004**).

Avec plus de 4500 publications sur PubMed au cours de ces dix dernières années, la recherche sur le curcuma éveille sans cesse l'intérêt de nombreux scientifiques. Face à cet intéressement de la communauté scientifique internationale vis-à-vis le curcuma et Ces vertus thérapeutiques et la méconnaissance plus la pauvre utilisation de ce produit dans notre pays, nous avons trouvé nécessaire d'entreprendre une étude d'approche expérimentale permettant de vérifier quelques une de ces vertus à fin d'ouvrir une brèche sur d'autres études dans le soucie est de faire connaitre cet épice et son principe actif chez différents utilisateurs, en allant des différents exploitants jusqu'au simple consommateur, en généralisant son utilisation.



# SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

---

## 1. HISTORIQUE ET ORIGINE

Le curcuma est une épice qui fait l'objet d'échanges commerciaux depuis longtemps qu'on ne peut déterminer avec certitude son origine. On pense cependant qu'il vient du sud ou du sud-est de l'Asie, peut-être plus spécifiquement de l'Inde, d'où il se serait répandu dans toute l'Asie, de même qu'au Proche et au Moyen-Orient, il y a des milliers d'années (**Penso, 1986 ; Perry, 2008**).

Le curcuma a été au commencement cité dans la médecine ayurvédique (médecine traditionnelle indienne) où on l'a prescrit pour traiter l'ictère (**Ravindran, 2007**). Il a été présenté en Chine avant le 7<sup>ème</sup> siècle et en Afrique vers le 13<sup>ème</sup> siècle. L'épice a été apportée la première fois à l'ouest, essentiellement vers l'Europe par Arab Sailors (**Aggarwal et al., 2007**). Il a été également énuméré comme agent de coloration dans les écritures de Marco Polo durant son voyage 1280 vers la Chine et l'Inde. Puis il a été exposé en Amérique du Nord pendant la domination coloniale britannique au-dessus de l'Amérique (**Sharma, 2005**).

## 2. USAGE

Le curcuma est cultivé pour ses rhizomes, d'abord comme colorant, ensuite comme épice pour la cuisine. En Afrique de l'ouest, le curcuma est surtout utilisé comme colorant pour teindre en jaune d'or des produits tels que le cuir tanné, les tissus en coton, le fil et les fibres de palme (**Jansen et al., 2005 ; Kamble et Soni, 2008**).

En Asie, le curcuma est largement utilisé comme l'un des principaux ingrédients du curry (qui contient jusqu'à 25% de curcuma). En Occident, la poudre de curcuma est largement employée dans l'industrie alimentaire, notamment en tant que colorant (E100) dans les aliments transformés (**Aggarwal et al., 2007**), elle rentre dans la fabrication de nombreux médicaments c'est un très puissant antioxydant, anti-inflammatoire (**Delaveau, 1987 ; Araujo et Leon, 2001 ; Jansen, 2005 ; Goel et al., 2008**).

## 3. PRESENTATION DE LA PLANTE

### 3.1. Description botanique de la plante

*Curcuma longa*, est une grande plante herbacée vivace, rhizomateuse, monocotylédone, de la famille des Zingibéracées (famille du gingembre) mesurant de 60 cm à 1 m de hauteur, elle est robuste et érigée (**OMS Monographs on selected medicinal plants, 1999 ; Mishra, 2009**).



### 3.1.1. Le rhizome

Les rhizomes principaux de forme ovoïde fournissent le curcuma rond et les secondaires le curcuma long. Épais, écailleux, charnu, comportant un tubercule primaire ellipsoïde d'environ 5 cm × 2,5 cm, présentant à maturité de nombreux rhizomes latéraux digités d'un diamètre voisin du centimètre se ridant par dessiccation, de couleur jaune orangé en section, gris brunâtre en surface. Une odeur aromatique se dégage après section du rhizome (Jansen, 2005 ; Rivera-Espinoza et al., 2009).

### 3.1.2. Les feuilles

Elles sont larges, très longues, oblongues à elliptiques, naissent à partir du rhizome (Boullard, 2001). Les gaines des feuilles forment une pseudo tige courte, les limbes sont vert foncé au-dessus, vert très clair en dessous, criblés de points translucides (Ravindran, 2007 ; Loap, 2008).

### 3.1.3. L'inflorescence

Issue du rhizome les fleurs sont regroupées en inflorescences coniques sous forme d'épis protégés par de grandes bractées, elles sont organisées par paires. Elles sont verdâtres ou blanches à sommet rose. Longues de 5 à 6 cm (Boullard, 2001).



**Figure 01 :** rhizomes de *curcuma longa* (lamouche, 2011)

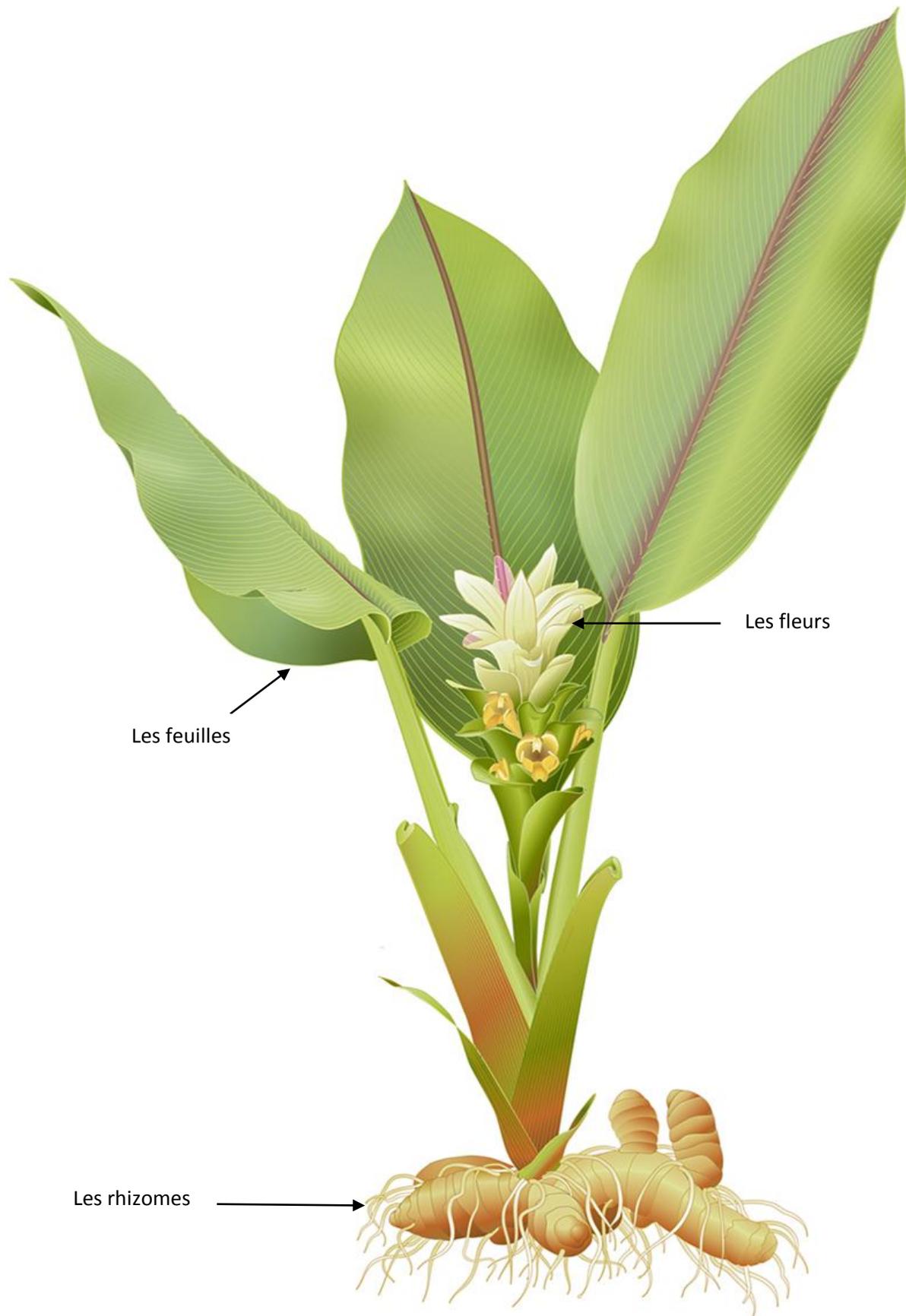


**Figure 02 :** feuilles de *curcuma longa* (lamouche, 2011)



**Figure 03:** fleur de *curcuma longa* (lamouche, 2011)





**Figure 04:** Aspect général de *C. longa* (Rivera-Espinoza et al., 2009)



### 3.2. Classification systématique

On dénombre près de 80 espèces dans ce genre (**Guldner, 1986**). Parmi ces espèces, *Curcuma xanthorrhiza* roxburgh dit *temoe lawak* et la zédoaire, décrite sous le nom de *Curcuma zedoaria* roscoe ou *Curcuma zerumbet* roxburgh (**Delaveau, 1987**).

Règne	plante
Embranchement	spermaphyte
Sous embranchement	angiosperme
Classe	monocotylédone
Ordre	zingibérale
Famille	zingibéracée
Genre	curcuma
Espèce	<i>curcuma longa</i> L.

### 3.3. Etymologie

Le terme de curcuma est d'origine irano-indienne, il dérive du sanscrit *kartouma* qui a donné *Kurkum* en persan ancien, *kourkoum* en arabe et curcuma en latin (**Delaveau, 1987**).

**Tableau I : Les dénominations du curcuma (Ravindran, 2007)**

Langue	Dénomination
ARABE	kourkoum
FRANÇAISE	Curcuma longa, safran des indes, terre-mérite
ANGLAIS	Tumeric, indian safran
ALLEMAND	Kurkumawurzel
HINDI	Haldi

### 3.4. Répartition géographique

Bien que le *curcuma longa* soit maintenant cultivé en Inde, le Pakistan, la Malaisie, Myanmar, le Viêtnam, la Thaïlande, Philippines, le Japon, la Chine, la Corée, le Sri Lanka, le Népal, l'Afrique de l'ouest, les îles malgaches, les Caraïbes, et l'Amérique centrale, actuellement l'Inde est le producteur et l'exportateur principale du curcuma (**Sasikumar, 2004**).

### 3.5. Exigences édaphique de la plante

Le curcuma est cultivé jusqu'à 1200 m d'altitude, il demande un climat humide et chaud avec des températures optimales de 30 à 35°C, il nécessite des précipitations suffisantes (1000-2000 mm) ou que l'on puisse irriguer. Le curcuma pousse sur divers types de sol, mais préfère des limons fertiles ou argileux, bien drainés, riches en matières organiques, et de pH 5 à 7,5 (**Jansen, 2005 ; Ravindran, 2007**).

#### 4. L'épice

C'est le rhizome qui constitue la partie médicalement intéressante de la plante. Il est récolté sept à dix mois voire douze mois après la plantation, lorsque la tige et les feuilles sont séchées. Il est généralement utilisé après avoir été bouilli, nettoyé, séché puis réduit en poudre, de couleur jaune d'or ou jaune orangée. On obtient ainsi l'épice "curcuma" ou "safran des indes" (Ammon, 2008 ; Jansen, 2005).



**Figure 05** : Le rhizome de *Curcuma longa* frais, séché et réduit en poudre (Goel et al., 2008)

#### 5. LES HUILES ESSENTIELLES

Plusieurs définitions disponibles d'une huile essentielle convergent sur le fait que les huiles essentielles, communément appelées "essences" sont des produits de composition généralement assez complexe, renfermant les principes odorants volatils contenus dans les végétaux. Ce sont des substances odorantes, huileuses, volatiles, incolores ou jaunâtres, inflammables, s'altérant facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont ordinairement liquides à la température ambiante, et n'ont pas le caractère gras et onctueux des huiles fixes au toucher (Durville, 1930).

##### 5.1. Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont produites dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : les fleurs, les feuilles, les écorces, les bois, les racines, les rhizomes, les fruits et les graines (Anton et Lobstein, 2005 ; Bruneton, 1993).

##### 5.2. Extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et du l'arôme du départ au cours de l'extraction (Samate, 2001).

### 5.3. Principales méthodes d'extraction

Plusieurs méthodes d'extraction sont connues mais nous nous intéressons à celle qui nous concerne dans ce travail.

#### 5.3.1. L'entraînement à la vapeur d'eau

Basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînaibles par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe (**Bruneton, 1993**).

## 6. LES COMPOSES PHENOLIQUES

Ce sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (**Garcia-salas et al., 2010**). De poids moléculaire compris entre 500 et 3000 daltons, présents dans tous les organes de la plante racines, feuilles, fruits et l'écorce. (**Boizot et charpentier, 2006**). Ils représentent de 2 à 3 % de la matière organique des plantes et dans certains cas jusqu'à 10 % et même d'avantage, Ils regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (**Sarni-machado et Cheynier 2006**).

### 6.1. Biosynthèse des composés phénoliques

La biosynthèse des polyphénols constitue l'un des processus fondamentaux du métabolisme secondaire (**Guignard, 2000**). Les grandes lignes des voies de biosynthèse des principaux composés phénoliques sont maintenant bien connues, les deux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) sont présents dans les protéines mais sont également à l'origine de la formation de la plupart des molécules phénoliques chez les végétaux. Ces composés sont issus par deux grandes voies Métaboliques.

- **La voie de l'acide shikimique:** est la voie de formation des métabolites secondaires à partir des glucides (**Seigler, 1998 ;Knaggs, A.R., 2003**).
- **La voie de l'acétate malonate :** est la voie de formation des acides phénols et des autres composés phénoliques à partir d'unités acétate (**Bruneton, 1999 ; Nacz et Shahidi, 2004**) (voir annexe 1).

### 6.2. Classification des polyphénols

Harborne (1980), a proposée une classification de ces substances. On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre



d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base (**Harborne, 1980 ; Herbert, 1989 ; Macheix et al., 2005; beta et al., 2005**).

**Tableau II** : Principales classes de composés phénoliques (**Harborne, 1989 ; Macheix et al., 1990**)

Squelette carboné	Classe
C <sub>6</sub>	Phénols simples
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides hydroxybenzoïques
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinnamiques Coumarines
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Tannins condensés

### 6.3. Les flavonoïdes

Du latin flavus signifie jaune, se sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux, on les trouve dissoutes dans la vacuole à l'état d'hétérosides (**Guignard, 2000**). Les flavonoïdes regroupent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Il s'agit de substances de combinaisons aromatiques en anneau, liées à des molécules de glucose et à d'autres molécules (**Wolfgang, 2008**).

## 7. COMPOSITION CHIMIQUE DE LA POUDRE

La poudre de curcuma issue du rhizome séché est constituée chimiquement de plusieurs fractions, une fraction volatile et une autre non volatile.

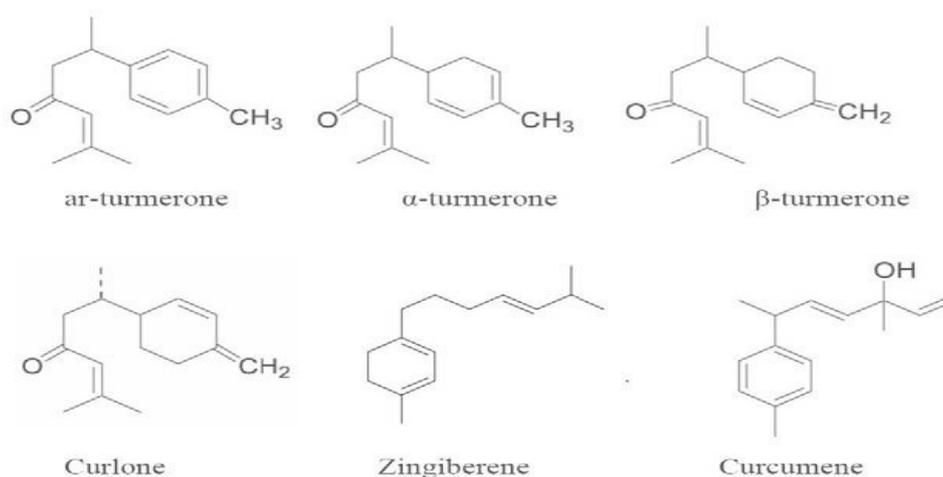
### 7.1. La fraction volatile

#### 7.1.1. Les huiles essentielles

C'est une huile essentielle encore assez peu employée, sans doute en raison d'une composition biochimique peu courante. La fraction volatile représente environ 6 à 7% de l'ensemble. Elle est obtenue par distillation à la vapeur, de couleur jaune claire et de temps en temps légèrement fluorescent avec une odeur réminiscente des rhizomes. Les rhizomes secs rapportent 5-6%, alors que les rhizomes frais donnent 0.24% d'huile essentielle (**Sharma, 2007**).

Elle est composée essentiellement de monoterpènes et de sesquiterpènes dont les  $\alpha$ - et  $\beta$ -turmerones et  $\alpha$ -turmerone pour environ 60% de l'huile, le zingiberène pour 25%, ainsi que d'autres éléments présents en faibles concentrations (atlantone, cinéole, phallandrène) (**Garg, 2002 ; Braga, 2003 ; Sharma et al., 2007**). Les concentrations varient en fonction des régions d'origine des plantes et du moment de la récolte par rapport au cycle végétal (**Jayaprakasha, 2005 ; Thaikert et Paisooksantivatana, 2009**).





**Figure 06 :** Structure chimique des principaux constituants de l'huile essentielle de curcuma (Dohare et al., 2008)

## 7.2. La fraction non volatile

### 7.2.1. L'oléorésine

L'extraction du rhizome à l'alcool éthylique, à l'acétone ou au chlorure de méthylène et à l'éthanol donne 6 à 10% d'oléorésine. C'est un mélange de curcumine et d'autres substances actives d'aspect résineux. Elle est de couleur rouge-orangée et se compose d'une couche huileuse supérieure et d'une couche cristalline inférieure (Sasikumar, 2001 ; Jansen, 2005). Elle est riche en molécules phénoliques (50 à 60%) dont les principes pigmentaires les curcuminoïdes (3-6%) (Chattopadhyay, 2004 ; Kholi, 2005 ; Jayaprakasha, 2006).

## 7.3. Les Curcuminoïdes

Le rhizome est composé de 3 à 6% de curcuminoïdes qui comprennent principalement trois fractions la curcumine, déméthoxycurcumine, bisdeméthoxycurcumine. Les curcuminoïdes sont des polyphénols hydrophobes appartient à la famille des diarylheptanoïdes (Shiyou et al., 2011). Plusieurs études ont montré que la curcumine est la fraction la plus active que la déméthoxycurcumine ou bisdeméthoxycurcumine (Hongyou et al., 2011) (Figure 07 et Tableau V).

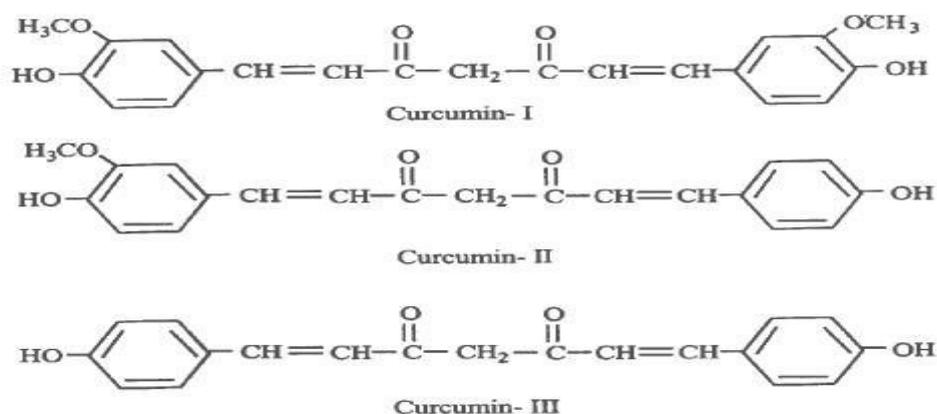
### 7.3.1. Biosynthèse des curcuminoïdes

Roughley et Whiting ont proposé deux voies pour la formation du squelette curcuminoïde

- **Voies a :** une chaîne polyacétate de dix atomes de carbone greffé sur une unité phénylpropénique, la cyclisation de la partie polyacétate donnerait le second cycle aromatique, La substitution de second noyau oxygéné de la curcumine remet en cause cette hypothèse.

- **Voies b** : la condensation de deux unités phénylpropénique et d'un carbone central fourni par une molécule malonyl-CoA. (**katsuyama et al., 2007**) (voir Annexe 2).

Récemment une étude confirme la voie (b) sauf pour l'ordre d'introduction des groupes fonctionnels, impliquant la condensation de deux unités d'acide cinnamique et un carbone central issu d'une malonyl-CoA (**katsuyama et al., (2007)**).



**Figure 07:** Structure chimique des principaux curcuminoïdes (**Jayaprakasha et al., 2006**)

**Tableau III :** Les fractions chimiques des curcuminoïdes (**Chattopadhyay et al., 2004; Kholi et al., 2005**)

		Constituants	Quantités en %
<b>01</b>		curcuminoïdes	3-6%
	A	curcumine I	70-76%
	B	monodesmethoxycurcumine (curcumine II)	16%
	C	bisdesmethoxycurcumine (curcumine III)	8%
<b>02</b>		1,7-diaryl-hepta-1-ene-3,5-dione	Traces
<b>03</b>		1,7-Bis-(4-hydroxyphényl)-1,4,6-heptatriene-3-one	Traces
<b>04</b>		1,5-diarylpenta-1,4-dienone	Traces

### 7.3.2. Extraction

Les curcuminoïdes sont classiquement extraits par des solvants organiques à partir de la poudre de rhizome. La spécification du *Joint Expert Committee on Food Additives* (JECFA) liste l'acétone le méthanol, l'éthanol et l'isopropanol comme solvants utilisables. La directive européenne 95/45/EC admet l'acétone, le dioxyde de carbone, l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane, le n-butanol, le méthanol, l'éthanol et l'hexane. La curcumine est obtenue par cristallisation à partir de l'extrait (**FAO, 2004**).



### 7.3.3. Propriétés physico-chimique

La curcumine a été isolé pour la première fois en 1815 par Vogel et Pelletier, sa structure chimique et la synthèse à été confirmée par Lampe en 1910 et 1913 respectivement. La curcumine possède un point de fusion à 183°C, sa formule moléculaire est C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub> et son poids moléculaire est de 368,37g/mol (**Hongyou et al., 2011**).

### 7.3.4. Solubilité et stabilité

La curcumine est insoluble dans l'eau et l'éther, mais soluble dans l'éthanol, le méthanol, DMSO et l'acétone (**Shen et al., 2008**). En condition physiologique elle présente un équilibre entre la forme énolique et la forme dicétonique (tautomérie) (**yang et al., 2005 ;Shen et al., 2008**).

- à pH acide: la curcumine est stable et sa couleur est jaune-orangée. la forme dicétonique prédomine à pH entre (2.5-7) et agit comme un puissant donneur de protons.
- à pH alcalin: la curcumine est instable et sa couleur devient rouge, la forme énolique prédomine à pH ≥ 8 et agit comme un donneur d'électrons, comme nombreux antioxydant phénolique (**Arrieta et al., 1988 ;Aggawal et al.,2003 ;Chirnomas et al., 2006**).

### 7.3.5. Spectre d'absorption

Le spectre d'absorption maximal de la curcumine au spectrophotomètre a lieu à 430 nm dans le méthanol et entre 415 et 420 nm dans l'acétone (**Goel et al., 2008**). La variation du spectre d'absorption est due à l'aptitude de la curcumine à former des liaisons hydrogène intra ou inter-moléculaires en fonction de solvant (**Bong, 2000**).

### 7.3.6. Propriétés pharmacocinétique et Biodisponibilité

Des essais cliniques de phase I montrent que la biodisponibilité de la curcumine est mauvaise, même à des fortes doses (12g /jour). La concentration plasmatique n'est que limitée chez les patients. Les principales raisons qui contribuent à la faible concentration plasmatique et au bas niveau du curcuma dans les tissus après administration par voies orale semblent être une mauvaise absorption, métabolisme rapide et élimination rapide (**Anand et al., 2007**).

#### A. Par voies orale

**A.1. Absorption :** Elle est peu absorbée par le tractus digestif et une grande partie de la dose administrée (40 à 75%) est excrétée dans les fèces (**Shoba et al.,1998**).



**A.2. Distribution :** Les concentrations obtenues en dehors de tube digestif semblent être inférieures à celle permettant de la détecter dans les organes (**Hatcher et al., 2008**).

**A.3. Métabolisation :** La curcumine est principalement métabolisée par des réactions de réduction et de conjugaison. La voie orale conduit par conjugaison dans les intestins et le foie à la formation de dérivés sulfate et de dérivés glucoronides (**Jacob al., 2007**). Ces composés conjugués se présente soit sous forme glucoronide soit sous forme sulfate (**Vareed et al., 2008**). Ces composés sont excrétés dans l'urine (**Aggarwal et al, 2009**).

### B. Par voies intraveineuse ou intra péritonéale

Après administration intraveineuse ou intra péritonéale, de grand quantités de curcumine et ses métabolites sont excrétées dans la bile, principalement sous forme glucoronide de tétrahydrocurcumine et d'héxahydrocurcumine (**Anand et al, 2007**).

### 7.4. Les nutriments

Elle contient les macronutriments et micronutriments essentiels, tel que les minerais, les graisses, les protéines et les hydrates de carbone (**Ishita , 2004**).

**Tableau IV :** composition nutritionnelle de la poudre de curcuma (**Peter, 1999**)

Constituants	Quantités pour 100g
Eau	11.4 g
Energie	1481 kJ (354 kcal)
Protéines	7.8 g
Lipides	9.9 g
Glucides	64.9 g
Amidon	54 à 55 %
Fibres alimentaires	21.1 g
Ca	183 mg
Mg	193 mg
Zn	4.4 mg
P	268 mg
Fe	41.4 mg
Vitamine A	traces mg
Thiamine	0.15 mg
Folate	39 µg
Acide ascorbique	25.9 mg
Riboflavine	0.23 mg
Niacine	5.14g



## 8. VERTUS MEDICINALES ET ACTIVITES BIOLOGIQUES

Dans la médecine traditionnelle, le curcuma est employé comme remède contre les manifestations allergiques chroniques (**Badmaev et al., 2000**), la toux, les désordres biliaires, l'anorexie, les plaies des diabétiques, les désordres hépatiques, le rhumatisme et la sinusite.

Plus récemment, des études, effectuées *in vitro* et *in vivo*, ont montré que les molécules bioactifs du curcuma possèdent des activités thérapeutiques intéressantes pour la santé humaine (**Maheshwari et al., 2006**).

**Tableau V:** Propriétés thérapeutiques des molécules bioactifs du curcuma (**Ishita , 2004**)

Primaires	Secondaires
Antioxydant	Antitumoral
Anti-inflammatoire	Fluidifiant sanguin
Hépatoprotecteur	Rubéfiant/stimulant circulatoire
Bactéricide	Hypocholestérolémiant
Fongicide	Antispasmodique
Parasiticide	Analgésique externe
Antimutagène	
	Antiviral

### 8.1. Activité antioxydant

#### 8.1.1. Les antioxydants

Sont des substances endogènes ou exogènes capables de diminuer ou empêcher l'oxydation d'autres substances chimiques (**Vansant, 2004**). Le corps produit des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, localisés dans les compartiments intra- et extracellulaire, et on les trouve également dans plusieurs aliments. Les principaux antioxydants sont les oligo-éléments vitamines C et vitamines E, les caroténoïdes, le sélénium (**Berger, 2006**).

#### 8.1.2. Activité antioxydant du curcuma

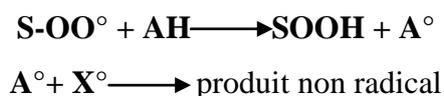
Les activités biologique du curcuma sont dues a son fort activité antioxydante (**Tilak et al, 2004**). Le curcuma se situe au cinquième rang quant à son contenu en antioxydant parmi plus de mille aliments analysés à partir de 100g (**Halvorsen, 2006**) certain sont allez à démontré que la curcumine est dix fois plus antioxydante que la vitamine E (**Santosh et al, 2009**).

La curcumine régule l'activité des enzymes antioxydants ou pro-oxydants, donc elle inhibe significativement la production des ROS par l'inhibition des enzymes pro-oxydatives tel que l'inhibition de l'iNO-synthétase (iNOS) responsable de la synthèse de l'oxyde nitrite (NO), ce dernier est un agent pro-inflammatoire très actif (**Menon et Sudheer, 2007 ;**

**Camacho-Barquero et al., 2007 ; Mathy-Hartert et al., 2009**), ou par le maintien des activités des enzymes antioxydants comme la superoxyde-dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase (**Vaquier L, 2010**), ces enzymes sont impliqués dans la régulation de la peroxydation lipidique.

La curcumine agit comme un piègeur de radicaux libres (**Figure 10**) tel que l'anion superoxyde, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO et des radicaux hydroxyles (**Vaquier et al, 2010**). Depuis que les ROS sont impliqués dans le développement de plusieurs pathologies, la curcumine présente le potentiel de contrôler ces maladies à travers son activité antioxydante (**Ishita et al, 2004**).

Le mécanisme antioxydant de la curcumine est attribué à sa structure, incluant les phénols méthoxylés et la forme énone de la β dicétone (**Araujo et Leon, 2001**) :



Où **S** est la substance oxydée, **AH** l'antioxydant phénolique, **A<sup>•</sup>** le radical antioxydant et **X<sup>•</sup>** un autre radical. **A<sup>•</sup>** et **X<sup>•</sup>** se dimérise pour former un produit non radical

## 8.2. Activité anti-inflammatoire

La lutte contre les éléments pro-inflammatoires permet de diminuer l'inflammation et ses conséquences, la douleur, l'œdème, les dégradations articulaires, les restrictions locomotrices sont autant de facteurs qui bénéficient d'une action anti-inflammatoire.

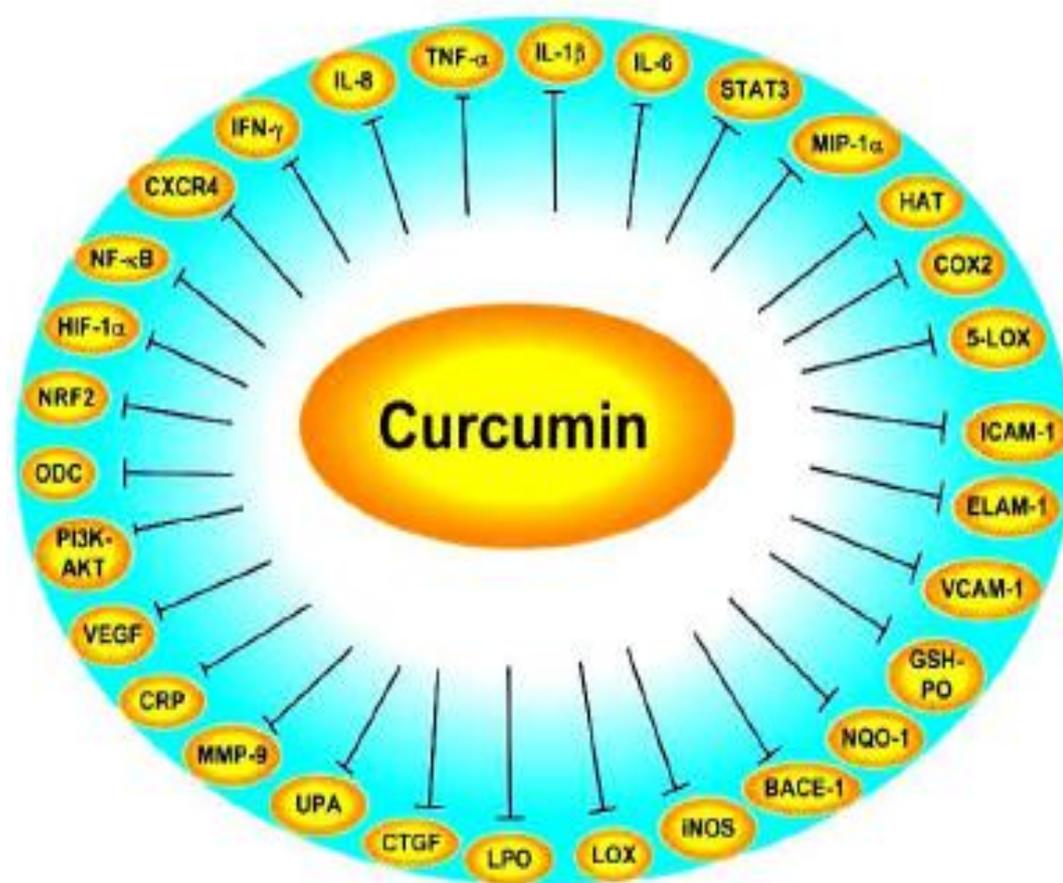
### 8.2.1. Les effets anti-inflammatoires du curcuma

Les huiles essentielles présentent une certaine activité anti-inflammatoire (**Chattopadhyay, 2004 ; Jain et al., 2007**). Cependant cet effet est surtout lié à la présence des curcuminoïdes, et tout particulièrement la curcumine, capable d'interagir avec de nombreuses cibles moléculaires impliquées dans l'inflammation, aiguë ou chronique (**Jayaprakasha et al., 2005 ; Jacob et al., 2007**), elle agit via de multiples voies physiologiques. (**Punithavathi et al., 2000 ; Jurenka, 2009**). La curcumine agit sur tout le processus inflammatoire en freinant plusieurs surexpressions de l'inflammation :

Elle provoque l'inhibition de la migration et de la prolifération des cellules pro-inflammatoires (**Punithavathi et al., 2000 ; Araujo et Leon, 2001**), l'inhibition des interleukines pro-inflammatoires 1, 6, 8, 18 et TNF-α (**Banerjee et al., 2003 ; Cho et al., 2006 ; Davis et al., 2007**), la diminution de l'activité de la phospholipase A<sub>2</sub> (**Srivastava et al., 1995**), et inhibe la lipoxigénase (5-LOX) et la cyclooxygénase (cox-2), deux enzymes

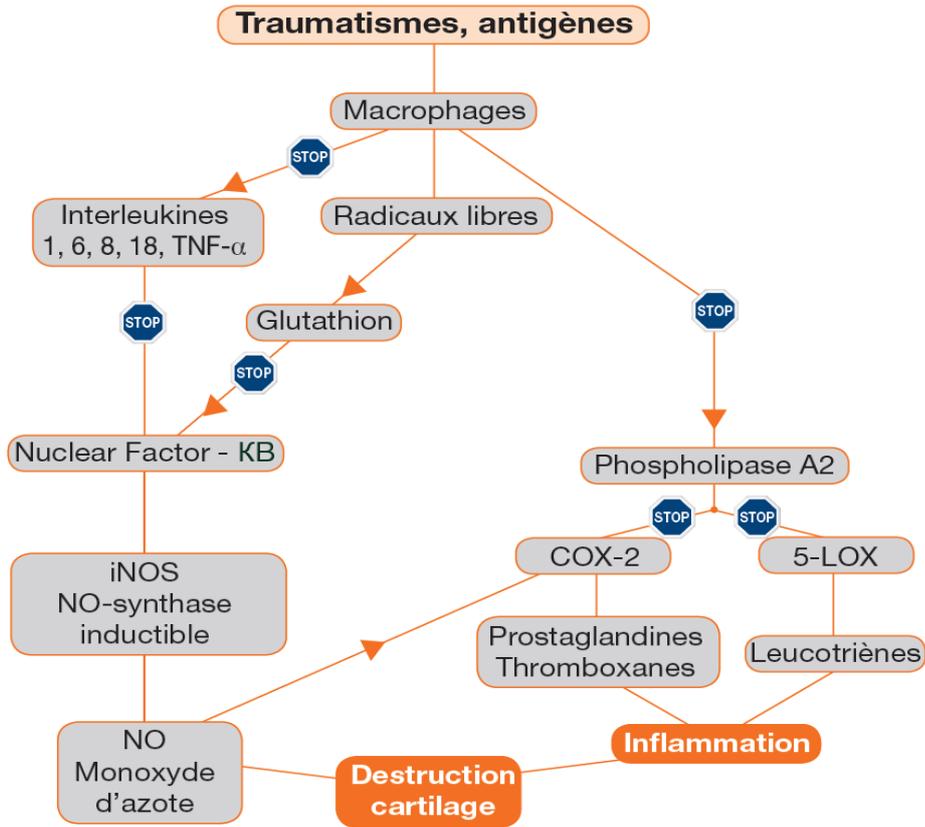
impliquées dans la dégradation de l'acide arachidonique en médiateurs de l'inflammation tels les leucotriènes et les prostaglandines (Wallace, 2002 ; Joe et al., 2004 ). Cependant elle maintient la cyclooxygénase-1 (COX-1) et le taux de prostacyclines (Srivastava et al., 1985). Elle empêche l'activation des macrophages et donc le relargage de substances cytotoxiques tels  $O_2^-$ , le monoxyde d'azote, (Chan, 1995 ).

Elle inhibe l'activation de facteurs de transcription telle le nuclear factor kappa  $\beta$  (NF- $K\beta$ ) un puissant inducteur de l'inflammation chronique, ainsi que le activated protein 1 (AP-1) et peroxisom proliferator activated receptor (PPAR). (El- Moselhy et al., 2011).

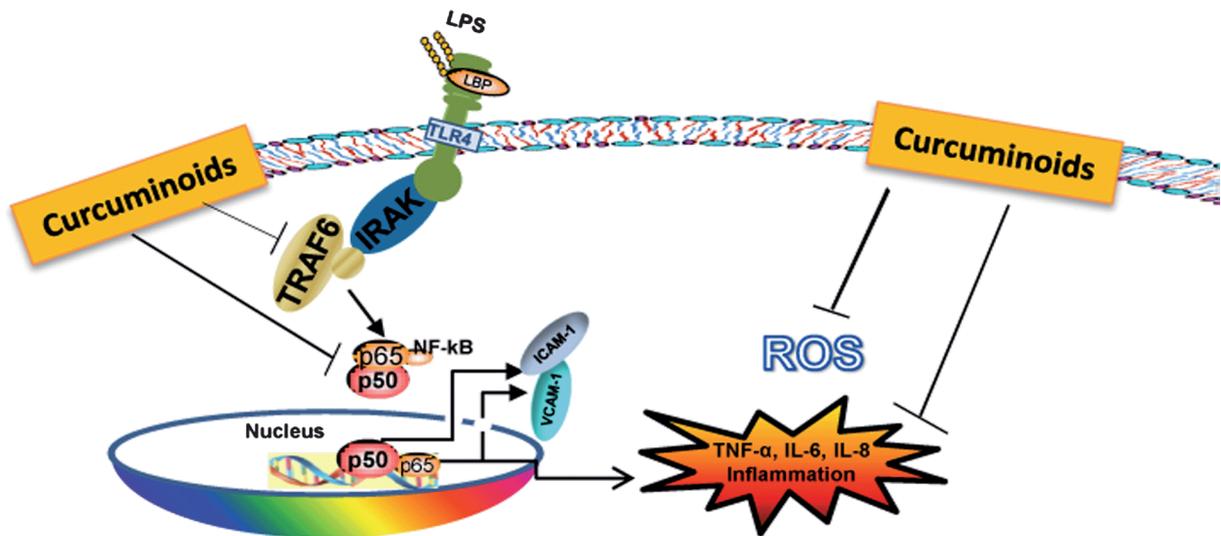


**Figure 08 :** Voies et médiateurs cibles de l'inhibition de l'inflammation par la curcumine (Aggarwal et al., 2009)





**Figure 09:** mécanismes moléculaire de la curcumine dans les processus pro-inflammatoires (Bip ,2012)



**Figure 10 :** Rôle des curcuminoides dans la diminution des gènes pro inflammatoires



### 8.3. Activité antidiabétique

Le diabète sucré est un groupe hétérogène de maladies métaboliques dont la caractéristique principale est une hyperglycémie résultant d'un défaut de sécrétion, d'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (**Sharma et al., 2008**). Il touche 4 à 5% de la population mondiale et représente la majeure source de morbidité dans les pays développés (**Ravi et al., 2005**).

Plusieurs études ont révélés les effets thérapeutiques des molécules bioactif du curcuma dans le syndrome du métabolisme glucidique, en effet Le curcuma pourrait être un ingrédient prometteur dans la prévention et / ou l'amélioration du diabète de type 2 (**Aggarwal et Sung, 2009 ; Chuengsamarn et al., 2012**).

### 9. Curcuma et cancer

Le curcuma occupe une place importante dans l'alimentation des populations de indiennes, qui en consomment jusqu'à 2 g par jour. Bien qu'aucune étude ne le démontre directement, il semble y avoir un lien entre la consommation particulièrement élevée de curcuma et la faible incidence de certains cancers (cancer colorectal) en Inde et dans d'autres pays asiatiques (**Béliveau et al., 2005**). Des études préliminaires démontrent une potentielle activité anti tumoral de la curcumine lorsque consommée en quantités importantes (**Garcea et al., 2005**).

Il n'a pas encore été complètement élucidé comment la curcumine produit ses effets anti-tumorales, mais ceux-ci sont probablement médiés par son activité antioxydante et anti-inflammatoire (**Duvoix et al, 2005**).la curcumine est capable de bloquer le facteur de transcription NF-kB qui contrôle l'inflammation et la tumorigenèse.

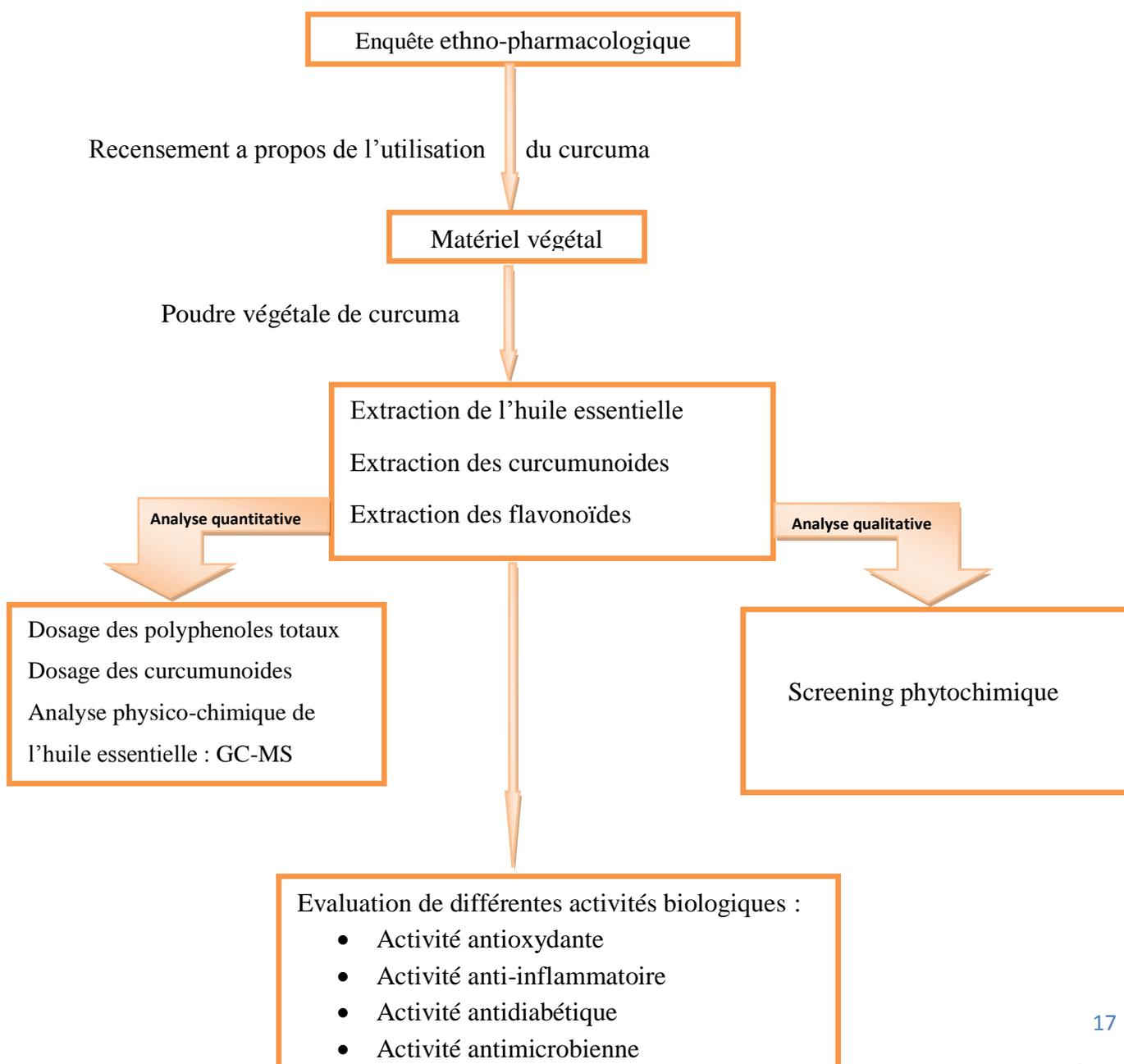
L'effet de la curcumine sur plusieurs types de cancer est étudié, d'après Aggarwal il n'ya pas de types de cancers qui ne répons pas a la curcumine. Cette dernière opère sur les cellules souches de cancer, elle inhibe la survie des cellules cancéreuse, bloque l'angiogenèse , la prolifération des cellules, leur invasion métastatique . En fin la curcumine est un inhibiteur de toutes les étapes de cancers (**Aggarwal et Shishir, 2006**).



# MATERIEL ET METHODES

---

Notre travail expérimental s'est effectué durant une période de 05 mois, nous l'avons réalisé en deux étapes, la première durant laquelle nous avons réalisé les différentes extractions et analyses physico-chimique de notre poudre végétal, a eu lieu au centre de recherche scientifique et analyse physico chimique (CRAPC) de Bousmail , et une deuxième étape durant laquelle nous avons évalué les différentes activités biologiques des extraits préparés a partir de la poudre végétale de curcuma, a eu lieu au laboratoire de pharmacotoxicologie et microbiologique du centre de recherche et développement de Saidal el Harrache (CRD).



**Figure 11:** Plan générale de l'étude expérimentale



## 1. Matériel biologique :

Pour notre étude expérimentale nous avons utilisé différents types de matériel.

### 1.1. Matériel végétal :

Notre matériel végétal se résume en poudre des rhizomes séchés de *curcuma longa* (curcuma) d'origine indienne. Les rhizomes secs ont été broyé et réduits en poudre fine de couleur jaune-orangée, juste avant son utilisation dans les différentes extractions et investigations phytochimiques, les rhizomes secs nous ont été fournis par un herboriste de la région de Blida (500g), sachant qu'ils sont très dures a brouillé par un simple moulin ils ont été réduits en poudre par l'herboriste lui même.



**Figure 12:** rhizomes séchées et de la poudre végétale du curcuma.

### 1.2. Matériel animal :

Pour la réalisation de notre expérimentation, nous avons utilisé des animaux de laboratoire qui ont été fournis et élevé par le laboratoire de pharmacotoxicologie, unité animalerie du centre de recherche et développement (CRD) Saidal d'el Harrache :

- Les rats : 30 rats de souche wistar albinos de sexe mélangé (males et femelles), de poids compris entre 200 et 300 g. Les rats sont adaptés aux conditions répondant aux normes de stabulation, ils sont utilisés pour l'évaluation de l'activité anti diabétique.
- Les souris : 36 souris de souche albinos NMRI (Naval Médical Research Institute) de poids moyen  $19g \pm 2$ , ils ont été utilisé pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire.

Les animaux sont hébergés dans des cages solides en plastique. Ils disposent d'eau du robinet *ad libitum* et d'une alimentation granulée « O.N.A.B » (49.80% de glucides, 23.5% de protéines, 5% de lipides et 5.7 % de complexe minéral vitaminé) fourni par l'animalerie du (CRD). Les animaux sont acclimatés aux conditions de l'animalerie suivantes : Une température moyenne variante de 20°C à 24° C, Eclairage : 10h, une humidité relative de 50-60 %.

### 1.3. Micro-organisme :

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des différents extraits du curcuma, nous avons utilisé les souches suivantes (**Tableau VI**) :

**Tableau VI** : Les souches utilisées dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Les souches utilisées	Coloration gram
<i>Bacillus subtilis</i> ATTC 6633	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 6538/P	+
<i>Candida albicans</i> ATTC 10231	Lévure

### 1.4. Matériel non biologique :

Le matériel utilisé au laboratoire (l'appareillage, la verrerie et les réactifs) est énuméré en Annexe 3.

## 2. Enquête ethnobotanique :

Afin d'évaluer l'intérêt d'utilisation du curcuma dans notre région, et pour recenser ses différentes activités thérapeutiques, une enquête ethno-pharmacologique a été menée dans différentes Wilayas du nord Algérien, à l'aide d'un questionnaire (voir annexe 4). L'enquête a ciblé des herboristes, pharmaciens, tradithérapeutes, phytothérapeutes, enseignants, universitaires, chercheurs du centre de recherche (CRAPC) et simples clients des herboristes.

### 2.1. Zone d'étude :



**Figure 13:** Localisation géographique de régions concernées par l'enquête ethno-pharmacologique (Alger, Blida et Tipaza).

### 3. Mise en évidence des principaux constituants chimiques :

Le but est de mettre en évidence la présence ou l'absence des principaux métabolites secondaire. Les testes sont réalisés soit sur la poudre, soit sur un infusé préparé avec 50ml d'eau distillée bouillante sur 2g de poudre (**Bouquet, 1971 ; Moysse, 1976 ; Gherib, 1988**).

- **Les glucosides** : Quelques gouttes d'acide sulfurique concentré  $H_2SO_4$  sont ajoutées à 2g de poudre. Le développement d'une coloration rouge violette révèle la présence des glucosides.
- **Les flavonoïdes** : Introduire dans une fiole 5 ml d'infusé, 5ml d'HCL, un coupeau de Mg et 1ml d'alcool isoamylique. L'ensemble est agité pendant quelques minutes. La réaction donne une coloration rouge orangée en présence des flavonoïdes.
- **Les Leuco-anthocyanes** : 2g de poudre sont portés au bain marie bouillant pendant quelques minutes dans 20ml d'un mélange de propanol/acide chlorhydrique (1/1), une coloration rouge se développe en présence des leuco-anthocyanes.
- **Les Saponosides** : 5 ml de la solution à tester sont bien mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 min. La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides.
- **Les curcuminoïdes** : La couleur des curcuminoïdes est jaune brillant à pH acide et rouge à pH alcalin (**Chirnomas et al., 2006**). On dépose 5 g de poudre de curcuma dans 10 ml de l'eau de Javel, la coloration rouge indique la présence des curcuminoïdes.

### 4. Détermination du taux d'humidité en eau :

Le taux d'humidité est la quantité d'eau contenue dans la poudre sèche, elle est déterminé par le procédé de séchage à l'étuve à  $105^\circ C \pm 5^\circ C$  (**Twidwell et al., 2002**) elle est exprimé en pourcentage et comparée au normes décrites par **moise** (10% a 12%) et calculé par la formule suivante :

$$H (\%) = (M1 - M2) / M1 \times 100$$

**H %** = taux d'humidité exprimé en pourcentage. **M1**= Poids de l'échantillon en gramme avant le séchage. **M2** = poids de l'échantillon en gramme après le séchage.

Après la mesure de trois échantillons on calcule la moyenne :

$$H\%(moy) = H_1\% + H_2\% + H_3\%.$$

### 5. Extraction et profil chimique de la poudre de curcuma :

Pour notre étude expérimentale nous avons testés 4 extraits obtenues par différents méthodes



**Préparation des extraits :**

La méthode d'extraction est basée sur l'épuisement de la matière végétal par plusieurs solvants organiques (Mabry *et al.*,1970 ; Markhan, 1982).

**5.1.1. La décoction :**

Nous avons effectué une décoction aqueuse à 10 %. Dans un erlenmeyer, 10g de poudre végétal sont ajoutés à 100 ml d'eau distillée, le tous est bien mélangé puis porté à ébullition sur une plaque chauffante à 90 °C pendant 1 heure. La solution aqueuse est repris et filtrée plusieurs fois par un papier filtre puis par un papier Whatman. Le filtrat a été conservé a 4 °C pour les différents tests phytochimiques et activités biologiques.

**5.2. Extraction de L'oléorésine de curcuma :**

Pour l'extraction de l'oléorésine de curcuma nous avons procédé a une macération hydro- alcoolique.

**5.2.1. Macération hydro-éthanolique (extraction liquide solide) :**

Dans un erlenmeyer, 50 g de poudre végétal de curcuma ont été repris avec 600 ml d'éthanol à 95% et 300 ml d'eau distillée. Le mélange a été laissé sous agitation mécanique pendant 24 h à la température du laboratoire. Après 24 h le macérât est récupéré et filtré, trois filtrations successives ont été réalisé, la première avec un papier filtre (grosse porosité). La deuxième avec un filtre Whatman avec une porosité de (0.20 µm), pour la troisième filtration nous avons utilisé un système de filtration sous vide (pompe de filtration).

**5.2.2. La concentration :**

Fait suite à la filtration, son but est d'éliminer rapidement le solvant organique de la macération et obtenir un extraie sec. Notre extraie hydro- alcoolique obtenue après filtration est concentré a l'aide d'un rotavapeur . L'extrait sec est pesai et repris grâce a une spatule, se dernier correspond a l'oléorésine de la poudre de curcuma, elle est conservée dans des flacons stériles, propres et secs.

**5.2.3. Calcul du rendement :**

Le filtrat est mis dans un erlenmeyer préalablement pesé (masse M) et évaporé à sec, L'earlene est de nouveau pesé (masse M') à froid et la masse du résidu déduite par la formule suivante :

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

**P**: % du résidu sec obtenu. **M** : masse initiale de l'earlene (vide). **M'**: masse de l'earlen après concentration.





**Figure 14:** Système de filtration sous vide  
(Photo original, 2013)



**Figure 15 :** Macération hydro alcoolique  
(Photo original, 2013)



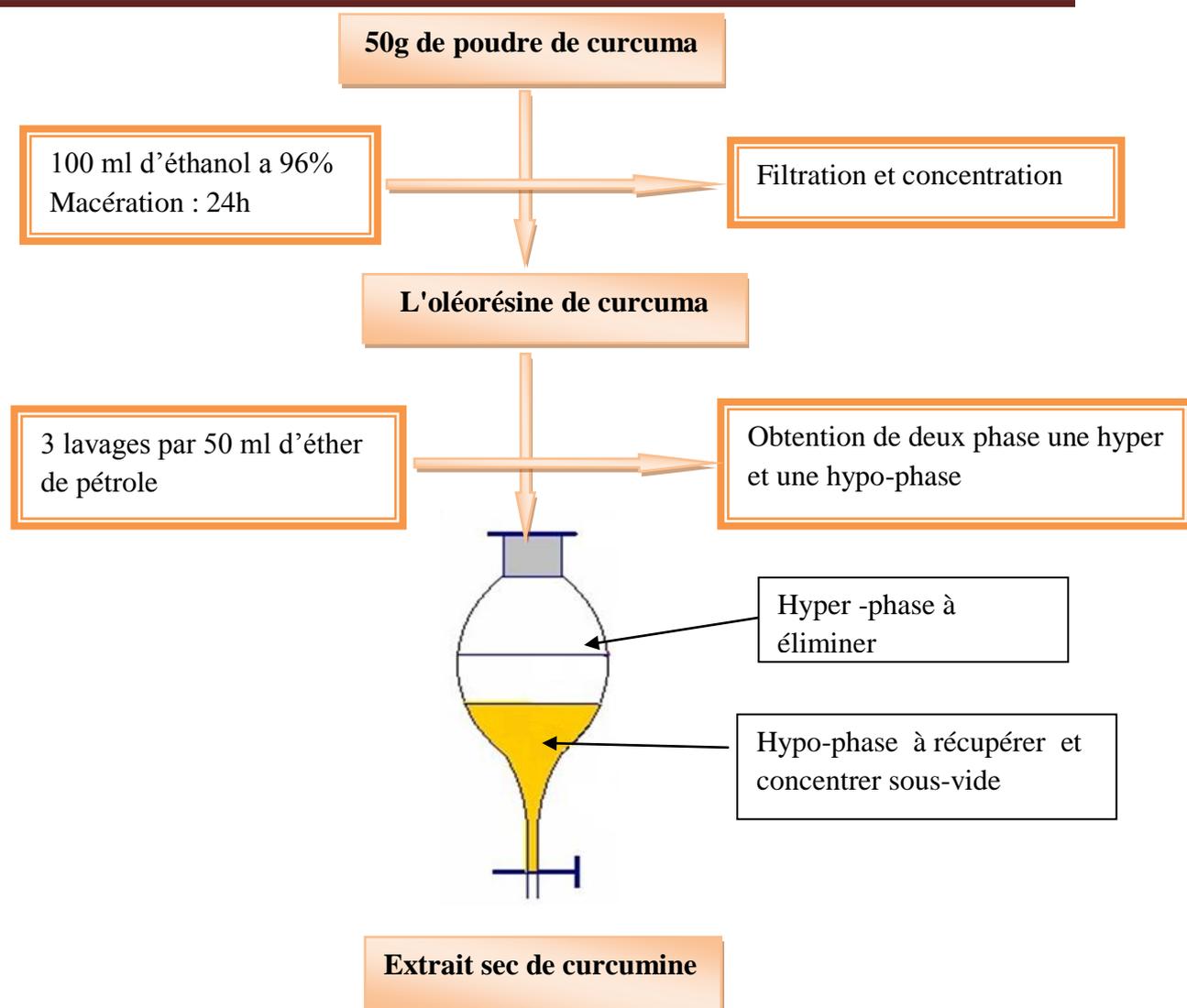
**Figure 16 :** Concentration de l'extrait hydro-alcoolique par rotavapeur (Photo original, 2013)

### 5.3. Extraction du principe actif (les curcuminoïdes) :

Dans un erlenmeyer ,50 g de poudre végétale de curcuma sont repris avec 100 ml d'éthanol à 96%. Le mélange est laissé sous agitation mécanique pendant 24h à la température du laboratoire.

Le macérât est récupéré puis filtré (les étapes ont été déjà décrites), l'extrait ethanologique obtenue est concentré au rotavapeur. Nous avons obtenu l'oléorésine de curcuma. Dans une ampoule à décanter l'oléorésine est traitée par 50ml d'éther de pétrole. Deux phases se forment une hypo-phase de couleur orange qui contient la curcumine est récupérée puis concentrée au rotavapeur, l'hyper-phase de couleur plus clair est éliminée, nous avons répété l'opération 3 fois, l'extrait sec de curcumine est pesé pour le calcul du rendement, puis récupéré avec 5ml de éthanol pour les différentes études.





**Figure 17:** Protocole d'extraction des curcuminoïdes (Andrew et al., 2000)

#### 5.4. Extraction des flavonoïdes par solvants à polarité croissante (liquide-liquide) :

Dans un erlenmeyer, 50 g de poudre végétal de curcuma ont été repris avec 100 ml de méthanol. Le mélange est laissé sous agitation mécanique pendant 24h heures à la température du laboratoire. Le macérât est récupéré puis filtré (les étapes ont été déjà décrites), l'extrait méthanolique obtenue est concentré puis récupéré avec 50 ml d'eau distillée bouillante, nous avons obtenu un extrait aqueux qui est traité par une série de solvants organiques a polarité croissante c'est l'affrontement.



#### 5.4.1. Affrontements (partitions entre solvants) :

Cette étape permet de séparer les polyphénols selon leurs structures et leurs degrés de polymérisation, en les affrontant avec plusieurs solvants allant du moins polaire au plus polaire :

Dans une ampoule à décanter, l'extrait aqueux est repris avec 50 ml de chloroforme, le tout est bien agité et dégazifié, puis laissé décanter pendant 15 à 30 minutes, après la décantation la phase chloroformique qui sédimente au fond de l'ampoule est récupérée, nous avons répété l'opération 2 à 3 fois, le lavage au chloroforme permet d'éliminer des impuretés. Surtout les lipides qui risquent de compliquer les épreuves chromatographiques.

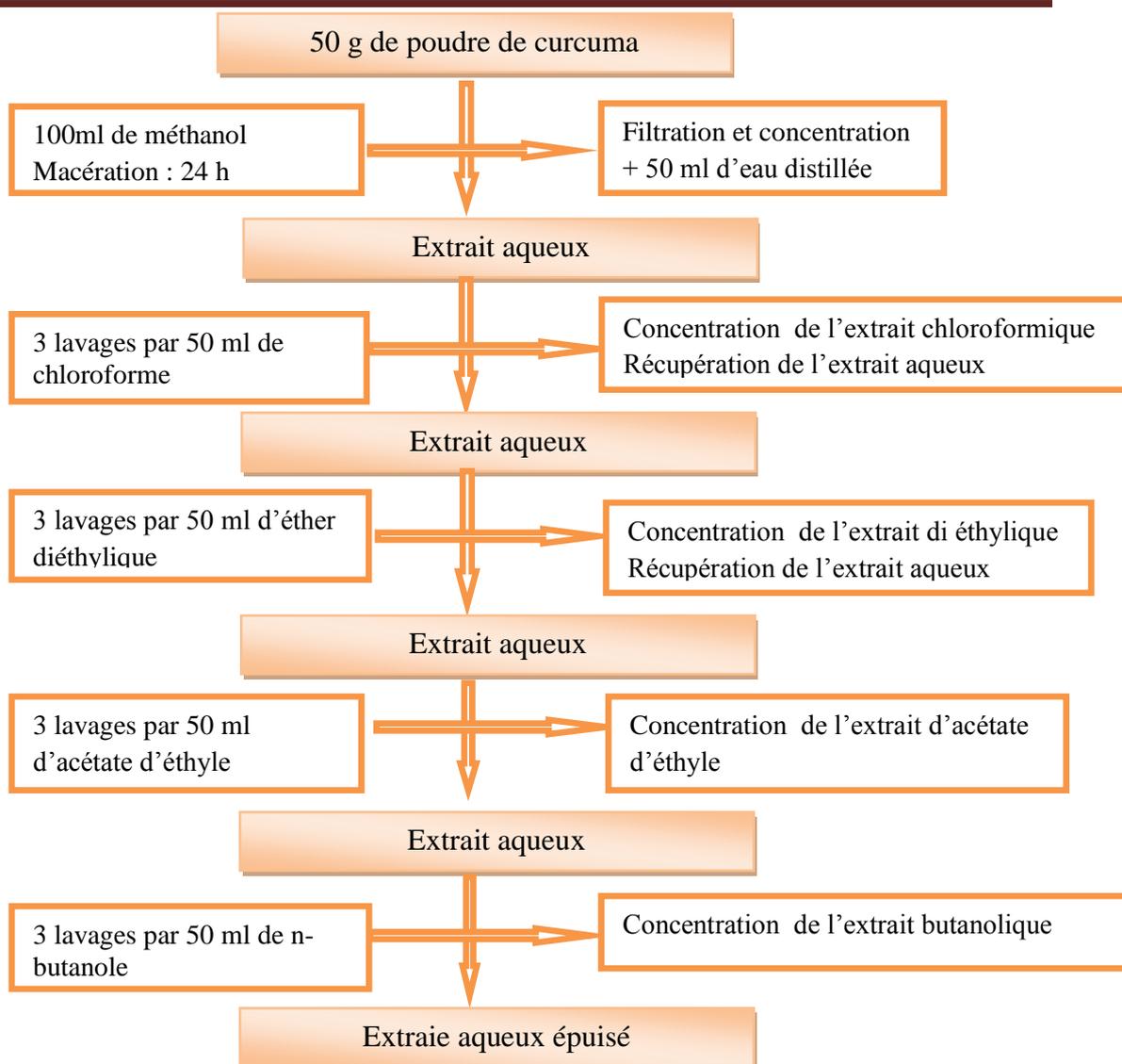
L'extrait aqueux est repris avec 50 ml d'éther diéthylique, le tout est bien agité, puis laissé décanter, après la décantation la phase diéthylique qui surnage l'extrait aqueux est récupérée, nous avons répété l'opération 2 à 3 fois. L'éther diéthylique permet d'isoler les composés phénoliques simples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

L'extrait aqueux est repris avec 50 ml d'acétate d'éthyle, le tout est bien agité, puis laissé décanter, après la décantation, la phase d'acétate d'éthyle est récupérée, nous avons répété l'opération 2 à 3 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 concentrés à l'aide de rotavapeur, le rendement de chaque extrait est calculé, les différents résidus obtenus sont repris par 50 ml d'eau distillée bouillante et conservés dans des tubes d'essais stériles à 4°C.





**Figure 18:** Protocole d'extraction des flavonoïdes (Markhan, 1982)

### 5.5. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation :

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

#### 5.5.1. Mode opératoire :

100g de poudre végétal sèche est introduite dans un ballon de deux litres, imprégné de avec 1 litre d'eau distillée, 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).



### 5.5.2. Calcule du rendement :

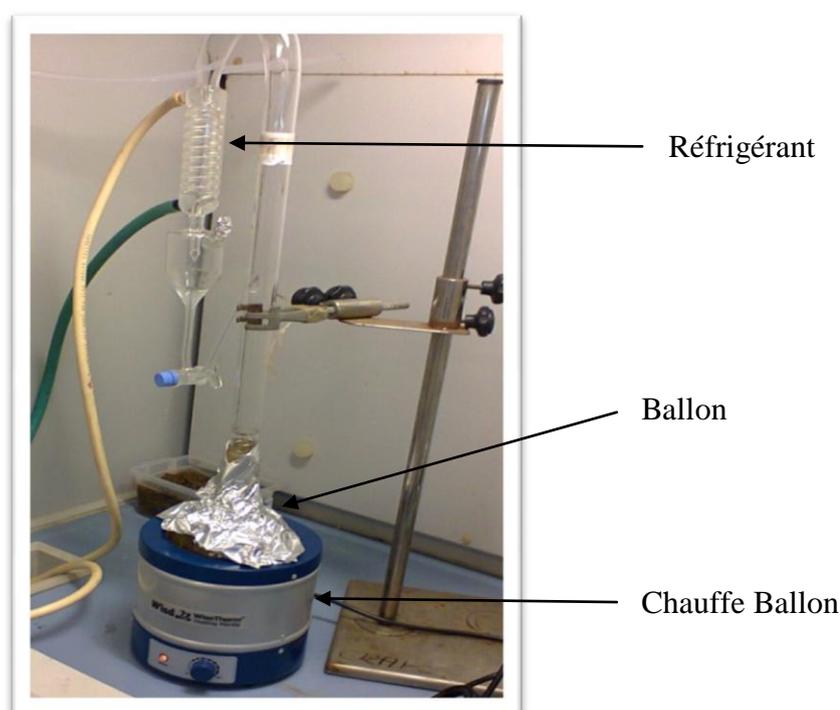
Le rendement en huile essentielle est le rapport entre la masse de l'huile extraite et la masse de la matière végétal utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante (Beneteaud, 2011) :

$$R\% = M_{HE} / M_{MV}$$

R% = rendement en huile essentielle.

$M_{HE}$  = masse de l'huile essentielle extraite.

$M_{MV}$  = mase de la matière végétal utilisée.



**Figure 19:** Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation (originale, 2013)

## 6. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles par CG- MS:

L'analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a été réalisée au centre de recherche scientifique et analyse physico-chimique (CRAPC) annexe de Bab El Zouar.

### 6.1. But et principe :

C'est une méthode qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou quantifier précisément de nombreuses substances.



## 6.2. Mode opératoire :

La composition chimique de l'huile essentielle a été analysée par la technique GC-MS en utilisant un appareil HP (Agilent technologies 6800 plus), couplé à un spectromètre de masse HP (Agilent technologies MSD 5973), réalisée en mode Impact électronique avec une énergie d'ionisation de (70 eV). Le type de l'analyseur de masse est quadripôle dont le mode d'analyse est Scan (de 30 à 550).

Le GC est muni d'un injecteur Splitless, le volume injecté est de 0.2µl, la séparation chromatographique est faite sur une colonne HP-5MS (longueur 30m, Diamètre 0,25 mm, épaisseur du film 0,25 µm) remplie d'une phase stationnaire (5% phényl 95% diméthylpolysiloxane). Le gaz vecteur est l'hélium de pureté (N 6) avec un débit de 0.5ml/min. Le programme de température qui a été utilisé est le suivant :

L'injecteur (250°C), le four (250°C), l'interface (280°C), le quadripôle (150°C) et la source (230 °C).

L'identification des composés est confirmée par comparaison de leurs spectres de masse caractéristiques obtenus expérimentalement à ceux inventoriés dans la banque de bibliothèques spectrales (Wiley).

## 7. Dosage des composés phénoliques totaux :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par **(Hua-Bin et al., 2007)**.

### 7.1. Principe :

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre UV-Vis en utilisant l'essai de Folin-Ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du réactif. Le réactif de Folin-ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 765nm. Les réactifs utilisés sont:

- Un polyphénol témoin : l'acide gallique pour la réalisation de la gamme d'étalonnage en milieu éthanolique.
- Réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois.
- Carbonate de sodium à 7,5% : 3.75 g de bicarbonate de sodium ont été dissoutes dans 50 ml d'éthanol.



### 7.2. Mode opératoire :

Nous avons ajouté 1 ml de réactif de Folin Ciocalteu 10 fois dilué à 0.2 ml d'oléorésine (extrait hydro-éthanolique). La solution a été mélangée et incubée pendant 4 min. Après incubation, 0.8 ml de la solution de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 g/l) a été ajouté, le mélange finale est secoué puis incubé pendant 2 h dans l'obscurité, à température ambiante. L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

### 7.3. Préparation de la gamme étalon de l'acide gallique :

Une gamme de 5 concentrations d'acide gallique allant de 0,0125 à 0.2mg/ml a été préparée à partir d'une solution mère de 0.2mg/ml de concentration.

**Tableau VII :** Gamme d'étalonnage de l'acide gallique

N° de tube	1	2	3	4	5
Concentration de l'acide gallique (mg/ml)	0,2	0,1	0,05	0,025	0,0125

### 7.4. Expression des résultats :

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon, l'acide gallique (0.0125-0,2 mg/ml) et exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par milligrammes d'extrait (mg EAG/g).

## 8. Détermination de la teneur en curcumine (%) :

L'estimation de la teneur en curcumine dans la poudre végétal de curcuma a été effectuée avec un spectrophotomètre selon la méthode décrite par (Sadasivam et Manickam, 2007).

### 8.1. Mode opératoire :

0,1 g de poudre sec de curcuma a été dissous dans 25 ml d'éthanol. Cette solution a été filtrée et le volume est complété jusqu'à 100 ml avec l'éthanol. 10 ml de cette solution a été prise dans une fiole jaugée et le volume est complété jusqu'à 100 ml avec de l'éthanol à nouveau. L'absorbance a été mesurée à 425nm. Le pourcentage de la teneur en curcumine est calculé suivant la formule suivante :

$$\% \text{ de curcumine} = \frac{0.0025 \times A \times \text{volume constitué} \times \text{facteur de dilution}}{0.42 \times \text{poid de l'échantillon} \times 1000} \times 100$$



Où, A est l'absorbance de l'échantillon à 425 nm. Sachant que 0.42 est l'absorbance de 0.0025 g de curcumine à 425 nm.

## 9. Étude des activités biologiques :

Dans le but de compléter notre étude nous avons évalués quatre des activités biologiques authentifiées par la littérature pour la poudre végétal de curcuma effectué *in vitro* et *in vivo*.

### 9.1. Evaluation de l'activité antioxydant (*in vitro*) :

Pour étudier l'activité antioxydante de la poudre végétal de curcuma, nous avons choisi la méthode DPPH qui utilise le DPPH (diphényl picryl-hydrazyl) comme un radical libre relativement stable. Selon le protocole décrit par (Mansouri et al, 2005) Le pouvoir antioxydant des extraits testés a été estimé par comparaison avec un antioxydant naturel (acide ascorbique).

#### 9.1.1. Principe :

Dans ce test les antioxydants réduisent le DPPH ayant une couleur violette en un composé jaune dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. Cette décoloration est représentative de la capacité de notre échantillon à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques.

#### 9.1.2. Mode opératoire :

Nous avons opté pour le mode opératoire suivant :

- **Préparation de la solution DPPH**

La solution de DPPH (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> ; Mr : 394,33) est préparée par la solubilisation de 2.4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol.

- **Préparation des échantillons**

L'échantillon et le standard ont été préparés par dissolution dans le méthanol absolu. Nous avons préparé des dilutions pour avoir des différentes concentrations de notre échantillon.

**Tableau VIII:** concentrations préparées pour le test de l'activité antioxydant

Concentration des échantillons en (mg/ml)	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8



### 9.1.3. Le test :

Le test DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par (Mansouri et al, 2005), où 25µl de chacune des dilutions à testées et de l'acide ascorbique sont mélangées dans la cellule, placées dans la cuvette de spectrophotomètre avec 975µl de la solution méthanolique de DPPH. Après une période d'incubation de 30 mn à température ambiante du laboratoire à l'abri de la lumière et de l'oxygène atmosphérique. La décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH. L'absorbance est mesuré à 517 nm.

L'acide ascorbique a été utilisé comme référence. Le pouvoir d'inhibition du DPPH est exprimé en % et déterminé en appliquant la formule suivante (Mansouri et al, 2005) :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(DO \text{ Controle} - DO \text{ Echantillons})}{DO \text{ Controle}} \times 100$$

## 9.2. Evaluation de l'Activité anti-inflammatoire (in vivo):

Nous avons choisi comme protocole expérimental, un modèle d'inflammation aigue, le test de l'œdème plantaire à la carragénine à 1% (levy, 1969), l'injection de carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure de la souris entraîne l'apparition d'un œdème de la région métatarsienne. L'intensité de cet œdème, qui atteint son maximum de développement en 5 heures, est évaluée grâce à l'augmentation du volume de la patte (par rapport au volume initial). L'administration préventive par voie orale (gavage) d'un produit anti-inflammatoire réduit de façon significative le développement de l'œdème. (Colot, 1972).

### 9.2.1. Substances testées et réactifs :

Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration de doses égales du produit anti inflammatoire à tester et du produit de référence, Les réactifs utilisés dans l'expérience :

- Le produit anti-inflammatoire de référence : solution de diclofenac à 50mg/ml
- Solution de carragénine 1%: 1g de poudre de carragénine diluée dans 100ml d'eau distillée.

### 9.2.2. Animaux utilisés :

Nous avons utilisé six lots homogènes de 6 souris (36 souris albinos de différents sexe et de même poids Corporel en moyenne  $19 \pm 2$  g). Les souris ont été pesées et celles de poids corporel supérieur à 20 g seront utilisées pour le test.



### 9.2.3. Protocole expérimental :

Un jour avant l'expérimentation nous avons pesé les souris et constitué 6 lots homogènes de 6 souris, ces animaux ont été mis en jeun pendant 18 heures avec un accès libre à l'eau.

#### ▪ Le jour de l'expérimentation :

A  $T_0$  nous avons administré 0.5ml de chaque solution des substances a testés aux souris par voie orale (gavage a l'aide d'une sonde d'inoculation) :

Lot témoin : traité avec 0.5 ml d'eau distillé

Lot de référence : traité avec 0.5 ml de solution de diclofenac à la dose de 25 mg.

Lot essai 1 : traité avec 0.5 ml de solution de l'extrait aqueux de curcuma a la dose 25 mg.

Lot essai 2 : traité avec 0.5 ml de solution de l'extrait flavonoïque a la dose de 30 mg.

Lot essai 3 : traité avec 0.5 ml de solution de curcuminoïdes à la dose de 25 mg.

Lot essai 4 : traité avec 0.5 ml d'huile essentielle de curcuma à la dose de 2.5%,(0.5 ml/20g), 1ml l'huile essentielle a été dilué dans 5ml de l'huile végétale.

#### ▪ Induction de l'inflammation :

Après 30 minutes de l'administration des solutions à tester aux souris on passe a l'induction de l'inflammation (œdème de patte) par injection de 0.025ml de la solution de carragénine à 1% sous l'aponévrose plantaire de la patte gauche postérieur des souris.

#### ▪ Evaluation de l'inflammation :

Quatre heures après l'injection de la carragénine, les animaux sont rapidement sacrifiés. Les deux pattes postérieures sont très rapidement coupées au niveau de la tarso-articulation et pesées à l'aide une balance analytique.

### 9.2.4. Expression des résultats :

Nous avons calculés les moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et droit de chaque lot, puis calculés pour chaque souris, l'augmentation du poids de la patte enflammé (Patte Postérieure gauche), qui a reçu la carragénine par rapport au poids de la patte saine (Patte Postérieure droite), puis nous avons calculé le % d'œdème et le % de réduction de l'œdème pour chaque lot.

$$\% \text{ de l'œdème} = \frac{\text{moyenne de la patte gauche} - \text{moyenne de la patte droite}}{\text{moyenne de la patte droite}} \times 100$$

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ de l'œdème témoin}} \times 100$$

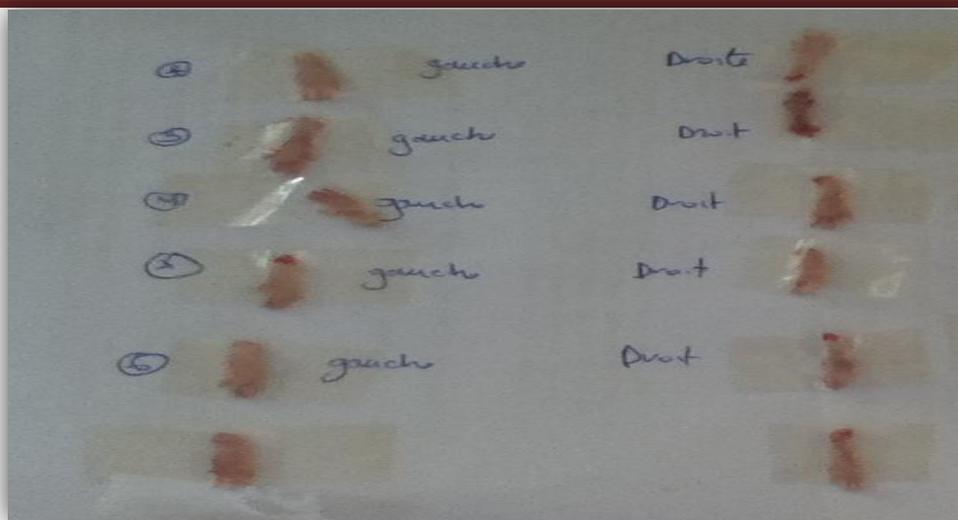


Figure 20: Pattes postérieures de souris coupée à hauteur de l'articulation (Photo original, 2013)

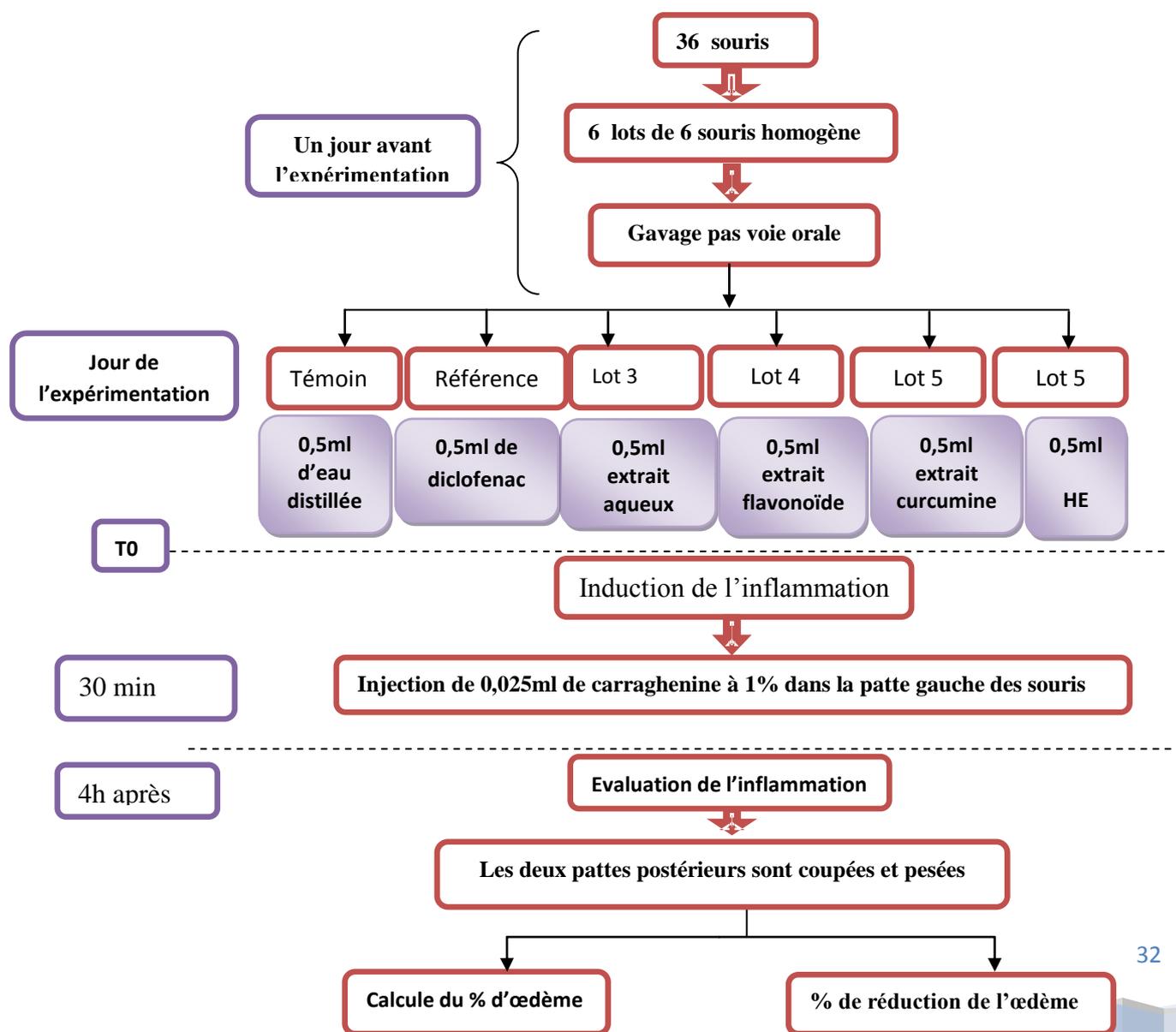


Figure 21: Protocole expérimentale de l'activité anti inflammatoire (Levy, 1969)

### 9.3. Évaluation de l'Activité antidiabétique :(test a l'alloxane)

#### 9.3.1. Principe :

Un modèle de rats diabétiques induit par l'alloxane est réalisé. L'injection de l'alloxane par voie intra péritonéale (125 mg/kg de poids) déclenche un diabète chez le rat (**diatewa et al. ,2004 ;**), sachant que l'alloxane monohydrate est inducteur de diabète qui provoque une nécrose sélective sur les cellules  $\beta$  du pancréas donnant ainsi une déficience insulinique chronique (**dhanabal et al., 2007** ) Les réactifs utilisés dans l'expérience :

- Solution de référence : solution de glucophage a la dose de 500mg/ml
- Solution d'alloxane

#### 9.3.2. Les animaux d'expérimentation :

Les 25 rats utilisés dans cette expérimentation sont des rats de sexe différents adultes de souche Wistar albinos, pesant entre 200 et 300 g (au début de l'expérimentation), issus par élevage au niveau de l'animalerie du CRD de Saidal.

#### 9.3.3. Protocole expérimental :

L'expérimentation se déroule en plusieurs étapes :

- **Etape 1 : préparation des rats à l'expérience.**

Une journée avant l'expérimentation les rats sont pesés, on garde ceux ayant un poids entre 200 à 300 g puis on calcule le poids moyen des rats utilisés. Les rats sélectionnés sont marqués d'un signe significatif (numérotés) et misent à jeune pendant 18 heures avec accès libre à l'eau.

- **Etape 2 : détermination de la glycémie de base des rats.**

Nous avons pratiqué une légère anesthésie aux rats par voie respiratoire en le mettant dans un cristallisoir contenant un coton imbibé d'éther. Le prélèvement sanguin a été fait (selon les méthodes décrites par (**hoffman, 1963**) à la veine caudale à vif par section de l'extrémité de la queue. Nous avons pratiqué une légère incision de la queue des rats par un bistouri.

#### 9.3.4. Dosage de la glycémie à jeune :

Chez le rat, la valeur normale de la glycémie varie de 0.7 à 0.99 g/l (**hoffman, 1963 ;ruckebush, 1981**). L'appareil utilisé pour la détermination quantitative du glucose est un lecteur de glycémie (glucomètre) de marque « Contour TS ». (**Andrade-cetto et al., 2005 ; Vijaykumor et al., 2006**), la goutte de sang (1-2 $\mu$ l), obtenue par section de l'extrémité



caudale, est mise sur une bandelette portée par le glucomètre. La lecture de la glycémie se fait sur l'écran d'affichage de l'appareil en 5 secondes environ.

▪ **Etape 3 : évaluation de l'activité antidiabétique des produits a testés.**

Nous avons sélectionné les rats ayant une glycémie entre 90 et 100 mg/dl pour la suite du test puis nous leur avons injecté tous une dose de 150 mg/kg d'alloxane monohydraté 98% diluée dans l'eau distillée sous un volume de 1ml/rat, par voie sous cutané.

Après 72 heures, nous avons effectué un prélèvement sanguin et on dose la glycémie. Nous avons sélectionné les rats ayant une glycémie supérieure à 150 mg/dl pour l'expérience et nous les avons repartis en 5 lots :

- Lot témoin : reçoivent par voie orale 2ml d'eau distillée.
- Lot de référence : reçoivent 2 ml de solution de glucofage a la dose de 80 mg.
- Lot essai 1 : reçoivent 2 ml de solution de l'extrait aqueux a la dose de 400 mg.
- Lot essai 2 : reçoivent 2 ml de solution de curcuminoïde a la dose de 200 mg.
- Lot essai 3 : reçoivent 0.4ml de HE, cela correspond à la dose des 2.5% ;

Nous avons effectué des prélèvements sanguins et des dosages de la glycémie de tous les rats de chaque lot après 18h et après une semaine du traitement.

**9.3.5. Expression des résultats :**

Nous avons calculé les moyennes et les écarts type ( $\delta$ ) de la glycémie de chaque lot, puis calculé le % de réduction de la glycémie des rats par rapport aux témoins.

$$\% \text{ De réduction de la glycémie} = \frac{G_i - G_e}{G_i} \times 100$$

**P** : pourcentage de réduction

**G<sub>i</sub>** : glycémie moyenne du témoin (g/l)

**G<sub>e</sub>** : glycémie moyenne de l'essai (g/l).



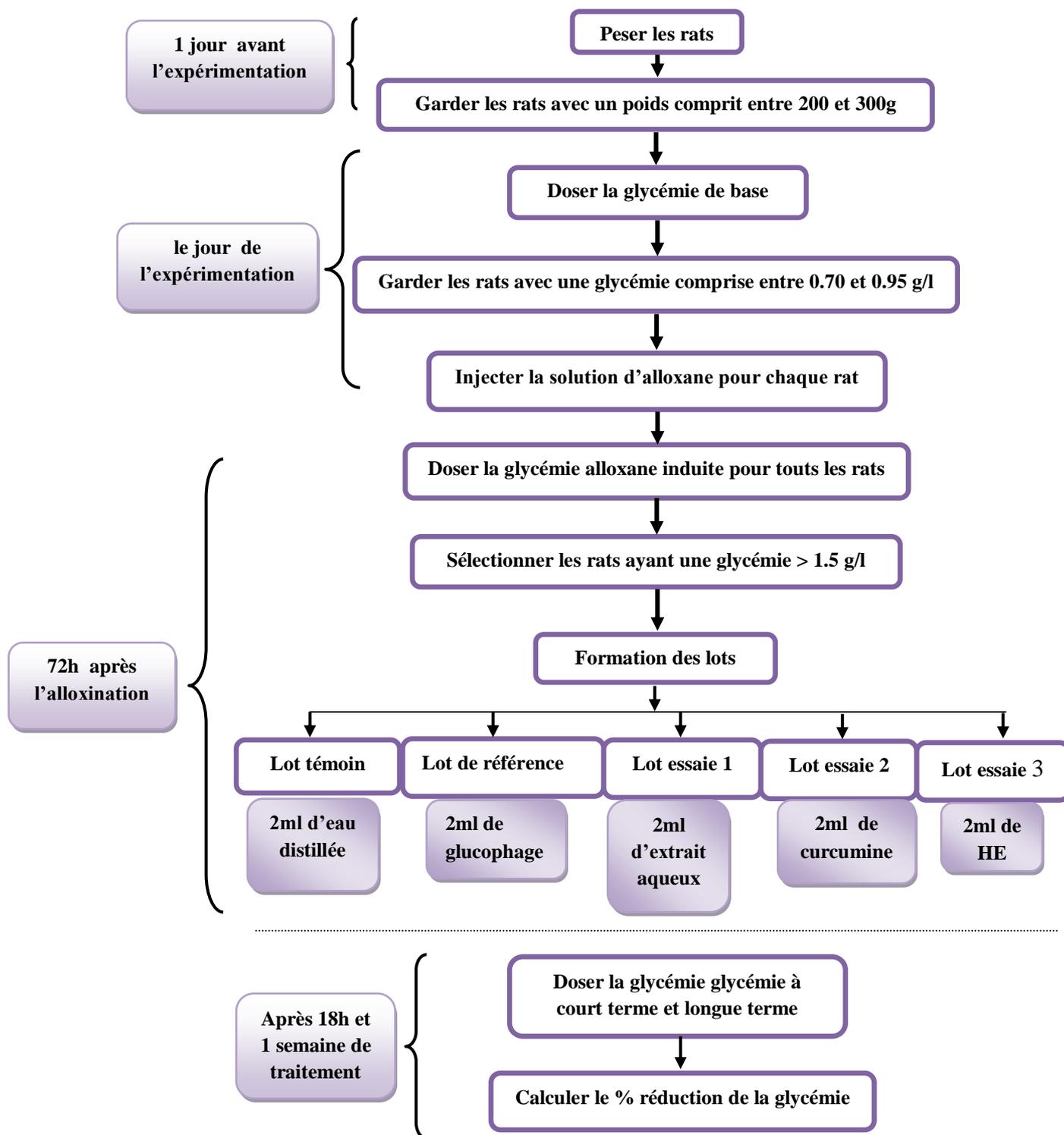


Figure 22: Protocole expérimental de l'activité antidiabétique





**Figure 23** : Inoculation des substances à tester par gavage (Photo original, 2013)



**Figure 24**: Sang résultant de l'incision de la veine caudale (Carvalho EN. et al., 2003)

#### 9.4. Evaluation de l'activité anti microbienne :

##### 9.4.1. Principe et but :

Le principe consiste à estimer l'inhibition de la croissance de micro-organismes mis en contact des différents extraits, par la méthode de diffusion sur le milieu de gélose en utilisant des disques absorbants. Le but repose sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits :

- Extrait aqueux
- Extrait de curcuminoïdes
- Huile essentielle
- Extraits de flavonoïdes

##### Réactifs et milieux de culture :

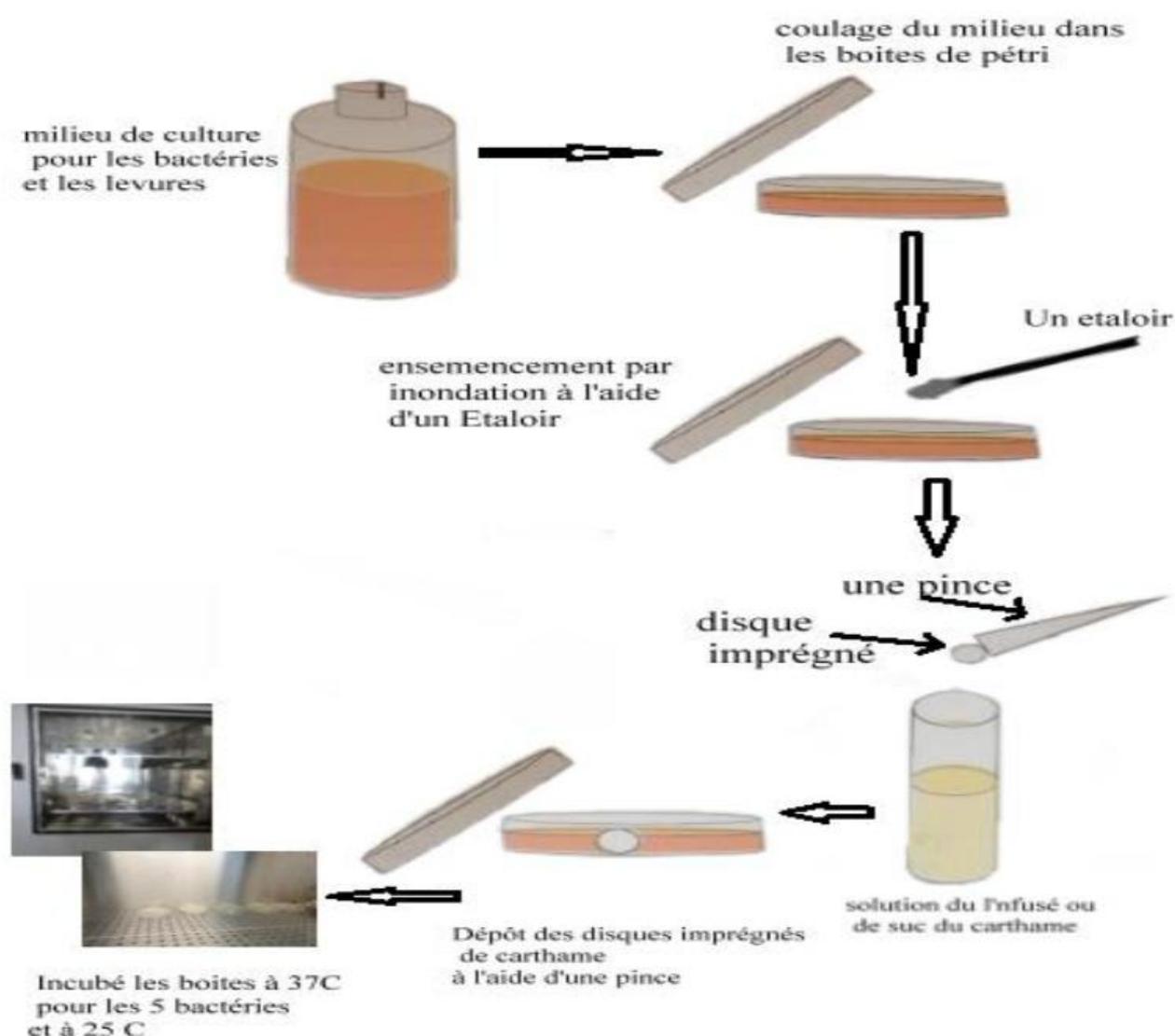
- Eau physiologique stérile 0.9%.
- Gélose nutritive et Gélose Muller- Hinton.
- Gélose Sabouraud.

##### 9.4.2. Mode opératoire :

A partir d'une culture bactérienne, nous avons réalisé des suspensions en mettant quelques colonies dans 5ml d'eau physiologique stérile, pour avoir une solution de 0.5 Mac Farland. A partir d'une culture fongique, nous avons réalisé des suspensions en diluant quelques colonies dans 5ml d'eau physiologique stérile pour avoir une solution de 2 Mac Farland.

Sur des milieux de culture déjà préparés (Sabouraud pour les levures et Muller Hinton pour les bactéries), l'ensemencement est fait par écouvillonnage en couvrant toute la surface de la gélose contenue dans la boîte de pétri.

A l'aide d'une pince stérile, nous avons prélevé un disque de 9ml et nous l'avons imbibé avec 25  $\mu$ l des extraits à tester (une quantité de 500mg d'extrait par/ disque/). Ce dernier est déposé à la surface de gélose, nous l'avons laissé diffuser sur la paillasse pendant 30min, puis nous l'avons incubé à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les levures, nous effectuons deux essais pour chaque extrait testé puis nous calculons la moyenne des zones d'inhibition apparues (**Pharmacopée européenne, 2008**).



**Figure 25:** technique de diffusion sur gélose (aromatogramme sur boîte de Pétri).



### 9.4.3. Expression des Résultats de l'activité anti microbienne :

L'estimation de l'activité antimicrobienne est basée sur une échelle de mesure mise en place par **Keshavarz et al., (1996)**. Ils ont classé le pouvoir antimicrobien, en fonction des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne, en 04 classes :

- Fortement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 28mm.
- Modérément inhibitrice lorsque le diamètre de la zone varie entre 16 et 28 mm.
- Légèrement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone varie entre 10 et 16mm.
- Non inhibitrice lorsque le diamètre d'inhibition est inférieur 10mm.

### 10. Evaluation statistique :

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et écart-types. L'analyse statistique des résultats a été effectuée par le logiciel **Systat 7**, La valeur trouvée par l'analyse de variances peut affirmer 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



# RESULTATS ET DISSCUSIONS

---

Plusieurs travaux ont été réalisés pour l'évaluation des secrets des plantes médicinales, dont la présente étude prospective, descriptive et comparative consacrée à la recherche d'éventuels activités biologiques a savoir antioxydante, anti-inflammatoire, antidiabétique et antimicrobienne. Ce sur les différents extraits de la poudre végétal de curcuma obtenue à partir des rhizomes séchés et broyés de la plante tropicale *curcuma longa*. Dans cette direction de recherche, le choix de la plante, la voie d'administration, le rendement de différentes extractions et caractéristiques phytochimiques sont des points essentiels à discuter.

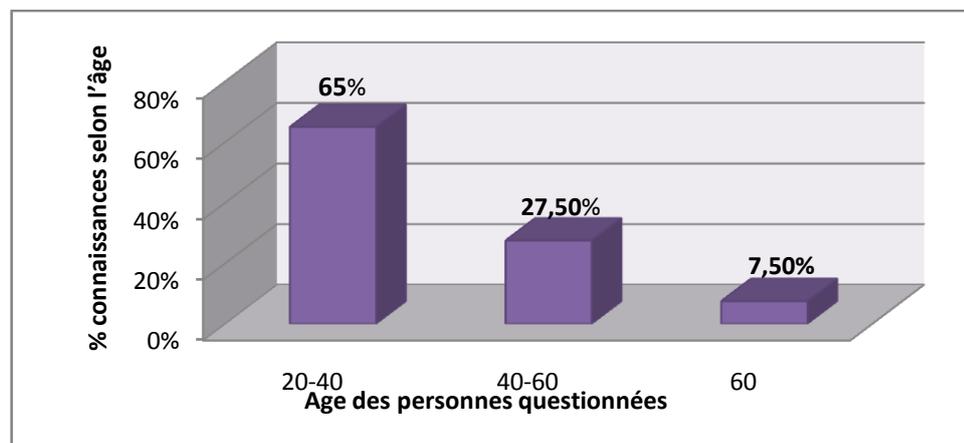
Avant d'aborder notre étude expérimentale, nous avons vu qu'il était intéressant de regrouper l'ensemble des informations sur l'utilisation traditionnelle du curcuma auprès des personnes interrogées dans différentes régions de la wilaya de : Blida, Alger, Tipaza.

### 1. L'enquête ethnobotanique :

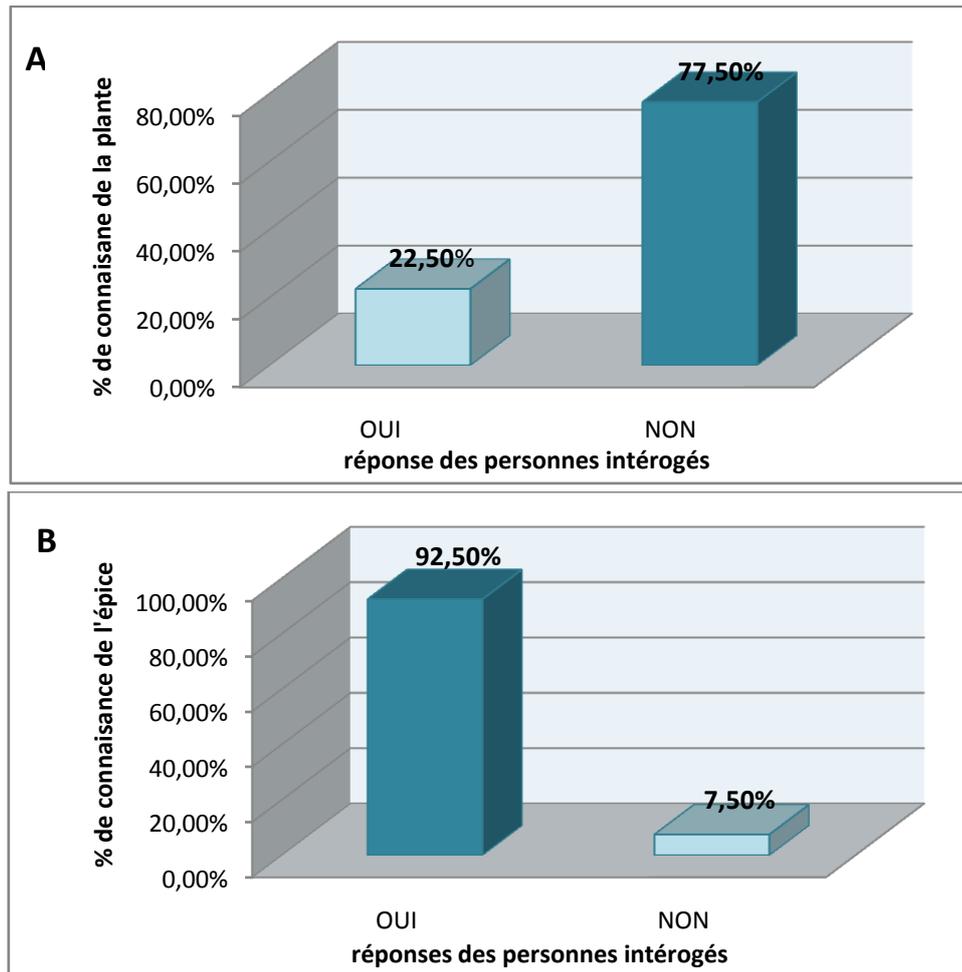
L'enquête est réalisée sous forme d'un questionnaire adressé individuellement à 40 personnes a savoir des herboristes, phytothérapeutes, tradipraticiens et simples utilisateurs du curcuma. Les réponses au questionnaire sont consignées ci-dessous :

Ce sont les personnes qui ont un âge compris entre 20 et 40 ans ,qui connaissent mieux le curcuma soit 65% des personnes interrogés , viennent ensuite la tranche d'âge de 40 à 60 ans avec une fréquence de 27.5%, suivi de la tranche d'âge de plus 60 ans avec une fréquence de 7.5% (**Figure 26**).

Nous avons remarqué que 77.5% des personnes interrogées dans les trois régions, ne connaissent pas la plante *curcuma longa*, contre 22.5 % qui affirme la connaitre (**Figure 27 A**). Par contre nous avons constaté que la majorité des personnes interrogées connaissent l'épice curcuma à savoir 92.5% d'entre eux, contre 7.5% qui affirment n'avoir jamais entendue parler d'elle (**figure 27 B**).

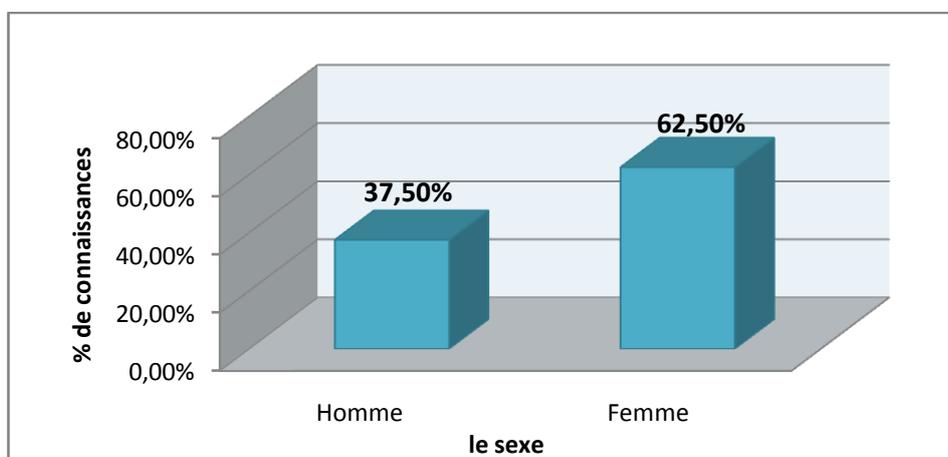


**Figure 26** : Répartition des fréquences de connaissances selon l'âge



**Figure 27:** Fréquence de connaissance de *curcuma longa* (A) et du curcuma (l'épice) (B)

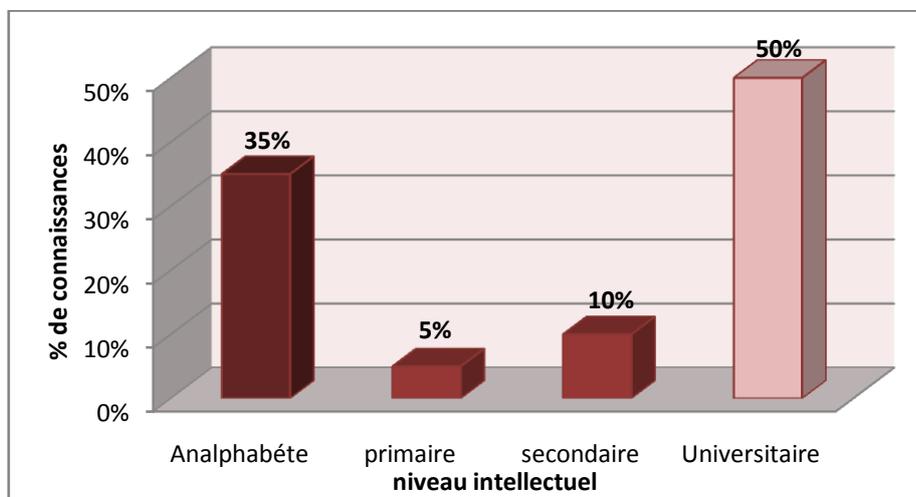
Concernant leur sexe, nous avons constaté que les femmes ont un peu plus de connaissances sur le curcuma par rapport aux hommes (62.5% contre 37.5%) (**Figure 28**).



**Figure 28:** Répartition des fréquences de connaissances selon le sexe

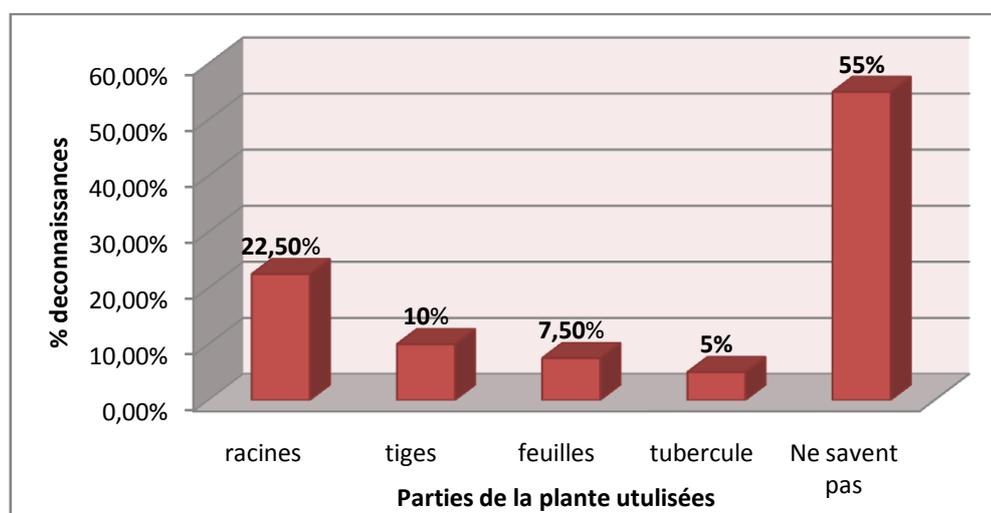


La connaissance de l'espèce varie selon le niveau intellectuel, la plupart des personnes qui connaissent le curcuma sont des universitaires avec 50% des personnes interrogés, suivi par les analphabètes avec 35%, viennent en suite les personnes qui ont un niveau d'étude primaire et secondaire avec respectivement 5% ,10% (**Figure 29**).



**Figure 29:** Fréquences de connaissances selon le niveau intellectuel

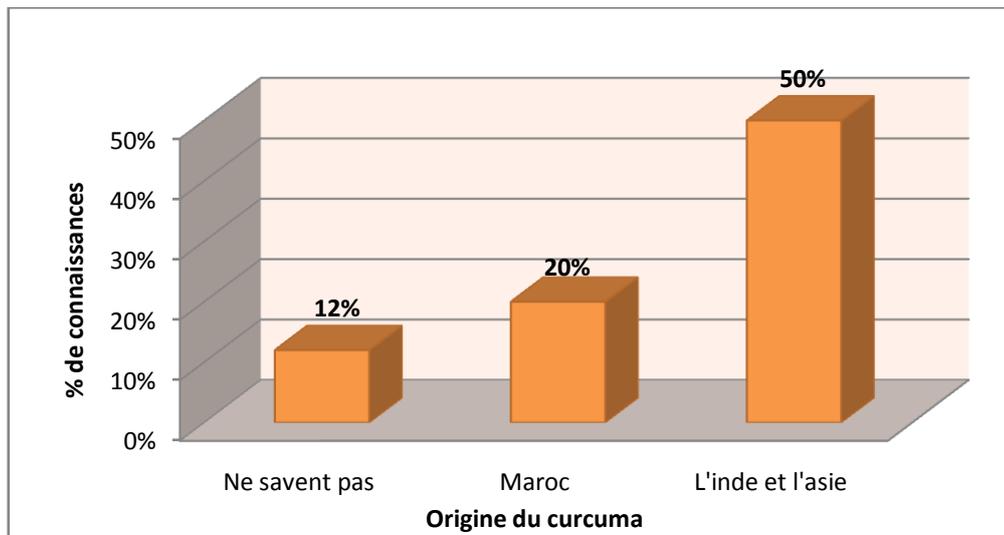
La majorité des personnes interrogées (55%) ne connaissent pas la partie utilisée de la plante *curcuma longa*, tandis que 22.5% dissent que la racine ou rhizome est la partie utilisée de la plante, suivie par d'autres suggestions comme la tige, les feuilles et par fois le tubercule avec respectivement 10%, 7.5% et 5% (**Figure 30**).



**Figure 30:** Repenses relatives à la partie utilisée de la plante *curcuma longa*

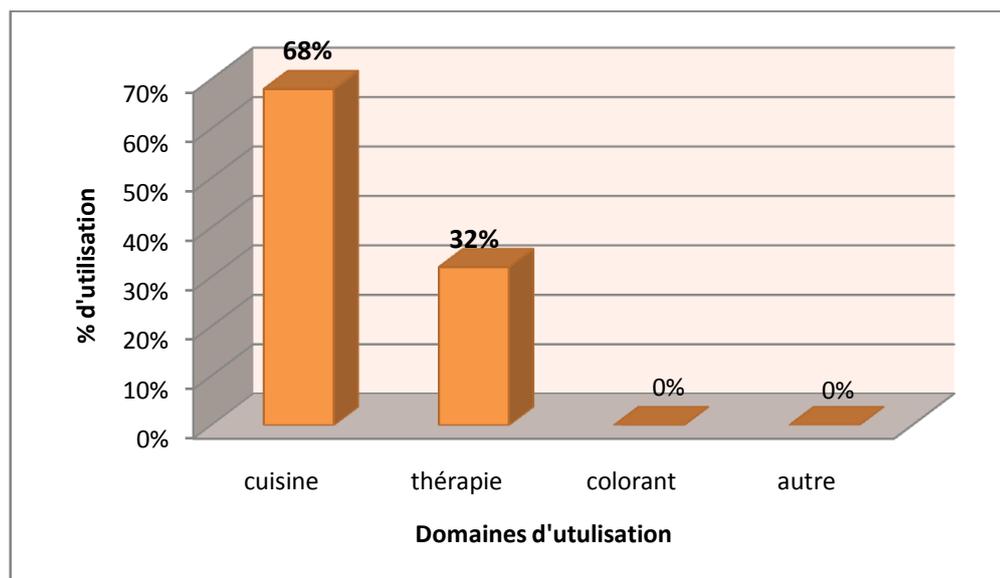


La moitié des personnes interrogées soit 50% pensent que le curcuma est d'origine asiatique ou indienne, tandis que pour 20% elle est d'origine marocaine alors que 12% ne connaissent même pas la provenance du curcuma (**Figure 31**).



**Figure 31** : Repenses relative à la provenance de la plante *curcuma longa*

Une bonne partie des personnes interrogés (68%) utilisent le curcuma en cuisine, 32% en thérapies et aucune personne n'utilise le curcuma comme colorant ou autres (**Figure 32**).

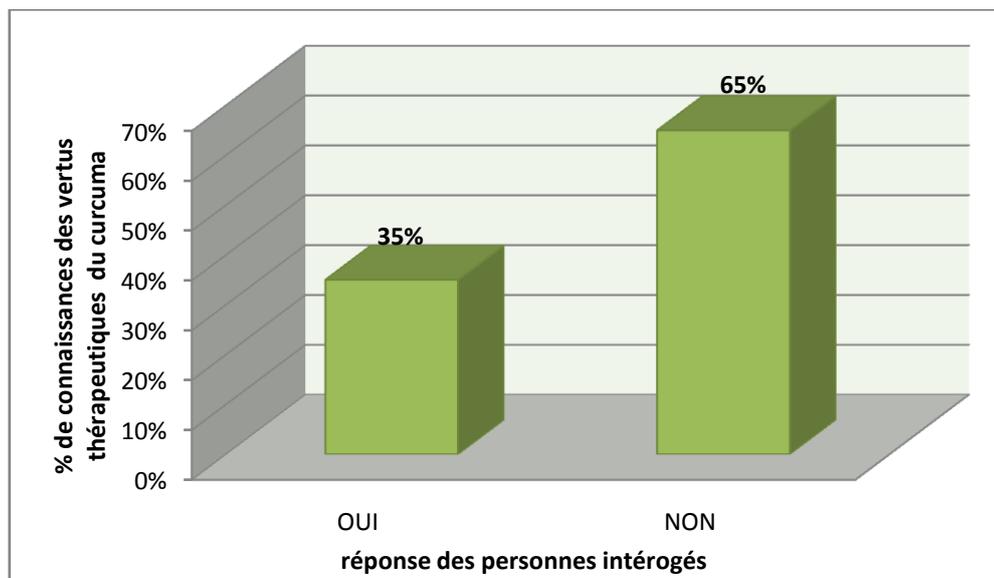


**Figure 32** : Réponse relative aux cas d'utilisation du curcuma

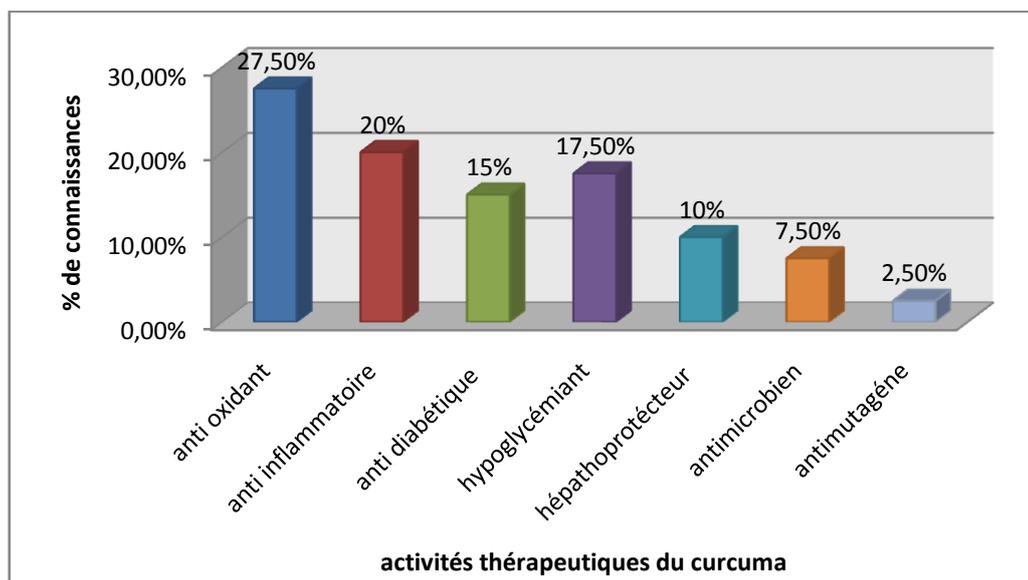
Sur l'ensemble, 65% des personnes interrogées ne connaissent pas les propriétés thérapeutiques du curcuma contre 35% qui affirment connaître ses vertus médicinales (**Figure 33**). Les personnes affirmant connaître les vertus médicinales se répartissent sur



27.5% qui considère que le curcuma possède une activité antioxydante, 20% une activité anti-inflammatoire, 17.5% et 15% une activité hypoglycémiant et anti-diabétique respectivement. Les autres activités sont minoritaires (**Figure 34**).



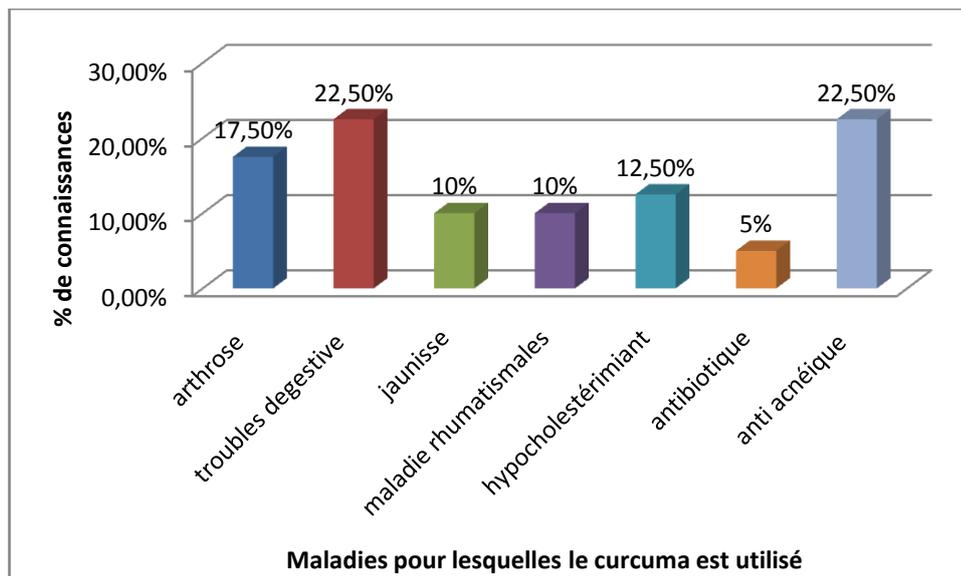
**Figure 33:** Fréquence de connaissance des vertus médicinales du curcuma



**Figure 34:** Réponses relatives aux propriétés thérapeutiques du curcuma

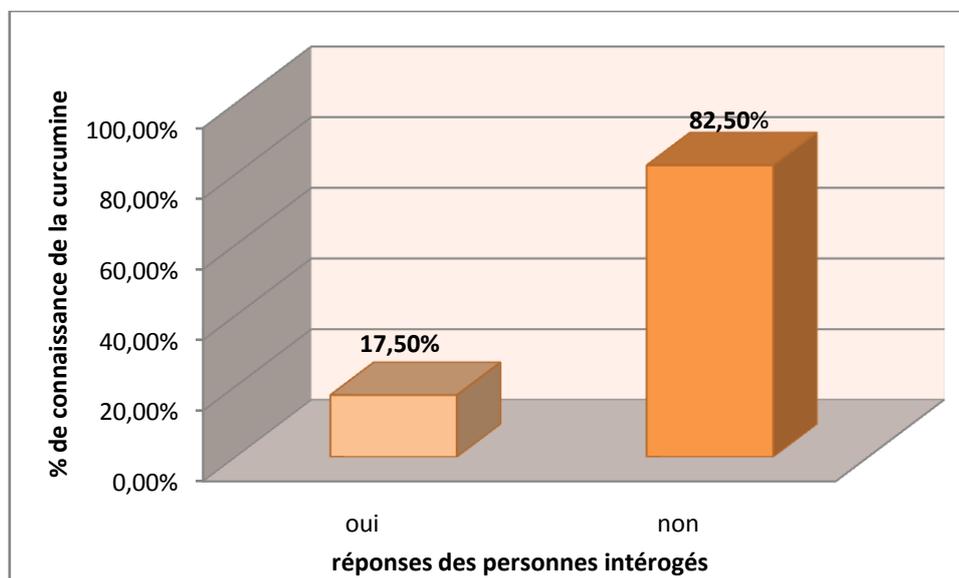
Parmi les personnes utilisant le curcuma, avance qu'ils l'utilisent comme traitement traditionnel pour l'arthrose, troubles digestives, comme masque purifiant contre l'acné. (**Figure 35**).





**Figure 35:** Les différentes maladies traitées par le curcuma

Il faut noter la majorité des personnes interrogées ne connaissent pas le principe actif du curcuma soit 82.5% contre 17.5 % qui avance le fait de le connaître (**Figure 36**).



**Figure 36:** Fréquence de connaissance du principe actif du curcuma « la curcumine »

Habituellement la tranche d'âge de plus de 60 ans est la plus informée en ce qui concerne les plantes médicinales (*Ziyyat et al., 1997*), nous avons été agréablement surpris du fait que la tranche d'âge prédominante dans notre étude est plutôt jeunes entre 20 et 40 ans. Ceci dit il faut noter que la population interrogée est globalement du milieu universitaire, généralement jeune. Ce sont les femmes qui ont le plus de connaissances concernant la plante.

Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par (Eddouks et al., 2002 ; Mehdioui et Kahouadji, 2007) qui révèlent que les hommes et les femmes sont concernés par la médecine traditionnelle. Cependant, les femmes ont plus de connaissances sur les espèces médicinales par rapport aux hommes avec des pourcentages compris entre (61-69%) et (31-39%) respectivement.

Nos résultats ont montrés aussi que la majorité des personnes interrogés ne connaissent ni la plante *curcuma longa*, ni sa partie utilisée (rhizome), ni son principe actif (la curcumine), mais connaissent bien l'épice curcuma et son origine asiatique et indienne. Certaines affirment qu'ils utilisent le curcuma par eux même et de façon relativement continue et constante.

Parmi la plus part d'entre eux une grande majorité affirmant connaitre les vertus thérapeutiques, avance qu'ils connaissent l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et anti-hyperglycémiant du curcuma. Quant à sa préconisation, une grande partie utilisent le curcuma contre les maladies rhumatismales et inflammatoires telle que l'arthrose, les troubles digestifs et sur tous utilisé comme anti-acnéique. Ces résultats sont comparables à la littérature sur les activités thérapeutiques du curcuma (Kawamori et al., 1999 ; Rasmussen et al., 2000 ; Koide et al., 2002 ; Chattopadhyay et al., 2004 ; Jain et al., 2007).

## 2. L'étude phytochimique

En abordant les résultats du test phytochimique nous avons remarqué que le curcuma comporte relativement divers métabolites secondaires.

### 2.1. Mise en évidence des principaux constituants chimiques

Nous avons mi en évidence la présence ou l'absence des métabolites secondaires dont les résultats sont rassemblés dans le tableau 10, (annexe IX).

**Tableau IX:** Résultat du screening phytochimique

Composés chimiques	Résultats des réactions	Etat	Observation
<b>Curcuminoïdes</b>	Coloration rouge	+++	Très riche
<b>Flavonoïdes</b>	Coloration rouge orangée	+	Présence
<b>Saponosides</b>	Apparition des mousses	++	Présence
<b>Glucosides</b>	Coloration rouge brique / violette	+	Présence
<b>Leuco-anthocyanes</b>	Coloration rouge	+	trace

Une herbe médicinale peut être considérée comme un laboratoire de synthèse car elle produit et contient un certain nombre de composés chimiques. Ces composés sont des métabolites secondaires et sont responsables des activités de médicaments (Nahak et Sahu , 2011). L'analyse qualitative de poudre végétal de curcuma révèle la présence des curcuminoïdes, alors que les flavonoïdes, les glucosides, les saponosides sont à des teneurs moyennes et en fin les leuco-anthocyanes sont à l'état de trace. Nos résultats sont comparables avec celles de (Nahak et Sahu , 2011), à l'exception de l'absence des glucosides.

D'après l'étude de (Shiyou et al., 2011) , la composition chimique de divers tissus de curcuma (*Curcuma longa* ) a été largement étudiée, à ce jour, au moins 235 composé sont caractérisés dont principalement les composés phénoliques et les terpène, y compris 22 diarylheptanoïdes et diarylpentanoïdes, 8 phénylpropène et autres composés phénoliques, 68 monoterpènes, 109 sesquiterpènes, 5 diterpènes , 3 triterpénoïdes , 4 stérols, 2 alcaloïdes, et 14 autres composés. à savoir que les curcuminoïdes (diarylheptanoïdes) et les huiles essentielles sont les principaux ingrédients bioactifs.

## 2.2. Détermination du taux d'humidité

Les résultats de la détermination de la teneur en eau sont consignés dans le tableau suivant :

**Tableau X:** Teneur en eau de la poudre végétal de curcuma

	Poids initial en (g)	Poids final en (g)	Teneur en eau
Poudre de curcuma	5g	0,757	15.14%

Une teneur en eau de 15.14% dans la poudre du curcuma est relativement élevée pour un échantillon étant déjà passé par une étape de séchage, avant sa commercialisation, elle présente donc un taux d'humidité élevé qui est probablement dû aux mauvaises conditions de stockage. **Re**

## 3. Extractions, rendement et caractéristiques organoleptiques

Pour ce qui est des travaux expérimentaux, nous avons effectué une série d'extractions pour lesquelles nous avons obtenues 5 extraits différents à savoir l'extrait aqueux, l'extrait flavonoïque, l'extrait de curcuminoïdes, l'huile essentielle et l'oléorésine de curcuma, ces extraits ont été utilisés dans les différents tests biologiques.



### 3.1. La décoction

L'extrait aqueux de curcuma, obtenu à partir de la décoction à 10%, est de couleur orange.

### 3.2. Extraction de l'oléorésine par macération hydro éthanolique

Nous avons obtenue une oléorésine dont les caractéristiques sont représentées dans le tableau suivant :

**Tableau XI** : Résultat de l'extraction hydro alcoolique

Extrait hydro éthanolique	Aspect	Couleur	Masse (g)	Rendement(%)
<b>Oléorésine</b>	Patte collante	Marron foncé	7	14

L'extraction de l'oléorésine a donné un rendement de 7g à partir de 50g de curcuma (14%), de couleur marron foncé et sous forme de patte collante, ce rendement est supérieur à celui décrit par (**Krishnamurthy et al., 1976 ; Jansen et al., 2005**) qui confirment que l'extraction de l'oléorésine de curcuma donne un rendement compris entre (7.9 et 10.4%) à partir 100g de curcuma. Cependant ce rendement est inférieur à celui décrit par la FAO qui avance un rendement compris entre 23-35%.

### 3.3. Extraction des flavonoïdes

A partir de 50g de poudre de curcuma, nous avons obtenus un rendement en flavonoïdes reporté dans le tableau suivant :

**Tableau XII** : Résultats de l'extraction avec les solvants à polarité croissante

Extrait	Aspect	Couleur	Masse (g)	Rendement (%)
<b>Chloroforme</b>	résine collante orange	Marron orangé	1.8	3.6
<b>Ether di éthylique</b>	Résine collante orange	Jaune clair	0.7	1.4
<b>Acétate d'éthyle</b>	Résine collante jaune	Jaune pale	0.4	0.8
<b>N-butanol</b>	Résine collante jaune	Jaune pale	1.2	2.4

L'extrait n-butanolique contient les flavonoïdes du curcuma, après concentration par rotavapeur, nous avons obtenue un rendement de 1.2 g (**2.4%**) de la masse de curcuma utilisée dans l'extraction. Ce rendement est faible par rapport à celui d'autres espèces mais



supérieur au rendement décrit par d'autres auteurs qui avance un rendement compris entre 0.5 et 0.8% (Rajeshwari and Jyoti, 2013).

### 3.4. Extraction des curcuminoïdes

Le rendement de l'extraction du principe actif du curcuma s'est avéré faible (tableau XIII).

**Tableau XIII** : résultats de l'extraction du principe actif du curcuma

Extrait	Aspect	Couleur	Masse (g)	Rendement (%)
curcuminoïdes	Résine collante	Oronge foncé	0.6	1.2

Le rendement de curcuminoïdes obtenu est très faible par rapport à celui rapporté par d'autres travaux (Kulkarni, 2012) Mais, il reste comparable à celui décrit par l'European Medicines Agency (EMA, 2010) qui avance un rendement compris entre 0.6 et 5%.

### 3.5. Extraction de l'huile essentielle

Après 4 heures d'extraction par hydrodisillation à l'aide d'un clevenger, nous avons obtenus un rendement acceptable en huiles essentielle (tableau XIII) :

**Tableau XIII**: Rendement en huile essentielle

	Masse végétale (g)	Masse de l'HE (g)	Le rendement en %
HE de curcuma	100 g	4.2g	4.2%

Le rendement est de 4.2% à partir de 100 g de poudre végétal de curcuma. Il est comparable avec plusieurs travaux précédant (Kelkar et Rao, 1933 ; Bisset, 1994 ; Manzan et al., 2003 ; Mara et al., 2007 ; Chomdao et al., 2009 ), cependant il est inférieur à celui de (Tsai et al., 2011) qui ont eu un rendement de 7.11% dans les mêmes conditions opératoires. Notre rendement est relativement conforme avec celui rapporté par la littérature de (Bruneton, 1995 ; Standard of Asean Herbal Medicine, 1993 ; Chemistry of Spices, 2008).

Il faut noter que notre rendement est régi par la monographie de l'organisation mondiale de la santé (WHO Monographs On Selected Medicinal Plants ,1999) et le rapport de l'European Medicines Agency (EMA) qui avance un rendement compris entre 3 et 7 %.



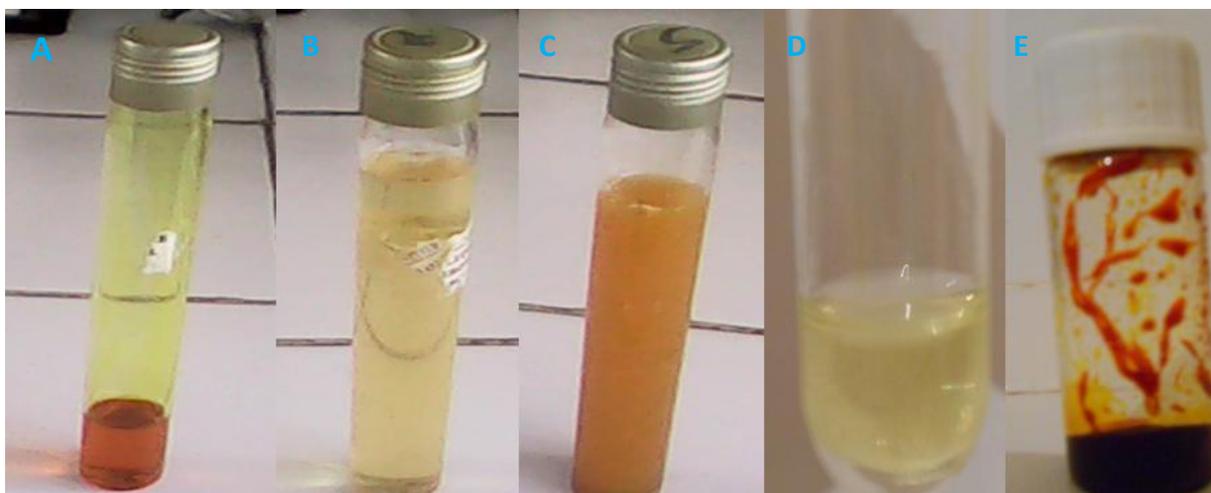
### 3.6. Caractères organoleptiques d'HE

Les caractères organoleptiques de l'huile essentielle de curcuma, sont présentés dans le (tableau XV) :

**Tableau XV** : Caractères organoleptiques de l'HE du curcuma.

	Couleur	Odeur	Aspect
<b>Huile de curcuma</b>	Jaune pâle	épicée, boisée, fraîche, typique de l'espèce	liquide, mobile et limpide

Notre huile essentiel est liquide, mobile, de couleur jaune orangée avec une odeur caractéristique de l'espèce, ces résultats sont conformes a ceux décrits par (la Pharmacopée Européenne, 2008), ainsi que ceux décrits par (Cooray et al, 1998 ; La HU et al., 1998 ; Chatterjee et al, 2000 ; Laurent, 2003 ).

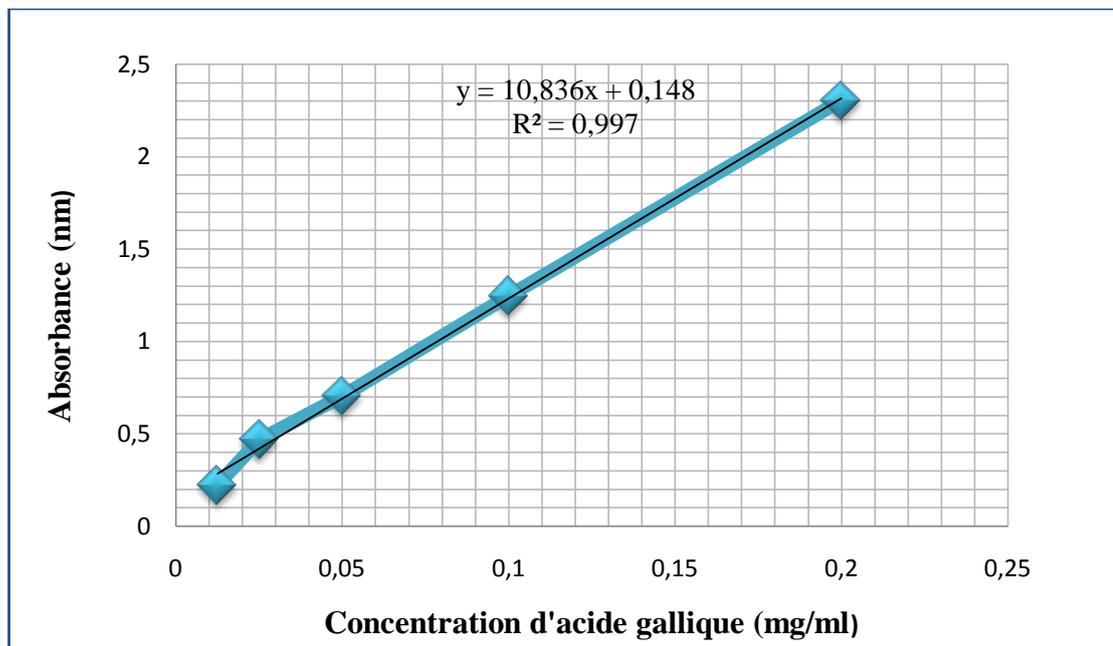


**Figure 37**: les extraits obtenus des différentes extractions. A : *extrait de curcuminoïdes*, B : *extrait flavonoïques*, C : *extrait aqueux*, D : *huile essentielle de curcuma*, E : *oléorésine du curcuma* (original ; 2013).

### 4. Dosage des polyphénols totaux et de la curcumine

Afin de déterminer la teneur en composés phénoliques, une courbe d'étalonnage est établie en utilisant l'acide gallique comme composé de référence (Figure 38).





**Figure 38:** Courbe d'étalonnage d'acide gallique

Le montant total de composés phénoliques a été déterminé avec le réactif de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme une norme composé et les polyphénols totaux ont été exprimées en mg/g d'équivalent acide gallique en utilisant l'équation de courbe d'étalonnage de celui-ci (standard) :  $y=10.836x + 0,1487$ ,  $R^2=0,9976$ , où Y est l'absorbance à 765 nm et x est la teneur en composés phénoliques totaux dans les extraits hydro-éthanolique (oléorésine) de Curcuma, exprimées en mg EAG/g. (**le Tableau XVI**).

La teneur en polyphénols totaux est très faible (38.4 mg EAG/g) par comparaison avec les résultat de (**Rajeshwari et Jyoti , 2013**) qui ont présenté une quantité des composés phénoliques qui varie de 92 jusqu'à 260 mg EAG/g, mais notre résultat semble être supérieure par rapport a celle de (**Soni et al., 2011**) qui ont trouvé (11.24 mg EAG/g). La teneur en polyphénols totaux n'est pas stable et diffère d'une plante à une autre. Elle peut être influencée par plusieurs paramètres tels que, la méthode et le temps d'extraction utilisée, la dimension des particules d'échantillon. Une autre difficulté doit être prise en considération qui est la susceptibilité des polyphénols à l'oxydation (**Telli et al., 2010**).

La teneur en curcumine dans notre échantillon est de 3.586 % (**Tableau XVI**) c'est-à-dire une faible quantité, ceci viens confirmer le faible rendement obtenu lors de l'extraction des curcuminoides. Des résultats similaires sont obtenus par (**Chavalittumrong et Jirawattanapon, 1992**) qui ont étudié la variation des constituants actifs de rhizomes de curcuma recueillis de différentes régions de la Thaïlande, où ils ont trouvé une teneur on curcumine égale à (1.83 à 4.80 %) dans des échantillons du nord du pays la où le climat est

plus froid et la période sèche est plus longue et plus prononcée . tandis que des teneurs plus élevées en curcumine ont été trouvées dans le centre et le sud avec des pourcentages de (10.12%) et (8.99%) respectivement.

Plusieurs études ont montré que des facteurs de sol, y compris les substances nutritives et le niveau de l'acidité ainsi que de la diversité du genre, peuvent affecter le contenu de la curcumine dans les plantes (**Nahak et Sahu , 2011**).

**Tableau XVI** : Teneur en composés phénoliques et curcumine dans la poudre du curcuma

Analyses quantitative	Résultats
Teneur en composé phénoliques en (mg EAG/g)	38.4
Teneur en curcumine en (%)	3.586

### 5. Analyse de l'huile essentielle du curcuma par GC-MS

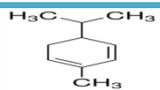
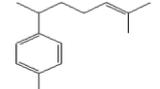
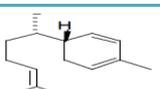
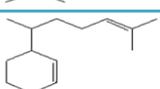
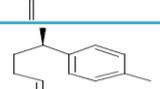
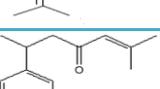
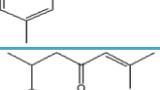
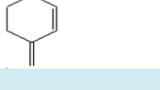
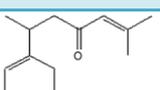
L'analyse de la composition chimique de l'HE du curcuma a été réalisée par GC-MS. Les résultats obtenus ont montrés l'identification de 84 composés représentant 97.60% de la totalité, listés selon leur temps de rétention, ces résultats sont rapportés dans (annexe 6).

D'après le chromatogramme obtenu (**Figure 39**) nous avons constatés 9 pics représentant les fractions majoritaires de l'HE du curcuma, cité dans le tableau 19.

Parmi ces 9 fractions nous avons remarqué une prédominance de 3 composés, Ar-tumerone (21.46%),  $\alpha$ -tumerone (19.23%),  $\beta$ -tumerone (13.40%) par rapport aux reste est sont  $\beta$ -sesquiphellandrène (3.12%), Ar-curcumene (2.66%),  $\alpha$ -zingebirene (2.58%),  $\alpha$ -curcumene (2.57 %),  $\alpha$ -atlantone (2.52 %),  $\alpha$ -phellandrène (1.80 %).tout les 9 composés principales de l'HE sont des sesquiterpènes l'exception de  $\alpha$ -phellandrène c'est un monoterpène.

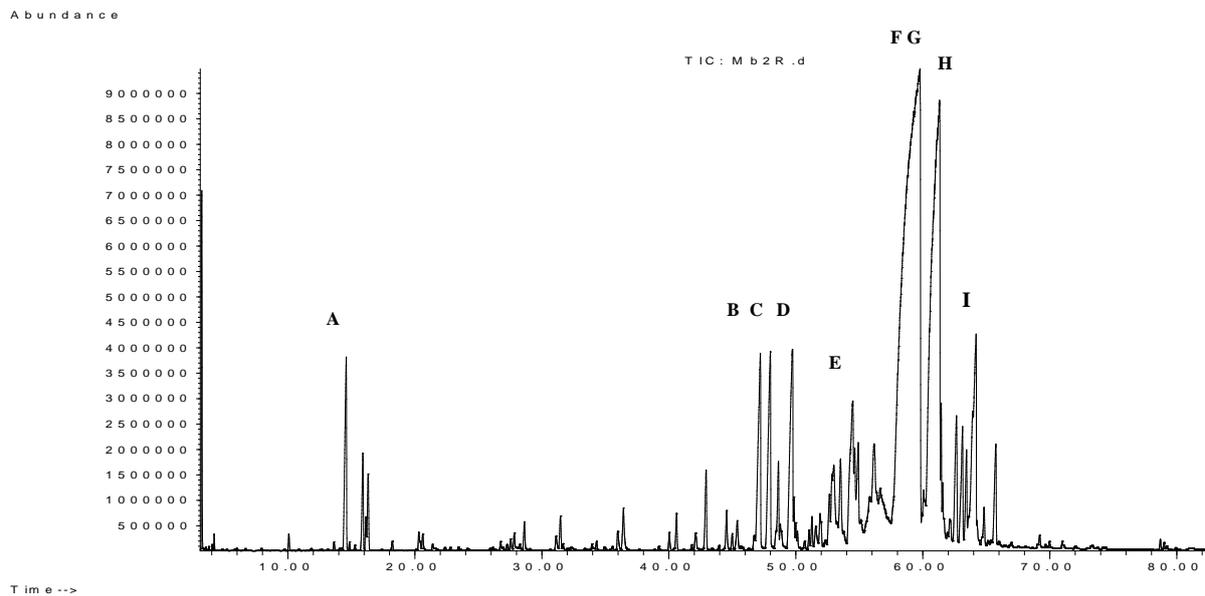


Tableau XVII: Analyse qualitative et quantitative de l'HE de curcuma par GC-MS

N° de pic	RT (mn)	Composé	type	Pourcentage %	Formule brute
A	14.60	$\alpha$ -phellandrène	monoterpène	1.80	
B	47.20	Ar-curcumene	Sesquiterpène	2.66	
C	47.99	$\alpha$ -zingebirene	Sesquiterpène	2.58	
D	49.74	$\beta$ -sesquiphellandrène	Sesquiterpène	3.12	
E	54.89	$\alpha$ -curcumene	Sesquiterpène	2.57	
F	59.10	Ar-tumerone	Sesquiterpène-cétonique	21.46	
G	59.77	$\beta$ -tumerone	Sesquiterpène-cétonique	13.40	
H	61.32	$\alpha$ -tumerone	Sesquiterpène-cétonique	19.23	
I	64.19	$\alpha$ -atlantone	Sesquiterpène	2.52	

Les résultats de l'analyse GC-MS de notre HE est qualitativement comparable avec ceux décrits par (Li et al., 1997 ; Jansen, 2005 ; Sharma, 2007 ; Duke, 2012 ) mais avec des quantité légèrement inférieur concernant les composés principales de notre HE. Notons que les proportions relatives de ces composés chimiques dans l'HE varient selon l'origine et la méthode d'extraction de cette dernière.





**Figure 39** : Analyse GC-MS de l'HE du curcuma

#### □. Etude des activités biologiques

Le curcuma a montré ses vertus médicinales à travers plusieurs travaux, quant à des activités biologiques favorisant les défenses physiologiques d'un organisme. A la recherche d'une consolidation de ces informations nous nous sommes lancés sur une série d'évaluations de ses effets thérapeutique expérimentalement.

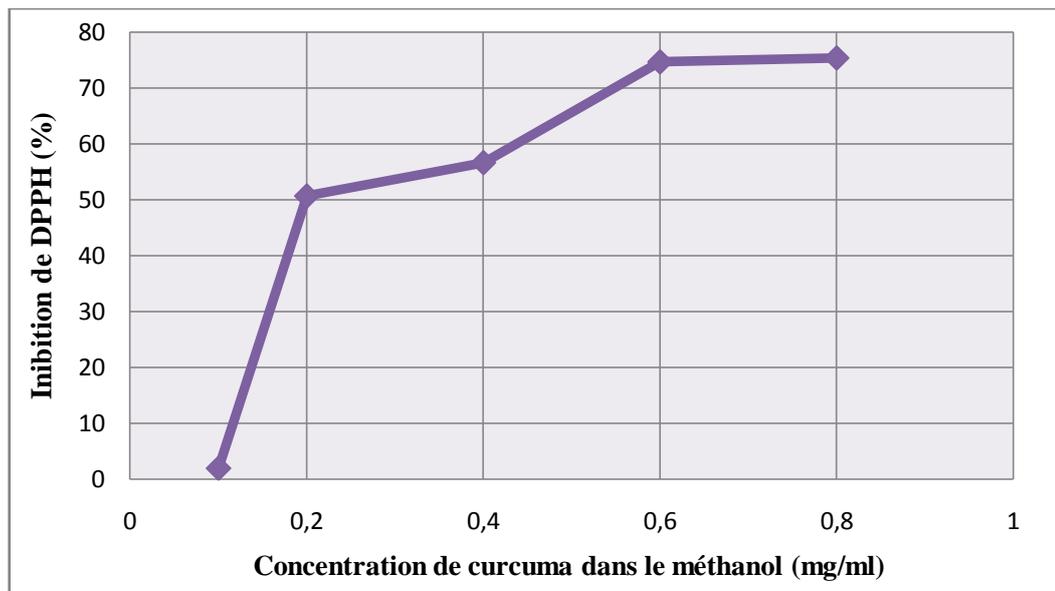
##### 6.1. Activité antioxydante (*in vitro*)

En raison de l'implication des radicaux libres dans diverses pathologies, des recherches de nouvelles molécules, pouvant palliées au déficit du système de défense endogène, se sont largement intensifiées. Notre étude avait donc pour but de tester *in vitro* l'activité antioxydante du curcuma, capable de réduction des radicaux libres principalement via les curcuminoïdes .

Les résultats du pourcentage d'inhibition du DPPH par le curcuma (**Figure 40**) et l'acide ascorbique (**Figure 42**) ont montré une bonne réduction du radical libre DPPH.

Notons que les concentrations en extrait méthanolique du curcuma sont supérieures aux concentrations utilisant la vitamine C, sauf la dernière égale à 3.12 mg/ml. Nous avons délibérément choisi ces concentration pour deux raison, l'une concernant l'extrait méthanolique du curcuma pauvre en curcuminoïdes auquel se rajoute la courte durée (10 min) de contact entre le solvant (méthanol) et la poudre végétal du curcuma, qui n'est encore pas suffisante pour l'extraction maximal des curcuminoïdes , rapporté également par Sadasivam

et Manickam qui recommande une durée optimum supérieur à 6h (Sadasivam et Manickam , 2007). L'autre raison est liée au fait que la vitamine C est un composé pur.



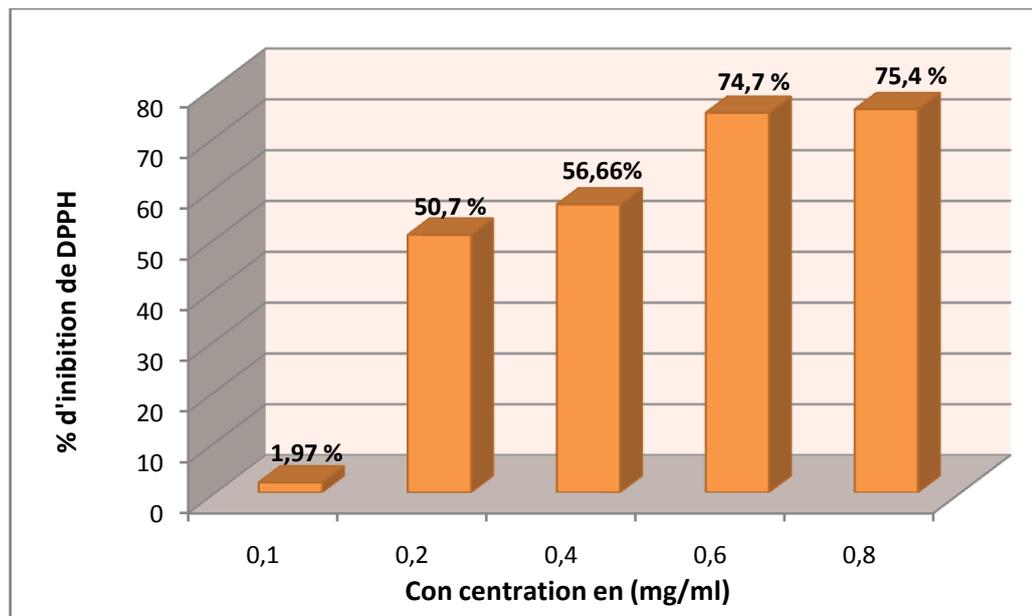
**Figure 40 :** Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait méthanolique du curcuma

D'après cette courbe on remarque une forte ascension du taux d'inhibition du DPPH à la concentration 0.2 mg/ml qui continue graduellement à augmenter jusqu'à 75.4 % pour 0.8 mg/ml de l'échantillon.

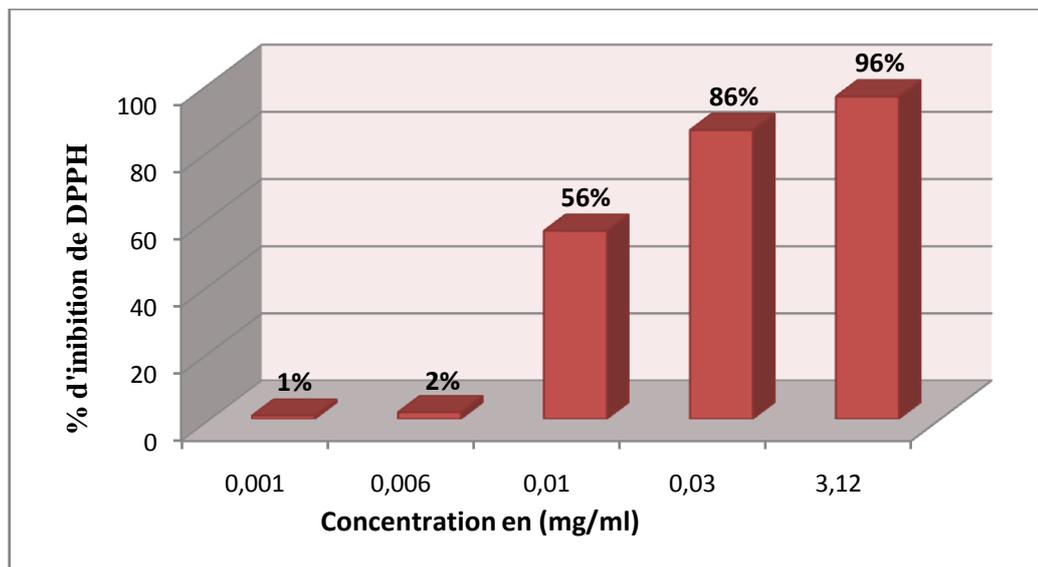
Les résultats montrent que plus la concentration est élevée plus la réduction du DPPH augmente, notamment à la concentration 0.8 mg/ml de l'échantillon donnant un maximum de 75.40% d'effet antioxydant. Le % d'inhibition du DPPH par la vitamine C atteint son maximum (96%) à la concentration 3.12 mg/ml, Cependant il faut noter que nous sommes loin des vrais valeurs du principe actif (curcuminoïdes) et donc loin de l'effet antioxydant réel du curcuma, encore une fois à cause de la courte durée de contact du curcuma avec le méthanol dont la conséquence est la quantité faible en curcuminoïdes. D'ailleurs plusieurs travaux recommandent l'évaluation de l'activité antioxydante du curcuma sur son extrait pur en curcuminoïdes, en plus de compléter l'étude avec d'autres techniques fiables telles que la FRAP. Des mesures par la méthode CUPRAC (cupric reducing antioxidant capacity) de l'activité d'échantillons d'extraits de curcuma ou de curcumine pure ont confirmé l'effet antioxydantes (Cikrikci et al., 2008).

En revanche on n'exclut pas qu'une forte activité antioxydante du curcuma a bien été constatée et on peut même s'attendre à un effet largement supérieur à celui vu avec la

vitamine C et même d'autres antioxydants (BHT et vitamine E), tel qu'il a été rapporté par des travaux antérieurs (Sandur et al., 2007).

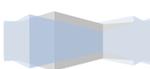


**Figure 41 :** Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait méthanolique de curcuma



**Figure 42 :** pourcentage d'inhibition du DPPH par la vitamine C

En comparant nos résultats avec d'autres études, nous avons remarqué qu'ils se rapprochent de ceux de (Maisura et al., 2011) qui ont trouvé pour 0.2 mg/ml d'extrait méthanolique de curcuma un pourcentage d'inhibition de DPPH de 62,2 % contre 50.7 % constaté par notre étude. Cette différence est expliquée par le fait qu'ils aient utilisés une poudre végétal fraîche (rhizomes fraîchement récoltés) de curcuma. D'après (Singh et al.,



**2010)** l'extrait méthanolique des rhizomes frais de curcuma possède des propriétés antioxydantes supérieures en comparant à celles des rhizomes secs du curcuma.

Les curcuminoides, en particulier la curcumine, sont les principes actifs du curcuma. D'après plusieurs études la curcumine a un effet antioxydant très puissant (**Sreejayan et Rao, 1994 ; Osawa et al., 1995**). La curcumine s'est avérée significativement plus efficace que d'autres métabolites secondaires, de certaines épices, dans sa capacité à prévenir la peroxydation des lipides. Son effet antioxydant est 8 fois plus puissant que la vitamine E (**Reddy et Lokesh, 1992**) et il a été significativement plus efficace dans la prévention de la formation de peroxyde lipidique que l'antioxydant BHT synthétique (**FAO, 2004**).

La curcumine a des effets protecteurs contre la peroxydation lipidique par ses propriétés de capture des radicaux libres (anions superoxydes, radicaux hydroxyles..) et en maintenant l'activité d'enzymes antioxydantes telles que la superoxyde-dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase, elle protégerait la cellule contre les méfaits du stress oxydatif et elle peut protéger l'hémoglobine de l'oxydation. (**Motterlini et al., 2000 ; Araujo et Leon, 2001 ; Kalpana et al., 2004 ; Jayaprakasha et al., 2005 ; Kholi et al., 2005 ; Somparn et al., 2007**).

L'activité antioxydante du curcuma est fortement corrélée à sa teneur en curcuminoides. L'énumération des potentiels antioxydants de la curcumine, de ses mécanismes d'actions ainsi que de leur régulation nous donne un aperçu du pouvoir antioxydant majeur et multi-potent de la curcumine et de ses dérivés (**Singh et al., 2010 ; Snu-yao et al., 2011**).

## **9.2. Activité anti-inflammatoire**

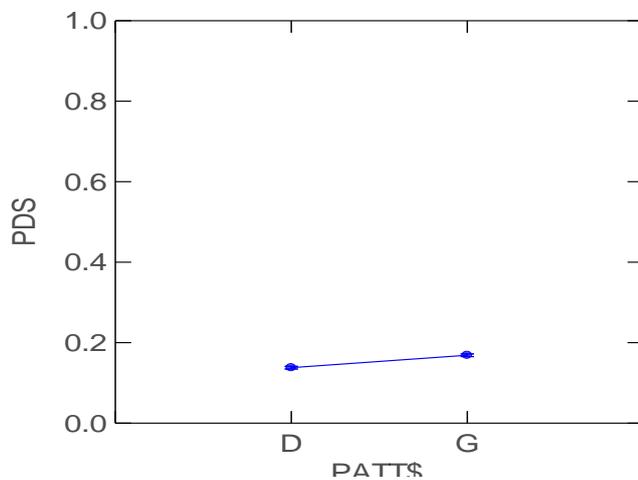
L'étude de l'activité anti-inflammatoire des différents extraits préparés du curcuma s'est reposée sur le modèle de l'œdème aigu de la patte de souris induit par la carragénine 1%. L'administration de la carragénine à 1%, entraîne une augmentation significative du volume de la patte des souris, le taux de l'œdème est calculé après 5h d'induction

La carragénine provoque un œdème au niveau de la patte qui est décrit comme un événement diphasique, une phase initiale observée durant la première heure qui est attribuée à la libération de l'histamine et de la sérotonine, et une deuxième phase de gonflement qui est due à la libération des prostaglandines (**Crunkhorn et Meacock, 1971**). Les médicaments anti-inflammatoires interviennent en général en s'opposant à l'effet de ces médiateurs chimiques, histamine, sérotonine, quinines et prostaglandines (**Lindsey et al., 1999; Attal et Bouhassira, 2000**), à l'exemple du diclofénac qui est un médicament anti-inflammatoire, non

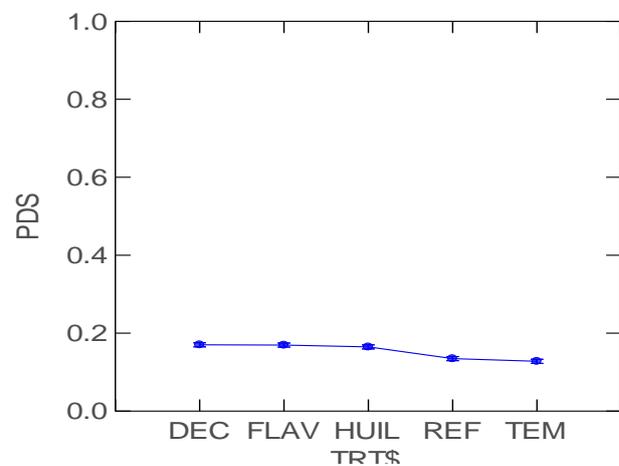


stéroïdien inhibant la cyclo-oxygénase (COX), intervenant au sommet d'une cascade de réactions qui aboutissent à la formation de prostaglandine .

L'analyse des variances (ANOVA) des résultats de l'activité anti inflammatoire a été effectuée pour apporter une réponse à deux questions principales, la première visait la réalité de la formation d'œdème chez les souris injectées par la carragénine 1% ? Deuxièmement est-ce que le volume de l'œdème formé chez les souris est similaire dans les différents lots ?.



**Figure 43:** Différence du poids des pattes gauches et droites des souris dans la totalité des lots après injection de la carragénine.

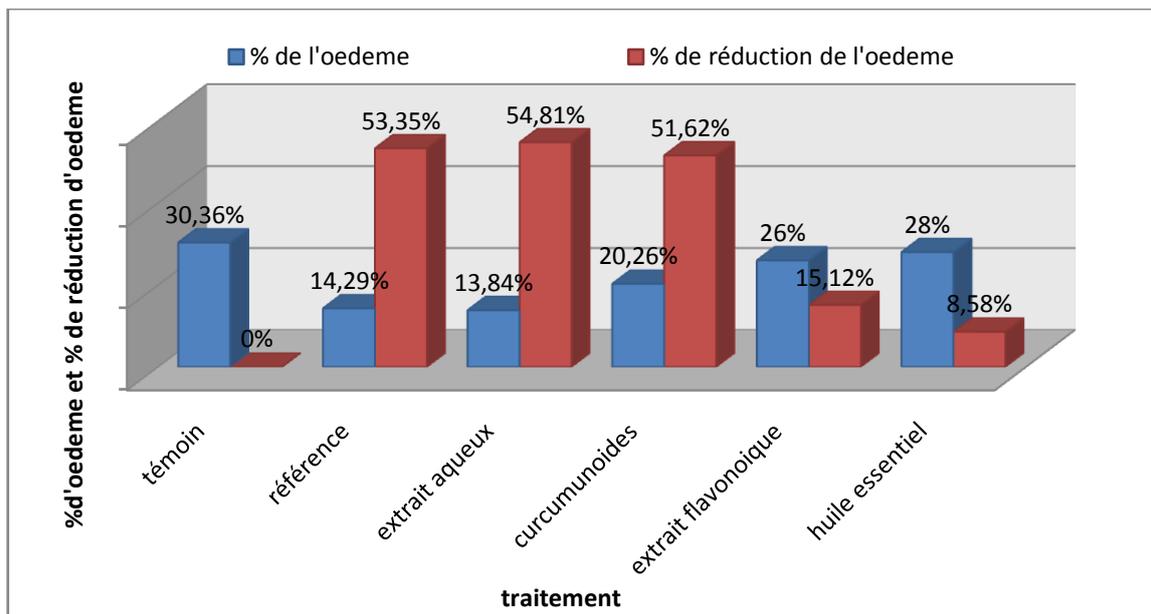


**Figure 44 :** Différence du poids entre les deux pattes dans chaque lot individuellement.

La figure 43 montre une nette différence entre le poids des pattes gauches des souris enflammées et celui des pattes droites saines de chaque lot. L'analyse de variances (ANOVA) a montré une différence hautement significative dont la marge d'erreur est largement inférieure à 0.0001 ( $p < 0.001$ ) entre le poids des pattes gauche enflammées par injection de carragénine 1% et le poids des pattes droites saines des souris de chaque lot.

La figure 44 montre une égalité relative des différences du poids entre les deux pattes des souris dans les différents lots. L'analyse de variances ANOVA a montré une différence hautement significative avec un risque d'erreur largement inférieur à 0.0001 ( $p < 0.001$ ).





**Figure 45:** Distribution du pourcentage d'œdème et du pourcentage de réduction de l'œdème de chaque extrait

L'analyse de ces résultats (**Figure 45**) nous a permis de constater que le taux de réduction de l'œdème du lot témoin est nul. L'administration de l'eau distillée aux souris ne diminue en rien l'œdème. Ainsi il reste important avec une augmentation de 30.36%. L'administration du Déclofénac à la dose de 50mg/ml prévient de façon satisfaisante. L'augmentation du volume de l'œdème des souris atteint un taux de réduction de 53.35%. De même que pour l'extrait aqueux, à la dose de 50mg/ml, il parvient à réduire l'œdème même un peu mieux que la référence (déclofénac) avec un taux de 54.81%. L'extrait de curcuminoïdes, à la dose de 50mg/ml, prévient l'œdème de façon assez significative avec un taux de réduction de 51.62% comparable à celui de la référence. L'extrait flavonoïque et l'HE n'arrivent à prévenir l'œdème que faiblement ceci avec respectivement un taux de réduction de l'œdème de 15.12% et 8.58%.

Nos résultats montrent que l'extrait aqueux et l'extrait de curcuminoïde présentent une activité anti-inflammatoire importante concurrençant celle de la référence, tandis que l'extrait flavonoïque et l'HE arrivent faiblement à réduire l'inflammation.

Les propriétés anti-inflammatoires à l'origine de l'utilisation ancestrale du Curcuma sont surtout liées à la présence des curcuminoïdes, et tout particulièrement la curcumine, l'élément le plus actif capable d'interagir avec de nombreuses cibles moléculaires impliquées dans l'inflammation, aiguë ou chronique, elle agit via de multiples voies physiologiques (**Jurenka, 2009**). Dès 1973, des expériences montrent que la curcumine est active sur des modèles d'inflammation aiguë et chronique. La substance s'est montrée efficace pour inhiber

un œdème de la patte induit par des carraghénine, chez des rats et des souris. Chez la souris, la curcumine inhibe l'œdème à des doses variant de 50 à 200 mg/kg (**Jayaprakasha et al., 2005 ; Jacob et al., 2007**).

La réduction de la moitié de l'œdème a été obtenue avec une dose de 48 mg/kg de poids vif, ce qui est presque aussi efficace que la cortisone et la phénylbutazone à doses similaires chez le rat, une dose plus faible de 20 à 80 mg/kg a diminué l'œdème et l'inflammation de la patte (**Jurenka, 2009**). Dans une autre étude portant sur l'œdème aigu de la patte de rat la curcumine a même été un peu plus efficace que la phénylbutazone (**Mukhopadhyay et al., 1982**).

Des travaux précédents ont permis de révéler (**Ammon et Wahl, 1991**), que la curcumine est très active et diminue de façon très significative l'œdème de la patte induit par carragénine après une administration intra-péritonéale dans les modèles animaux retenus, et beaucoup moins par voie *per os*.

Une expérimentation récente (2009), menée sur le rat, modèle d'inflammation qui correspond chez l'homme à une inflammation sub-chronique, explique les résultats précédents. En effet, l'administration en intra-péritonéal (i.p.) de la curcumine (240mg/kg), d'aspirine (160mg/kg) ou de rofecoxib (5mg/kg) pendant 6 jours a révélé une activité anti-inflammatoire significative des 3 molécules. Il a été rapporté (**Sharma et al., 2007**) que des patients atteints d'arthrite rhumatoïde traités par 300 mg de curcumine 4 fois par jour pendant 2 semaines, ainsi que d'autres ayant un syndrome du côlon irritable et traités par 0.55 à 1.65 g/j de curcumine pure pendant 2 mois, ont montré une amélioration significative de leurs symptômes cliniques (**Chattopadhyay et al., 2004**).

Plusieurs travaux ont expliqués les mécanismes par lesquelles, le curcuma et son principe actif la curcumine arrivent à réduire l'inflammation et dans certain cas l'inhiber complètement. L'activité anti-inflammatoire du curcuma se traduit par une bonne action à double potentiel, un celui de l'inhibition de la voie COX2 et LOX5, deux celui de la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires (interleukines, TNF- $\alpha$ ) et modulation de l'activité NF- $\kappa$ B, intervenant majeur dans la régulation de l'inflammation. L'inactivation concomitante des 2 voies métaboliques COX2 et LOX5 confère à la curcumine ce pouvoir anti-inflammatoire puissant. Il faut noter que la curcumine peut inhiber l'expression du gène COX2 en empêchant l'activation de NF- $\kappa$ B (**Hongyu Zhou et al., 2011**). Certains ont avancé l'hypothèse d'une régulation, par la curcumine, de l'enzyme COX-2 au niveau transcriptionnel (blocage de l'expression de gènes pro-inflammatoires par dégradation des

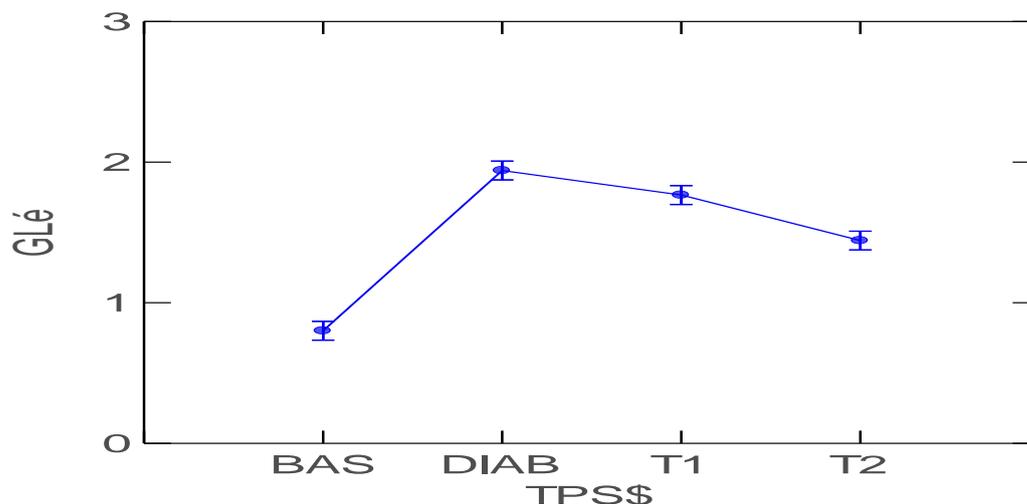


ARNm). Ceci la distinguerait des inhibiteurs COX /LOX de synthèse, si cette hypothèse venait à être vérifiée (Rao, 2007).

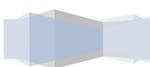
### 9.3. Résultats de l'activité anti diabétique

L'effet des différents extraits préparés de curcuma sur la glycémie a été vérifié chez des rats rendus diabétiques par injection sous cutané d'une solution d'alloxane monohydraté à 150 mg/kg. L'alloxane induit une augmentation significative du taux de glucose sanguin à la suite de la destruction des cellules  $\beta$  des îlots de langherhanse du pancréas. Pour cela nous avons utilisé 5 lots sur lesquelles nous avons testé 3 extraits différents à savoir l'extrait aqueux de curcuma à 200 mg/ml, l'extrait de curcumunoides à 100 mg/ml et l'HE du curcuma à 2.5% , ceci contre 40 mg/ml de glucophage comme référence. Un groupe traité par l'eau distillée a été utilisé comme témoin.

Nous avons choisit d'évaluer la variation du taux de glucose sanguin des rats diabétiques traités par les différents extraits a deux intervalles différents T1 : une journée après traitement, (glycémie à court terme) et a T2 : une semaine après traitement (glycémie à longue terme). Les résultats obtenus du dosage de la glycémie des différents lots sont regroupés dans le Tableau X et Annexe x. Les résultats de la variation de la glycémie en fonction du temps avant puis après traitement sont représentés dans la figure 50 et ceux en fonction des différents lots traités et non traités aux extraits du curcuma (figures 46).

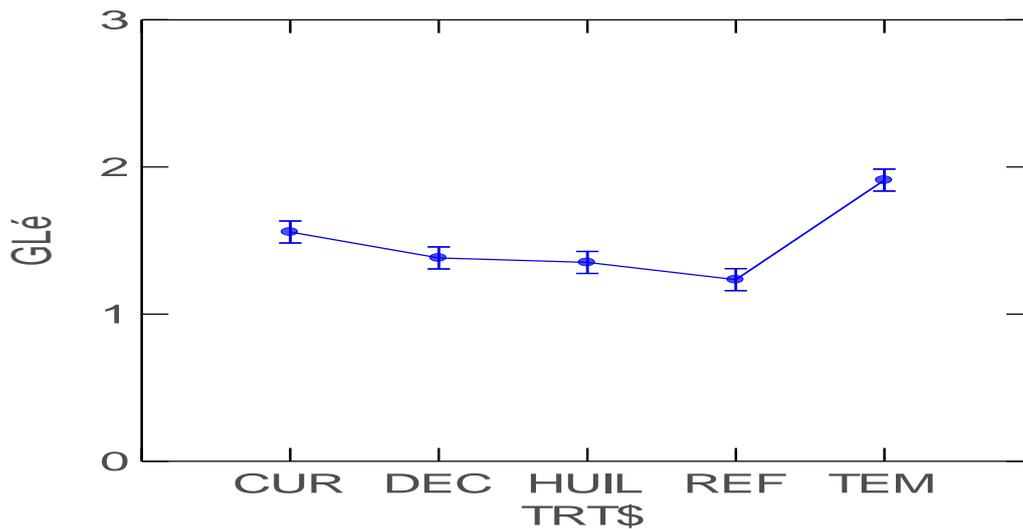


**Figure 46:** Variation de la glycémie en fonction du temps avant et après traitement

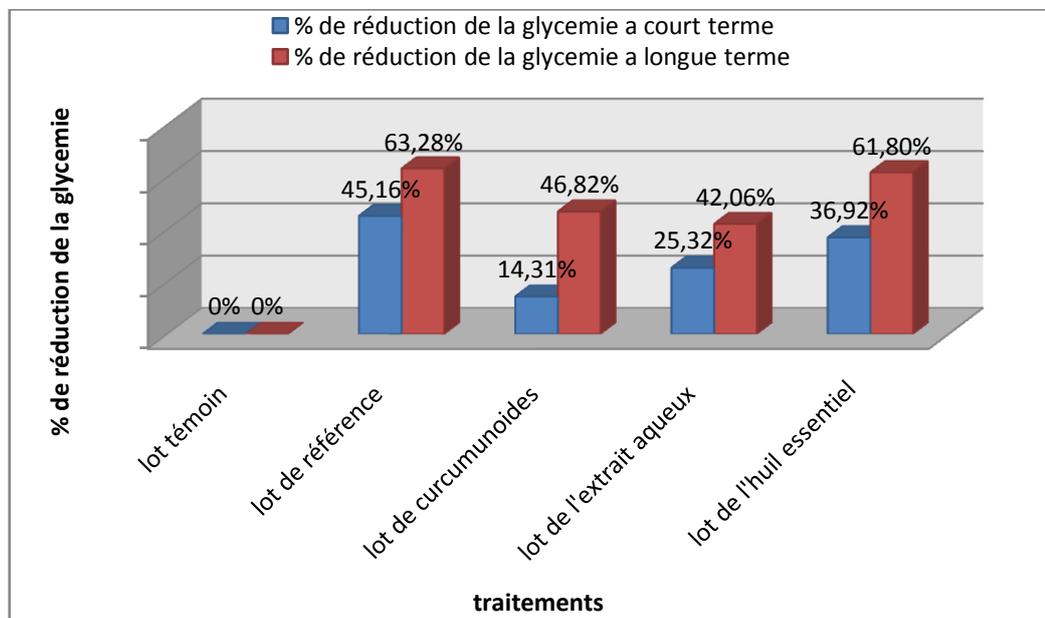


L'analyse de ces données nous permet de dire qu'il y a eu véritablement une variation dans le taux de glucose aux différentes phases de l'expérimentation, la glycémie à jeun (BAS) augmente de façon significative après 72h de l'injection de l'alloxane, les rats sont devenus diabétiques (DIAB). Après une journée du traitement nous avons constaté une légère diminution de la glycémie, elle baisse significativement à T2 après une semaine de traitement.

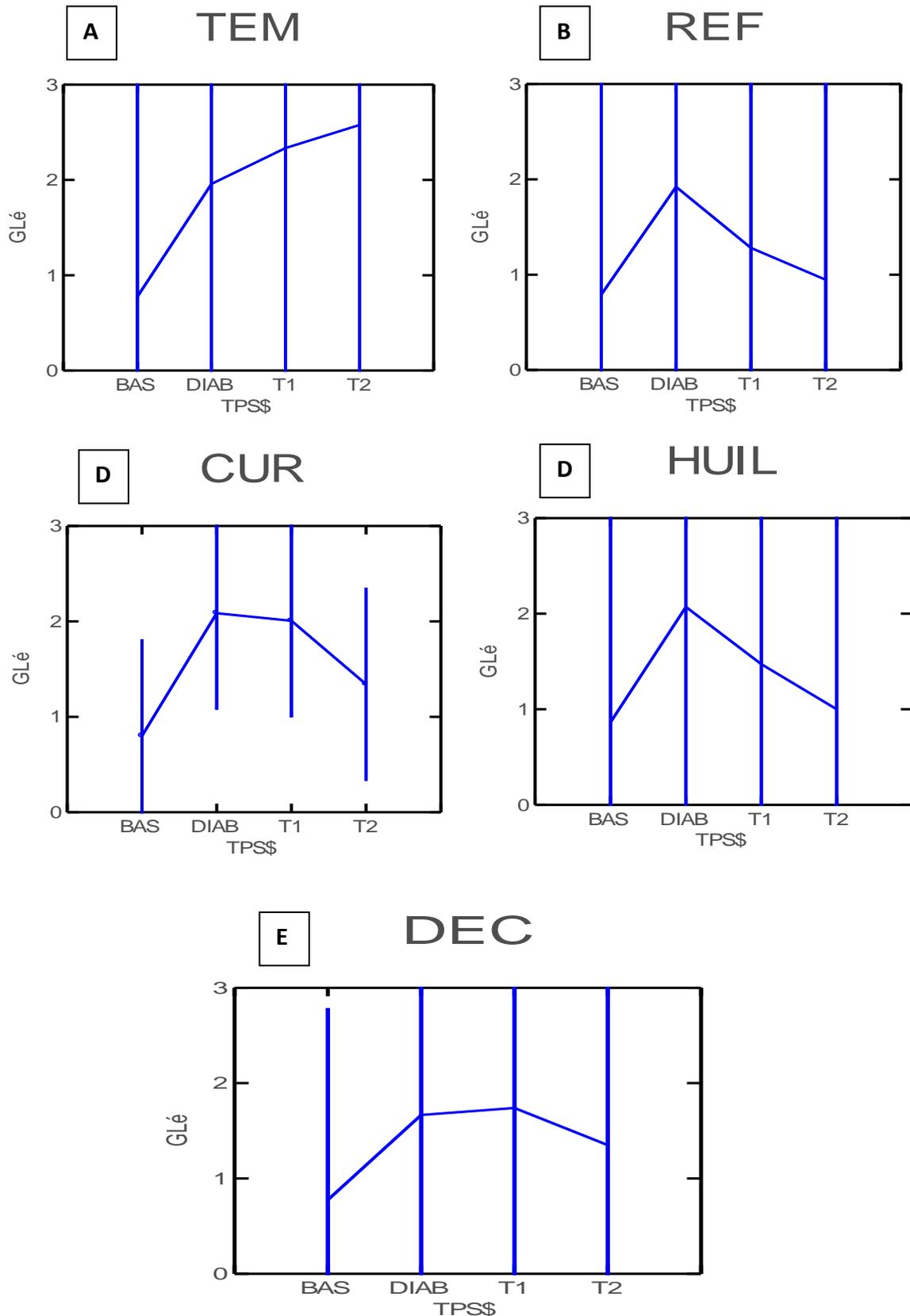
L'analyse de variance ANOVA a montré une différence hautement significative dont la marge d'erreur est largement inférieure à 0.0001 ( $p < 0.001$ ) entre le taux de glucose sanguin des rats et les différentes phases expérimentales (figure 51).



**Figure 47:** Variations de la glycémie en fonction du traitement



**Figure 48:** Pourcentage de réduction de la glycémie a court et a long terme de chaque extrait



**Figure 49:** Variation de la glycémie chez les rats dans chaque lot. a) témoin, 2ml d'eau distillée, b) référence, 2ml de glucophage, c) traitement par 2ml d'extrait aqueux, d) traitement par 2ml d'extrait de curcuminoïdes, e) traitement par 0.4ml de l'HE.



L'analyse de variances ANOVA révèle une différence hautement significative dont la marge d'erreur est largement inférieure à 0.0001 ( $p < 0.01\%$ ) entre la variation de la glycémie des rats et la durée de traitement à savoir après une journée et après une semaine de traitement (**Figure 46**) et (**Figure 49**). elle révèle aussi une différence hautement significative dont la marge d'erreur est largement inférieure à 0.0001 ( $p < 0.01\%$ ) entre le type de traitement utilisé et la durée du traitement à court et long terme (**Figure 47**).

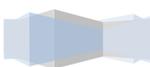
Ces résultats montrent que l'alloxane provoque après 72h de son injection une augmentation significative de la glycémie chez la totalité des rats atteignant 3.8g chez certains d'entre eux, ce qui peut même provoquer la mort. Chez le groupe diabétique témoin la concentration sérique du glucose continue de s'élever à un maximum après 1 semaine (T2) (**Figure 49**), l'eau distillée ne diminue en aucun cas la glycémie avec un taux de réduction quasiment nul (**Figure 48**), par contre chez le groupe diabétique traité par la référence (glucophage) administré aux rats à 40 mg/ml la glycémie diminue de façon significative et revient à la normale après une semaine de ce traitement (**Figure 49**) avec un taux de réduction de la glycémie à court et long terme respectivement (45.16 %, 63.28 %) (**Figure 48**).

L'extrait aqueux et l'extrait de curcuminoïde font baisser faiblement la glycémie à T1 (25.32% et 14.82%) mais finissent par la diminuer progressivement jusqu'à T2 (42.06 % et 46.82 %) une semaine après le traitement (**Figure 49**).

Il faut noter que notre voie d'administration (gavage) présente un inconvénient pour la biodisponibilité de la curcumine. Une administration par voie intraveineuse ou une utilisation d'adjuvants (peperine), sont de bonnes solutions pour augmenter l'efficacité de traitement à la curcumine. La peperine permet, par la protection contre la dégradation de la curcumine, en plus de l'augmentation de son absorption et donc de sa biodisponibilité, l'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase, au niveau des entérocytes, et de ce fait empêche la dégradation des polysaccharides en glucose, absorption de ce dernier et son augmentation dans le sang (**Patel et al., 2011**).

L'HE de curcuma diminue la glycémie de façon significative à T1 et continue de baisser la glycémie jusqu'à T2 respectivement (36.92 %, 61.80 %) (**Figure 49**).

L'Alloxane ou l'acide mésoxalique, a été proposé comme agent diabétogène en raison de sa capacité de détruire les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans, éventuellement par le biais de formation excessive de radicaux libres, suite aux dommages oxydatifs générés par ces derniers. D'autres substances ont été proposées pour avoir des effets diabétogènes comme la Streptozotocine qui est un dérivé nitrosurique isolé de *Streptomyces griseus* (**Szkudelski,**



2001), et qui représente l'une des différentes substances utilisées pour induire un diabète insulino-dépendant ou non insulino-dépendant chez les rats (Szkudelski, 2001).

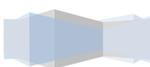
Nos résultats sont comparables à ceux de (Nishiyama et al., 2005) qui ont évalué l'effet de trois extraits préparés à partir de poudre de curcuma, l'extrait de curcuminoïdes, l'extrait de sesquiterpènes isolé à partir de l'huile essentielle de curcuma, et un extrait comportant les deux fractions à la fois. Les 3 extraits (curcuminoïdes, sesquiterpènes et curcuminoïdes + sesquiterpènes) ont supprimé significativement la hausse de glycémie constatée dans le groupe témoin (placébo). Les curcuminoïdes et les sesquiterpènes semblent avoir des effets additifs ou synergiques. On peut donc en déduire que dans le curcuma, de nombreuses molécules sont actives, qu'elles agissent et interagissent, qu'il n'y a pas que la curcumine qui compte. Cet argument va dans le sens des diététiciens qui valorisent l'utilisation du totum de la plante (donc de la poudre dans l'alimentation) plutôt que l'extraction des principes actifs isolés (médicament ou complément alimentaire basé sur une seule molécule).

Un des mécanismes en jeu serait l'activation du PPAR  $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor gamma). Le PPAR- $\gamma$  contrôle la différenciation cellulaire, est un médiateur de l'adipogenèse et module l'action de l'insuline. Le curcuma pourrait être un ingrédient prometteur dans la prévention et/ou l'amélioration du diabète de type 2.

Nos résultats sont comparables à ceux de (Suresh et al., 2010) qui ont étudié l'activité antidiabétique d'une fraction de curcumine naturelle et une fraction synthétique, les deux fractions sont administrées aux rats diabétiques par injection d'alloxane à 100 mg/ml. L'extrait de curcumine arrive à diminuer la glycémie après 2h de traitement.

Dans une étude clinique réalisée en Thaïlande par (Chuengsamarn et al., 2012), les auteurs concluent que, dans une population de patients pré-diabétiques, l'administration de curcumine pendant 9 mois entraîne une diminution significative du nombre de personnes chez qui un diabète de type 2 est nouvellement diagnostiqué. En outre, le traitement par curcumine a semblé améliorer la fonction des cellules  $\beta$ , et ses effets secondaires étaient tout à fait mineurs. Cette étude montre donc qu'un traitement par curcumine peut être avantageux dans une population de patients pré-diabétiques.

D'autres études ont révélé le potentiel antidiabétique d'extraits de curcuma, l'extrait de l'oléorésine, extrait de curcumine, et l'huile essentielle de curcuma, de réduire la glycémie chez des rats diabétiques (Halim et Ali, 2002 ; Palla, et al., 2005; Suresh et al., 2012 ; Ammayappan et al., 2012 ).



#### 9.4. Résultats de l'activité antimicrobienne :

Les résultats relatifs aux diamètres des zones d'inhibition révélés par les différents extraits en utilisant le test de l'aromatogramme sont regroupés ci-dessous :

**Tableau XVIII:** Résultats de l'activité antimicrobienne pour l'extrait aqueux

Les souches utilisées	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)	Classement/interprétation
<i>Bacillus subtilus</i>	12	Légèrement inhibitrice
<i>Staphylococcus aureus</i>	absence	Non inhibitrice
<i>Candida albicans</i>	absence	Non inhibitrice



*Bacillus subtilus*

*Staphylococcus aureus*

*Candida albicans*

**Figure 50 :** Résultats de l'activité antimicrobienne pour l'extrait aqueux (Originale, 2013)

**Tableau XVIII :** Résultats de l'activité antimicrobienne pour l'extrait flavonoïque

Les souches utilisées	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)	Classement/interprétation
<i>Bacillus subtilus</i>	absence	Non inhibitrice
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	Légèrement inhibitrice
<i>Candida albicans</i>	10	Légèrement inhibitrice



*Bacillus subtilis**Staphylococcus aureus**Candida albicans***Figure 51:** Résultats de l'activité antimicrobienne pour l'extrait flavonoïque (Originale,2013)**Tableau XX :** Résultats de l'activité antimicrobienne pour l'extrait de curcuminoïdes

Les souches utilisées	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)	Classement/interprétation
<i>Bacillus subtilis</i>	absence	Non inhibitrice
<i>Staphylococcus aureus</i>	absence	Non inhibitrice
<i>Candida albicans</i>	absence	Non inhibitrice

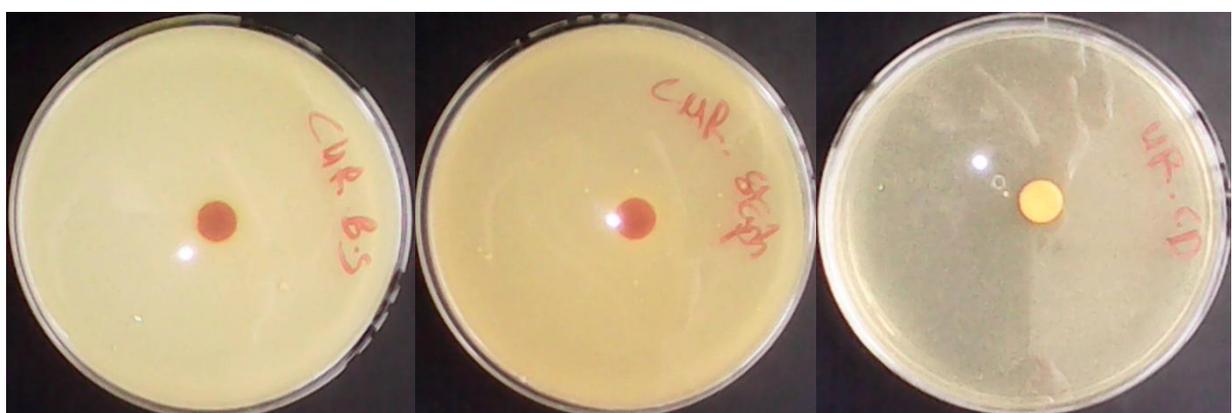
*Bacilluse subtilillus**staphylococcus aureuse**Candida albicans***Figure 52 :** Résultats de l'activité antimicrobienne pour l'extrait de curcuminoïdes (Originale, 2013)

Tableau XXI : Résultats de l'activité antimicrobienne pour l'huile essentielle

Les souches utilisées	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)	Classement/interprétation
<i>Bacillus subtilus</i>	20	Modérément inhibitrice
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	Modérément inhibitrice
<i>Candida albicans</i>	13	Légèrement inhibitrice

*Bacillus subtilus**Staphylococcus aureus*

Figure 53: Résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de curcuma (Originale, 2013)

Au regard de ces résultats, nous observons que l'extrait aqueux a faiblement inhibé la croissance de *Bacillus subtilus* avec une zone d'inhibition (ZI) égal à 12 mm, cependant il s'est avéré inactif contre *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, l'extrait flavonoïque a légèrement inhibé la croissance de *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* avec respectivement ZI=11, ZI=10, par contre l'extrait de curcuminoïdes il s'est avéré inactif contre *Bacillus subtilus*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*. En ce qui concerne l'huile essentielle de curcuma elle a inhibé la croissance de plusieurs souches *Bacillus subtilus*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* avec respectivement ZI=20 mm, ZI=10 mm et ZI=13

Enfin, l'activité antimicrobienne, consacrée à l'évaluation du pouvoir antimicrobien des différents extraits a révélé que les extraits ne présentaient pas un pouvoir antimicrobien par rapport à l'huile essentielle de curcuma qui a inhibé la croissance des bactéries et levures de

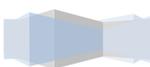


façon significative sur *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, et antifongique sur *Candida albicans*.

Chattopadhyay rapporte que la fraction huileuse de *Curcuma longa* et la curcumine Suppriment la croissance de plusieurs bactéries comme *Streptococcus*, *Staphilococcus*, *Lactobacillus* et autres (Araujo C.A.C. et Leon L.L., 2001; ChattopadhyayI., 2004). L'extrait aqueux aurait des effets antibactériens, et la curcumine pourrait prévenir la croissance d'*Helicobacter pylori*, *in vitro* (ChattopadhyayI., 2004). L'activité antibactérienne a été déterminée pour l'extrait de curcuma et la curcumine pure. Aucun des échantillons n'a eu d'activité contre les bactéries gram négatives *E. Coli* et *Pseudomonas aeuroginosa*. Wessler a conclu qu'un très fort pouvoir antibactérien de la curcumine existe contre les germes gram négatif *Neisseria gognorrhoeae* (Clayton H.M., 2003 ; Wessler S., et al., 2005).

Différents extraits et huiles de curcuma obtenus avec divers solvants montrent une activité contre *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *Fusarium moniliforme* et *Penicillium digitatum* (ChattopadhyayI., 2004). L'extrait éthanolique de curcuma possède de bonnes propriétés anti-fongiques contre *Trichophyton longifusus* (Jain S. et all., 2007) et une action contre *Candida albicans* modérée (Clayton H.M., 2003). L'activité antimicrobienne forte de l'huile essentielle est due à sa richesse en sesquitérpènes (ChattopadhyayI., 2004).

Nous pensons que la curcumine est davantage intéressante et efficace car elle exerce un pouvoir thérapeutique contre le diabète, l'inflammation, l'infection et contre l'oxydation particulièrement en agissant sur des voie de signalisation qui se croisent entre elles. Son activité anti-oxydante puissante est à la base de l'ensemble de ses propriétés thérapeutiques. A notre avis ses facultés curatives et préventives, passant en premier par son effet contre les radicaux libres, sont à l'origine de son activité anti-cancer dont plusieurs travaux lui font allusion.



## *Conclusion et perspectives*

---

L'objectif de ce travail était de valoriser l'effet thérapeutique du curcuma en montrant ces propriétés à travers des tests expérimentaux. Ainsi nous avons vu que les molécules bioactives du curcuma, et sur tous son principe actif majeur la curcumine, agit sur de cibles multiples avec un potentiel de traitement contre diverses maladies.

L'extrait méthanolique du curcuma a confirmé une forte action antioxydante avec un pourcentage de réduction du DPPH égale de 75.4%, de même pour l'effet anti-inflammatoire des deux extraits aqueux et celui des curcuminoïdes qui ont montré une bonne efficacité avec un pourcentage de réduction de l'œdème égale à 54.81%, 51.62%, l'HE a révélé une très bonne action antidiabétique avec un pourcentage de réduction de la glycémie à long terme égale à 61.80%, même chose pour l'activité antimicrobienne, l'HE c'est avéré plus efficace que tous les autres extraits.

Notre travail vient se rajouter à ce qu'a été avancé dans tous les travaux antérieurs sur le curcuma pour renforcer les recommandations d'utiliser davantage les plantes médicinales en l'occurrence le curcuma. Il serait important particulièrement que notre communauté intègre l'épice et sur le plan culinaire que thérapeutique et autres.

Ainsi, une enquête approfondie est nécessaire pour renforcer nos résultats. On aurait voulu compléter ce travail par une étude par le fractionnement des différents extraits et d'identifier les molécules responsables des activités biologiques en utilisant des techniques d'identification plus performantes. De là, un travail complémentaire s'impose en vue de la caractérisation et l'isolement des différentes molécules en particulier les différentes fractions des curcuminoïdes à savoir la curcumine I, curcumine, II et curcumine III et celles de l'huile essentielle de curcuma dont Ar-tumérone,  $\beta$ -tumerone,  $\alpha$ -tumerone,  $\alpha$ -curcumène,  $\alpha$ -zingéberène, les purifier en utilisant diverses techniques chromatographiques notamment la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et des méthodes spectrales pour l'élucidation structurale. Dans un deuxième temps, il serait intéressant d'évaluer les différentes activités biologiques pour ces molécules sur tout en synergie.

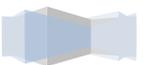
Pour plus d'investigation sur les propriétés thérapeutiques du curcuma et de ces molécules bioactives d'autres études seront nécessaires afin d'évaluer l'activité antilipidémiant, hépato-protectrice, anti-tumorale, anti-ulcéreuse, et particulièrement l'effet anti-cancer.

Il reste toute fois de prouver son efficacité chez l'homme. Ainsi, des essais cliniques plus étendus sont nécessaires. C'est ainsi que le curcuma passera de simple épice à un véritable médicament, dont les multiples indications sont encore à découvrir et à définir, la

## *Conclusion et perspectives*

---

biodisponibilité à améliorer par des techniques modernes et, à partir de la formule chimique de la curcumine, découvrir de nouvelles molécules plus puissantes et aux effets plus ciblés.



**- A -**

- Abbas A.K., Lichtman A.H., 2009.** "Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique". 3<sup>ème</sup> Edition ELSEVIER MASSON SAS, PP : 3-4.
- Aggarwal B.B., Kumar A., Bharti A.C., 2003.** "Anticancer potential of curcumin". Preclinical and clinical studies. *Anticancer* ; 23:363-98.
- Aggarwal B.B., Bhatt I.D., Ichikawa H., Ahn K.S., Sethi G., Sandur S.K., 2006.** "Curcumin—biological and medicinal properties". *Turmeric: the genus Curcuma*. Taylor and Francis Group; 297–368.
- 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.
- Aggarwal B.B., Sung B., 2009.** "Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: an age-old spice with modern targets". *Trends Pharmacol. Sci.* ; 30(2): 85–94.
- Aggarwal B.B., Kuzhuvilil B.H., 2009.** "Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases". *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* ; 41(1): 40 – 59.
- Allonore Y., Boileau C., 2011.** "Génétique et physiopathologie de la sclérodémie systémique". *Bull. Acad Natle Méd.*; 195(1) : 55-67.
- Ammon H.P.T., Wahl M.A., 1991.** "Pharmacology of *Cucuma longa*". *Planta Medica* ; 57:17.
- Ammon H.P., Safayhi H., Mack T., Sabieraj J., 1993.** "Mechanism of anti-inflammatory actions of curcumine and boswellic acids". *J.Ethnopharmacol.* ; 38(2-3) : 113 – 119.
- Ammon H.P., 2008.** "Salai guggal and boswellic acids: their effects on the arachidonic acid cascade". *Phytomedicine* ; 15(6-7): 541 – 542.
- Anand P., Ajaikumar B. K., Robert A. N., Bharat B. A. 2007.** "Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises". *Mol. Pharmaceutics* ; 4 (6) : 807-818.
- Andrate-Cetto A., Martinez-Zurita E., Wiedenfeld H., 2005.** "Hypoglycemic effect of *Malmea depressa* root on streptozotocin diabetic rats". *J. of Ethnopharm* ; (100)319-322.
- Andrew M. A., Matthew S.M., Ram S.M., 2000.** "Isolation of Curcumin from Turmeric". *J. Chem. Educ.* ; 77(3) : 359.
- Anton R. & Lobstein A., 2005.** "Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles". Tec & Doc., Paris, PP : 522.

**Anand P., Kunnumakkara A. B., Newman R. A., Aggarwal B. B., 2007.** Mol. Pharm., 4 : 807–818.

**Arrieta A., Dietze F., Mann G., Beyer L., Hartung J., 1988.** *J. Prakt. Chem.*, 330 : 111–118.

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

## **- B -**

**Badmaev V., Majeed M.J., 2000.** "Un bioprotecteur issu du curcuma". *Parfums Cosmétiques Actualités* ; 154 : 48-49.

**Béliveau R., Gingras D., 2005.** "Les aliments contre le cancer. La prévention et le traitement du cancer par l'alimentation". Éditions du Trécarré ed. Outremont, Canada.

**Banerjee M., Tripathi L.M., Srivastava V.M., Puri A., Shulka R., 2003.** "Modulation of inflammatory mediators by ibuprofen and curcumin treatment during chronic inflammation in Immunopharmacol. Immunotoxicol.". 25:213-224.

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

**Berger M.M., 2006.** "Oligoéléments : quoi de neuf ? ". *Swiss Med Forum* ; 31 : 720 – 6.

**Beta T., Nam S., Dexter J.E., Sapirstein H.D., 2005.** "Phenolic content and antioxydants Activity of Pearled wheat and Roller-Milled". *Fractions. Cereal chem.* ; 82 (4) : 390-393.

**Bharat B., Aggarwal , Shishir S., 2006.** "Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer". *Biochemical pharmacology* ; 71 : 1397– 1421.

**Bisset N.G.; 1994.** "Max Wichtl's herbal drugs & phytopharmaceuticals". Boca Raton, FL., CRC Press.

**Boizot N., Charpentier J-P., 2006.** "Méthode rapide d'évaluation du contenu en composésphénoliques des organes d'un arbre foustier". *Le cahier des Techniques de l'INRA* ; 79-82.

**Bong P.H., 2000.** "Spectral and photophysical behaviours of curcumin and curcuminoids". *Bulletin of the Korean Chemical Society* ; 21 : 81-86.

**Boullard B., 2001.** "Dictionnaire des plantes médicinales du monde". Paris : Estem, PP : 174

**Bouquet M., 1971.** "Travaux et documents de l'Orstom". Paris.

**Bougandoura N., Bendimerad N., 2013.** "Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp.Nepeta* (L.) Briq. ". *Revue « Nature & Technologie »*. B- Sciences Agronomiques et Biologiques ; (9) : 14 - 19.

**Braga M.E.M., Leal P.F., Carvalho J.E., Meireles M.A.A., 2003.** "Comparison of yield, composition, and antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa* L.) extracts obtained using various techniques". Journal of Agricultural and Food Chemistry ; 51 : 6604-6611.

**Bruneton J., 1993.** "Elément de phytochimie et de pharmacognosie". 2ème édition, Technique et Documentation.

**Bruneton J., 1995.** "Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants". Paris, Lavoisier.

**Bruneton J., 2009.** "Pharmacognosie – Phytochimie, plantes médicinales". 4e éd., revue et augmentée, Tec & Doc– Éditions médicales internationales, Paris, PP : 1288.

**Bip, 2012.** "Intérêt Du Curcuma En Rhumatologie". Belgian Institute Of Phytotherapy.

### - C -

**Camacho-Barquero L., Villegas I., Sanchez-Calvo J.M., Talero E., Sanchez-Fidalgo S., Motivla V., 2007.** "Curcumin, a *Curcuma longa* constituent, acts on MAPK p38 pathway modulating COX-2 and iNOS expression in chronic experimental colitis". Int. Immunol. ; 7(3) : 333 -342.

**Carvalho E.N., Carvalho N.A.S., Ferreira L.M., 2003.** "Experimental model of induction of *diabetes mellitus* in rats". Acta Cir Bras [serial online] ; 18 Special Edition. Available on URL: <http://www.scielo.br/acb>.

**Chan M.M., 1995.** "Inhibition of tumor necrosis factor by curcumin, a phytochemical". Biochem. Pharmacol. ; 49(11) : 1551-1556.

**Chattopadhyay I., Biswas K., Bandyopadhyay U., Banerjee R.K., 2004.** "Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications". Curr.Sci. India; 87(1): 44–53.

**Chatterjee S., Variyar P.S., Gholap A.S., Padwal-Desai S.R., Bongirwar D.R., 2000.** "Effet de l'irradiation sur les constituants d'huile volatile du safran des indes *longa de safran des Indes*". International de recherche alimentaire ; 33 (2) : 103-106.

**Chavalittumrong P., Jirawattanapong W., 1992.** "Variation of active constituents of *Curcuma domestica* rhizomes at different ages". Thai. J. Pharm. Sei. ; 16 : 165-174.

**Chirnomas D., Taniguchi T., De La Vega M., Vaidya A.P., 2006.** "Chemosensitization to cisplatin by inhibitors of the Fanconi anemia/BRCA pathway". Mol Cancer Ther. Apr. ; 5(4) : 952-6.

**Cho M.L., 2006.** "Interleukin-18 induces the production of vascular endothelial growth factor (VEGF) in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts via AP-1-dependent pathways". Immunol Lett. ; 103 : 159-166.

**Chomdao S., 2009.** "Quality of bread with added turmeric (*Curcuma longa*): powder, essential oil and extracted residues". As. J. Food Ag-Ind. ; 2(4) : 690-701.

**Chuengsamarn S., Rattanamongkolgul S., Luechapudiporn R., Phisalaphong C., Jirawatnotai S., 2012.** "Curcumin extract for prevention of Type 2 diabetes". *Diabetes Care* ; 35(11) : 2121-2127.

**Cikrici S., Mozioglu E., Yilmaz H., 2008.** "Biological activity of curcuminoids isolated from *Curcuma longa*". *Rec. Nat. Prod.* ; 2(1) :19 – 24.

**Colot , 1972.** "Notion technique de pharmacologie générale". Paris : Masson.

**Cooray, Terre-Neuve.; Jansz, E.R., Ranatunga J., 1998.**"Effet de de maturité sur quelques constituents chimiques de safran des indes (*longa L. de safran des Indes*) ". *Journal du Conseil national de la Science du Sri Lanka* ; 16 (1) : 39-51.

## **- D -**

**Davis J.M., Murphy E.A., Carmichael M.D., Zielinski M.R., Mayer P., 2007.** "Curcumin effects on inflammation and performance recovery following eccentric exercise-induced muscle damage". *A J. Physiol Integr Comp Physiol.* ; 292 : 2168-2173.

**Delaveau P., 1987.** "Les épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments". Paris : Albin Michel, PP : 130-136

**Dhanabal S.P., Mohan Maruga Raja M.K., Ramanathan M., Suresh B., 2007.** "A Hypoglycemic activity of *Nymphaea stellata* leaves ethanolic extract in alloxan induced diabetic rats". *Fitoterapia* ; 78 : 288–291.

**Diatewa M., Samba C.B., Assah T.C., Abena A.A., 2004.** "Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of diethyl ether fraction isolated from the aqueous extract of the leaves of *Cordia alliodora* Baillon in normal and alloxan-induced diabetic rats". *Journal of Ethnopharmacology* ; 92- 229.

**Dohare P., Garg U., 2008.** "Neuroprotective efficacy and therapeutic window of curcuma oil: in rat embolic stroke model". *BMC Complement Altern Med.* ; 8 : 55.

**Duke J., 2012.** "Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases". *Chemicals in: Curcuma longa L.(Zingiberaceae)*.

**Durville J. P., 1930.** "Chimie des parfums". Ed : Librairie centrale des sciences de forages, Girard & Cie, Paris.

**Duvoix A., Blasius R., Delhalle S., Schnekenburger M., Morceau F., Henry E., Dicato M., Diederich M. 2005.** "Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin". *Cancer Lett.* ; 223(2) : 181-90.

## **- E -**

**Eddouks M., Maghrani M., Lemhadri A., Ouahidi M.L., Jouad H., 2002.** "Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes

mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet) ". J. Ethnopharmacol. ; 82 : 97-103.

**El- Moselhy M.A., 2011.** "The antihyperglycemic effect of curcumin in high fat diet fed rats. Role of TNF- and free fatty acids". Food and Chemical Toxicology ; (49) : 1129-1140.

**European Medicines Agency, 2009.** "Evaluation of Medicines for Human Use". London.

## **- F -**

**FAO, 2004.** "Curcumin Chemical and Technical Assessment (CTA) First draft prepared by Ivan Stankovic , 61st JECFA

## **- G -**

**Gaddipati J.P., Sudar S.V., Calemine J., Sedth P., Sidhu G.S., Mahehwari R.K., 2003.** "Differential regulation of cytokines and transcription factors in liver by curcumin following hemorrhage/resuscitation". Shock. ; 19 : 150-156.

**Garcea G., Berry D.P., Jones D.J., Singh R., Dennison A.R., Farmer P.B., Sharma R.A., Steward W.P., Gescher A.J., 2005.** "Consumption of the putative chemopreventive agent curcumin by cancer patients: assessment of curcumin levels in the colorectum and their pharmacodynamic consequences". Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. ; 14(1) : 120-5.

**Garg S.N., Mengi N., Patra N.K., Charles R., Kumar S., 2002.** "Chemical examination of the leaf essential oil of *Curcuma longa* L. from the north Indian plains". Flavour and Fragrance Journal ; 17: 103-104.

**Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A., 2010.** "Phenolic-compound-extraction systems for fruit and Vegetable samples". Molecules (15) : 8813-8826

**Gherib A., 1998.** Travaux pratique de chimie thérapeutique.

**Goel A., Kunnumakkara A.B., Aggarwal B. B., 2008.** "Curcumin as "Curecumin": From kitchen to clinic". Biochemical Pharmacology ; 75(4) : 787-809.

**Guignard. J.L, 2000.** "Biochimie végétale". 2ème édition, Paris, Masson. PP : 281.

**Guldner S., 1986.** "Les Zingiberacées, une famille à épices". 2000 Biochimie végétal 2ème édition Dunod, PP : 188 .

## **- H -**

**Haborne J.B. , 1980.** "Plant phenolics in Encyclopedia of plant physiology". vol 8.

**Macheix J.J., Fleriet A., Christian A. , 2005.** PPTUR Lausanne.

- Halvorsen B.L., Carlsen M.H., Phillips K.M, Bøhn S.K., Holte K., Jacobs J., Blomhoff R., 2006.** "Content of redox-active compounds (ie, antioxidants) in foods consumed in the United States ". *Am J Clin Nutr.* ; 84(1) : 95-135.
- Hatcher H., Planalp R., Cho J., Torti F. M., Torti S. V., 2008.** *Cell. Mol. Life. Sci.* ; 65 : 1631–52.
- Herbert R.B., 1989.** "The Biosynthesis of secondary metabolites". 2<sup>ème</sup> edition Chapman and Halle p 2, 11-115.
- Hoffmann G., 1963.** "Les animaux de laboratoire (Précis) ". *Vigot Frères.Editeurs.*
- Hongyu Zhou, Christopher S., 2011.** "Beevers and Shile Huang, *Curr Drug Targets*". *March* 1; 12(3) : 332–347.
- Hongyu Z., Christopher S. B., Shile H., 2011.** "Targets of curcumin". *Curr Drug Targets* ; 12(3) : 332–347.
- Hombourger C.,2010.** *Le Curcuma de l'épice au médicament, thèse doctorat.*
- Hua-Bin L., Ka-Wing C., Chi-Chun W., King-Wai F., Feng C., Yue J., 2007.** "Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae". *Food Chemistry* ; 102 : 771–776.

**- I -**

- Ishita C., Kaushik B., Uday B., Banerjee R.K., 2004.** "Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications". *current science* ; 87(1) : 10.

**- J -**

- Jacob A., Wu R., Zhou M., Wang P. 2009.** "Mechanism of the anti-inflammatory effect of curcumin: PPAR -gamma activation". *PPAR Res.* ; 89369: 5. [ref. on line: PMCID: 2234255] consulté le 22.11.
- Jain S., Shrivastava S., Nayak S., Sumbhate S., 2007.** "Recent trends in *Curcuma longa* Linn". *Plant review. Pharmacogn. Rev.* ; 1(1) : 119 – 128.
- Jansen P.C.M., Grubben G.J.H., Cardon D., 2005.** "Ressources végétales de l'Afrique tropicale 3. Colorants et tanins". Wageningen , Pays-Bas : PROTA, PP : 238.
- Jansen P. C. M., 2005.** "*Curcuma longa* L. PROTA". Retrieved February 25, 2012 [http://database.prota.org/PROTAhtml/Curcuma%20longa\\_En.htm](http://database.prota.org/PROTAhtml/Curcuma%20longa_En.htm).
- Jurenka J. S., 2009.** "Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research". *Altern. Med. Rev.* ; 14(2) : 141–153

**Jayaprakasha G.K., Jena B.S., Negi P.S., Sakariah K.K., 2002.** "Evaluation of antioxidant activities and antimutagenicity of turmeric oil: a byproduct from curcumin production". Verlag der Zeitschrift für Naturforschung. ; 57: 828-835.

**Jayaprakasha G.K., Jagan Mohan Rao L., Sakariah K.K., 2005.** "Chemistry and biological activities of *C. longa*". Trends Food Sci. Tech. ; 16(12) : 533 – 548.

**Jayaprakasha, G.K.; Rao, L.J.M.; Sakariah, K.K., 2006.** "Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin". Food Chemistry. ; 98 : 720-724.

### **- K -**

**Kamble K.J., Soni S.B., 2008.** "A study of improving turmeric processing". Karnataka J.Agric. Sci., PP : 137-139.

**Kalpana C., Menon V.P., 2004.** "Modulatory effects of curcumin on lipid peroxidation and antioxidant status during nicotine-induced toxicity". Pol. J. Pharmacol.,; 56(5): 581 – 586.

**Katsuyama Y., Matsuzawa M., Funa N., Horinouchi S., 2007.** J. Biol.Chem. ; 282 : 37702–37709.

**Kawamori T., Lubet R., Steele V.E., 1999.** "Chemopreventative effect of curcumin, a naturally occurring anti-inflammatory agent, during the promotion/progression stages of colon cancer". Cancer Res. ; 59 : 597-601.

**Kelkar N.C., Rao B.S., 1933.** "Studies in Indian essential oils: essential oils from *C. longa*". Journal of Indian Institute of Science ; 17 : 7–15.

**Kholi K., Ali J., Ansari M.J., Raheman Z., 2005.** "Curcumin: A natural anti-inflammatory agent". Indian J. Pharmacol. ; 37(3) : 141 – 147.

**Knaggs A.R., 2003.** "The biosynthesis of shikimate metabolites". Natural Product Reports ; 20 : 119–36.

**Koide T., Nose M., Ogihara Y., Yabu Y., Ohta N., 2002.** "Leishmanicidal effect of curcumin *in vitro*". Biological and Pharmaceutical Bulletin ; 25 : 131–133.

**Krishnamurthy N., Mathew A.G., Nambudiri E.S., Shivasankar S., Lewis Y.S., Natarajan C.P., 1976.** "Oil and oleoresin of turmeric". Tropical Science ; 18(1) : 37–45.

**Kulkarni S.J., K.N. Maske, M.P.Budre et R.P.Mahajan.** " Extraction and purification of curcuminoids from Turmeric (*curcuma longa L.*) "International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Technology (IJPT), ISSN: 2277 – 3436, Volume-1, Issue- 2, 2012

### **- L -**

**Laurent, 2003.** " Huile de safran des indes de B.M. En *huiles essentielles* 1995-2000". Jet de Carol : Société d'édition attirée ; PP : 375-3 80.

**Levy L., 1969.** "Carragenan paw edema in the mouse". *Life Sci.* ; 8 : 601 -606.

**Li C.J., Zhang L.J., Dezube B.J., Crumpacker C.S., 1993.** "Three inhibitors of human type 1 immunodeficiency virus long terminal repeat directed gene expression and virus replication". *Proceedings of the National Academy of Science (USA)* ; 90 : 1839–1842.

**Loap S., 2008.** "Phytothérapie". 6 : 22–28.

## - M -

**Mabry T.J., Markham K.R., Thomas M.B., 1970.** "The systematic identification of flavonoids". Springer-Verlag, New York.

**Macheix J.J., Fleriet A., Christian A., 2005.** "Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de metabolites secondaire d'importance économique". PPTUR Lausanne.

**Maheshwari R.K., Singh A.K., Gaddipati J., Srimal R.C., 2006.** "Multiple biological activities of curcumin: A short review". *Life Sciences* ; 78 : 2081-2087.

**Mansouri A., Ennbarek G., Kokkalou E., Kefalas P., 2005.** "Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit *Phoenix dactylifera* ". *Food Chem.* ; 89 : 411–420

**Manzan A.C.C.M., Toniolo F.S., Bredow E., Povh N.P., 2003.** "Extraction of essential oil and pigments from *Curcuma longa* (L.) by steam distillation and extraction with volatile solvents". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* ; 51 : 6802–6807.

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

**Mara E.M., 2007,** "Accelerated solvent extraction and fractioned Extraction to obtain the *curcuma longa* volatile Oil and oleoresin". *Journal of Food Process Engineering* ; 30 : 501–52.

**Maizura M., Aminah A., Aida blême W.M., 2011.** "Total phenolic content and antioxidant activity of kesum (*Polygon um minus*), ginger (*Zin giber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) extract". *International de journal de recherche alimentaire*.

**Mathy-Hartert M., Jacquemeond-Collet I., Priem F., Sanchezc., Lambert C., Henrotin Y., 2009.** "Curcumin inhibits proinflammatory mediators and metalloproteinase-3 production by chondrocytes". *Inflamm. Res.* ; 58 : 899 – 908.

**Mehdioui et Kahouadji, 2007.** " Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d'Amsittène : cas de la Commune d'Imi n'Tlit " Province d'Essaouira, Université Mohammed V–Agdal ; P12-17.

**Middleton J.R., Chithan K., 1993 .** "The impact of plant flavonoids on mammalian biology implications for immunity, inflammation and cancer ". In: Harborne J.B., editor. The Flavonoids: advances in research since 1986. London, UK:Chapman and Hall.

**Mishra P., 2009.** "Isolation, spectroscopic characterization and molecular modeling studies of mixture of curcuma longa, ginger and seeds of fenugreek". International Journal of PharmTech Research ; 1(1) : 79-95.

**Menon V.P., Sudheer A.R., 2007.** "Antioxidant and anti-inflammatory properties of Curcumin". Adv. Exp. Med. Biol. ; 595 : 105 – 125.

**Motterlini R., Foresti R., Bassi R., Green C.J., 2000.** "Curcumin, an antioxidant and anti-inflammatory agent, induces heme oxygenase-1 and protects endothelial cells against oxidative stress". Free Radical Bio. Med. ; 28(8) : 1303 – 1312.

**Moyse R.R., H., 1976.** "Précis de matière médicale : pharmagognosie générale, pharmacognosie spécial : schizophytes (bactéries), Actinmoycétales, thallophytes, ptéridophyte, spermatophytes". Ed : Masson. Paris

### - N -

**Nacz M., Shahidi F., 2004.** "Extraction and analysis of phenolics in food". J. chromatogr ; 1054 : 95-111.

**Nahak G., Sahu R.K., 2011.** "Evaluation in comparative antioxidant activity of *Curcuma longa* & *Curcuma aromatic*". Natural Product: An Indian Jornal ; 7(2) : 57-60.

### - O -

**Osawa T., 1995.** "Antioxidative activity of the tetrahydrocurcuminoids". Biosci. Biotechnol. Biochem. ; 59(9) : 1609-1612

### - P -

**Penso G., 1986.** "Les plantes médicinales dans l'art et l'histoire". Paris : Roger Da Costa ed.

**Perry M.C., 2008.** "Evaluation de la curcumine comme agent anti-cancéreux dans le traitement des tumeurs cérébrales". Mémoire : Chimie : Montréal.

**Peter K.V., 1999.** "Informatics on turmeric and ginger". Indian Spices ; 36(2&3) : 12–14.

**Pharmacopée européenne, 2008.** "Direction de la qualité du médicament du conseil d'Europe (DEQM) ". Sixième édition. Tome 1 Série des traités européens n°50, Strasbourg France.

**Punithavathi D., Venkatesan N., Babu M., 2000.** "Curcumin inhibition of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats". Br. J. Pharmacol. ; 131 : 169-172.

**- R -**

- 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).
- Rasmussen H.B., Christensen S.B., Kisat K., 2000.** "A simple fancied t ef separation of the curcumins, the antiprotozoal constituents of *Curcuma longa*". *Planta Med* ; 66 : 396-398.
- Ravi K., Rajasekaran S., Subramanian S., 2005.** "Antihyperlipidemic effect of Eugenia jambolana seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats". *Food and Chemical Toxicology* ; 43 : 1433 – 1439.
- Ravindran P.N., Nirmal Babu K., Sivaraman K., 2007.** "Medicinal and Aromatic Plants– Industrial Profiles: Turmeric: The Genus Curcuma". *CRC Press, Washintogton*, PP: 484.
- Reddy A.C.P., Lokesh B.R., 1992.** "Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes". *Mol. Cell. Biochem.* ; 111 : 117-124.
- Rivera-Espinoza Y., Muriel P., 2009.** *Liver Int.* ; 29 : 1457–1466.
- Roughley P. J., Whiting D. A., 1973.** *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*(20) : 2379–2388
- Ruckebush Y., 1981.** "Physiologie. Pharmacologie". *Thérapeutique animale*. Maloine S.A. Paris.
- Rupe H., Clar G., Pfau A., Plattner P., 1934.** "Volatile plant constituents. II. Turmerone, the aromatic principle of turmeric oils (in German) ". *Helvetica Chimica Acta* 17 ; 372.

**- S -**

- Sadasivam S., Manickam A., 2007.** "Biochemical Methods 3". ed new age ; PP : 248.
- Samate Abdoul D., 2001.** "Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : Valorisation". Thèse de doctorat, Univ. de Ouagadougou, Burkina Faso.
- Santosh K., Sandur D., Amit Deorukhkar, D., Y Manoj K. Pandey, Ph.D., \*Ana Mari´A Pabo´ N, B.S., Y Shujun Shentu, M.S., Y Sushovan Guha, M.D., Ph.D., Z Bharat B. Aggarwal, Ph.D., \* And Sunil Krishnan, M.D., 2009.** "Curcumin modulates the radiosensitivity of colorectal cancer cells by suppressing constitutive and inducible nf-kb activity". *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* ; 75(2) : 534–542.
- Sarni-manchado et Cheynier,** "Les polyphénols en agroalimentaire, édition TEC & DOC" . Lavoisier-Paris.

- Sasikumar B., 2001.** "Turmeric. In *Handbook of Herbs and Spices I*". Peter, K.V., Eds.; Cambridge: Woodhead Publishing Limited ; PP : 297-310.
- Sasikumar B., 2004.** "Turmeric. Handbook of herbs and spices". Indian Institute of Spices Research .Kerala.
- Seigler S.D., 1998.** "Plant secondary metabolism".
- Sharma R.A., A.J.G., Steward W.P.. 2005.** "Curcumin: The story so far". European Journal of Cancer (41).
- Sharma R.A., Steward P., Gescher A.J., 2007.** "Pharmacokinetics and pharmacodynamics of Curcumin". Adv. Exp. Med. Biol. ; 595: 453 – 470.
- Sharma S.B., Balomajumder C., Roy P., 2008.** "Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic rats". Food and Chemical Toxicology ; 46 : 2376 – 2383.
- Shen L., Ji H.F., 2007.** "Theoretical study on physicochemical properties of curcumin". Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc ; 67 : 619–23.
- Shiyou L., Wei Y., Guangrui D., Ping W., Peiyong Y., Bharat B. A., 2011.** "Chemical Composition and Product Quality Control of Turmeric *Curcuma longa* L. ". Pharmaceutical Crops ; 2 : 28-54.
- Shoba G., Joy D., Joseph T., Majeed M., Rajendran R., Srinivas P. S., 1998.** *Planta Med.* ; 64 : 353–6.
- Singh G.I.P.S., Kapoor , Pratibha S., Carola S., de Heluani, Marina P. de Lampasona, Cesar A.N. Catalan. 2010.** "Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of fresh and dry rhizomes of turmeric *Curcuma longa* L. ". Food and Chemical Toxicology ; 48 : 1026–1031.
- Snu-Yao T., Shih-Jeng H., Charng-Cherng C., Ching-Hsuan T., Chu-Chun W., Jeng-Leun M., 2011.** "Composition and Antioxidant Properties of Essential Oils from *Curcuma* rhizome". Asian Journal of Arts and Sciences ; 2(1) : 57-66.
- Somparn P., Phisalaphong C., Nakornchai S., Unchern S., Morales N.P. 2007.** "Comparative antioxidant activities of curcumin and its demethoxy and hydrogenated derivatives". Biol. Pharm. Bull. ; 30(1) : 74 – 78.
- Sreejayan N., Rao M.N., 1994.** "Curcuminoids as potent inhibitors of lipid peroxidation". J. Pharm. Pharmacol. ; 46 : 1013.
- Srivastava R., Dikshit M., Srimal R.C., Dhawan B.N., 1985.** "Anti-thrombotic effect of curcumin". Thromb Res. ; 40 : 413-417.
- Srivastava K.C., Bordia A., Verma S.K., 1995.** "Curcumin, a major component of food spice turmeric (*Curcuma longa*) inhibits aggregation and alters eicosanoid metabolism in human blood platelets". Prostaglandins Leukot Essent FattyAcids ; 52 : 223-227.

**Standard of ASEAN herbal medicine, 1993.** Vol. 1. Jakarta, ASEAN Countries.

**- T -**

**Thaikert R., Paisooksantivatana T., 2009.** "Variation of total curcuminoids content, antioxidant activity and genetic diversity in turmeric *Curcuma longa L.* collections". Kasetsart J. (Nat. Sci.) ; 43 : 507 – 518.

**Tilak J.C., Banerjee M., Mohan H., Devasagayam T.P., 2004.** "Antioxidant availability of turmeric in relation to its medicinal and culinary uses". Phytother Res. ;18(10):798-804.

**Tsai S.H., 2011.** Asian Journal of Arts and Sciences ; 2(1) : 57-66.

**Twidwell E.K., Wagner J.J., Thiex Nancy J., 2002.** "Use a Microwave Oven to Determine Moisture Content of Forages". 77-88.

**- V -**

**Vansant G., 2004.** "Radicaux libres et antioxydants : principes de base". Symposium «Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.

**Vaquier A.R.L., 2010.** Thèse de doctorat de l'Université Paris-Est Créteil.

**Vareed S.K., Kakaralal M., Ruffin M.T., Crowell J.A., Normolle D.P., Djuric Z., 2008.** "Pharmacokinetics of Curcumin conjugate metabolites in healthy human subjects". Cancer Epidem. Biomar ; 17(6) : 1411-1417.

**Vijaykumar P., Raal Bhaskara B.P., Shetty Arulmozhi S., Sridhar Y., Purnima A. 2006.** "Antihyperglycemic and antioxidant activity of *Brassica Oleracea* in streptozotocin

**- W -**

**Wallace J.M., 2002.** "Nutritional and botanical modulation of the inflammatory cascade - eicosanoids, cyclooxygenases and lipoxygenases - as an adjunct in cancer therapy". Integr Cancer Ther. ; 1 : 7-37.

**WHO monographs on selected medicinal plants , 1999.** vol 1.

**Wolfgang H., 2008 .** "350 plantes médicinales". Delachaux et Niestlé. Paris-France, PP :187-245.

**- Y -**

**Yang F., Lim G. P., Begum A.N., Ubeda O.J., Simmons M.R., Ambegaokar S.S., Chen P., Kaye R., Glabe C.G., Frautschy S. A., Cole G. M., 2005.** J. Biol. Chem. ; 280 : 5892–5901.

**- Z -**

**Ziyyat A., Legssyer A., Mekhfi H., Dassouli A., Serhrouchni M., Benjelloun W., 1997.**  
"Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco". *J. Ethnopharmacol.*;  
58: 45-54.

# Annexe

## Annexe 1

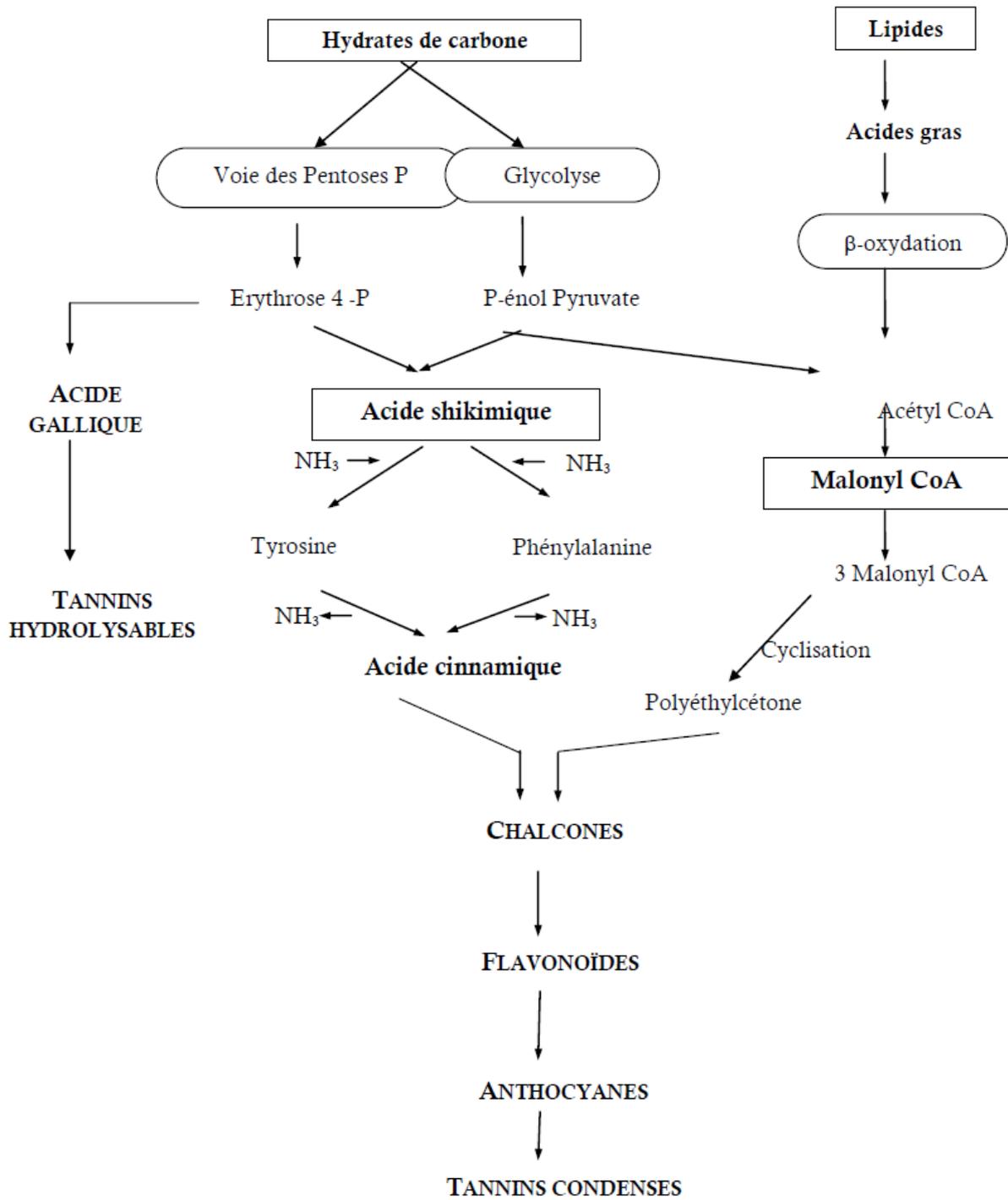
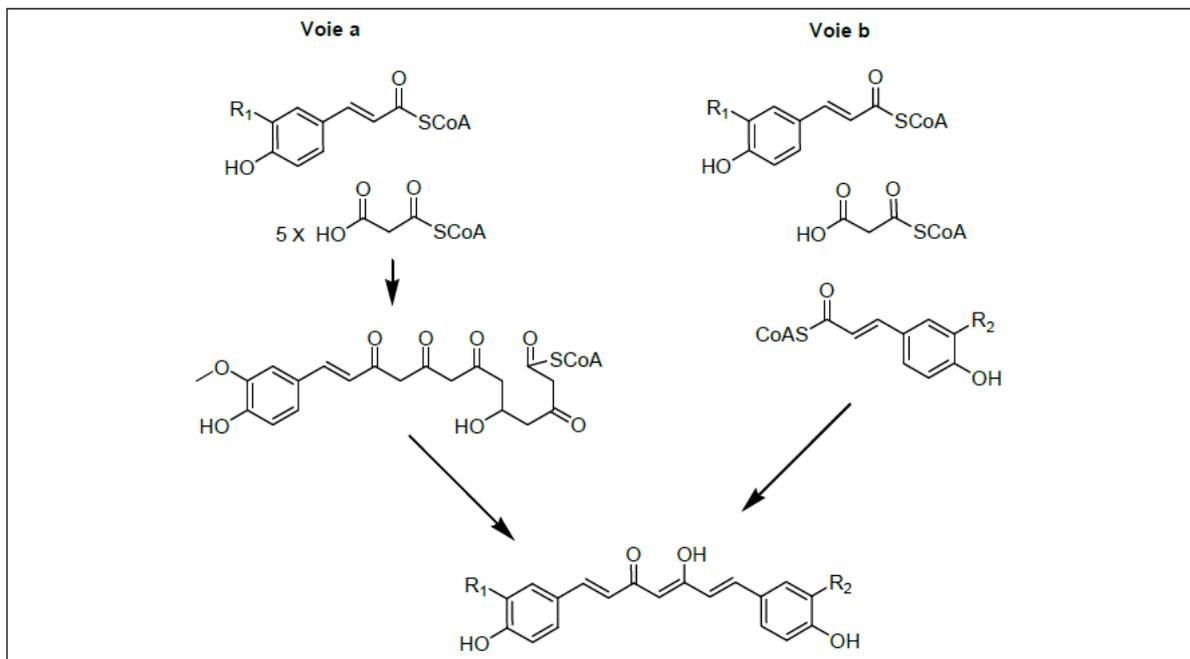


Figure 54 : Voies de biosynthèse des polyphénols (Macheix et al., 1990)

# Annexe

## Annexe 2



Figures 54 : Voies de biosynthèse proposées des curcuminoïdes (Roughley *et al.*, 1973)

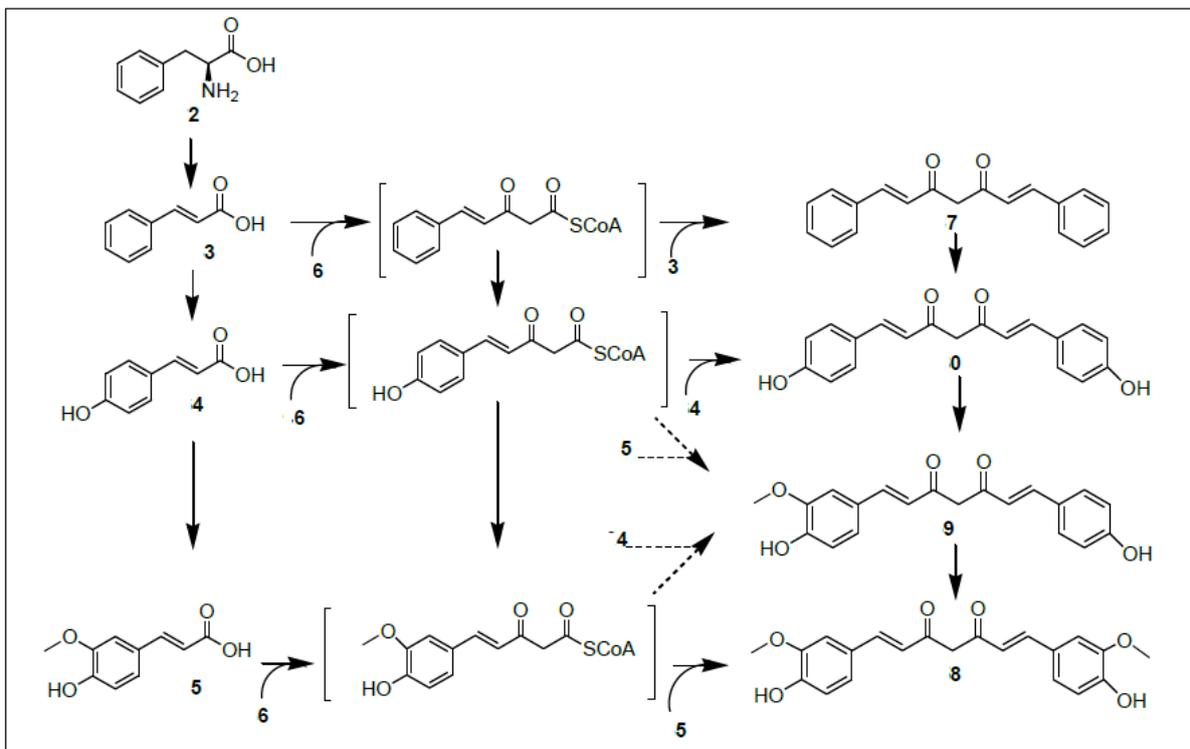


Figure 55: Les voies de biosynthèse de curcuminoïdes dans le curcuma, les voies principales (flèches épaisses) et secondaires (flèches minces et en pointillés). *L*-phénylalanine (2), acide cinnamique (3), acide *p*-coumarique (4), acide férulique (5), acide malonique (6), intermédiaire hypothétique : bis-deshydroxy-bis-déméthoxycurcumine (7), bis-déméthoxycurcumine (0), déméthoxycurcumine (9), curcumine (8). (katsuyama *et al.*, 2007)

# Annexe

---

## Annexe 3

### Verreries et autres matériels

- ✓ Boit de pétrie.
- ✓ Bécher gradué.
- ✓ Eprouvettes graduées
- ✓ Entonnoirs.
- ✓ Erlenmeyers.
- ✓ Papier filtre.
- ✓ Fiole conique stérile.
- ✓ Moulin électrique.
- ✓ Pipetes gradués à 5ml et à 10ml stériles.
- ✓ Pipettes pasteur stériles.
- ✓ Spatules métalliques.
- ✓ Tige de métal.

### Appareillage:

- ✓ Balance pour animaux de laboratoire.
- ✓ Cages en makrolon avec grilles en inox et des biberons spéciaux pour les souris.
- ✓ Cages de stabilisation des rats.
- ✓ Cages de stabilisation des souris.
- ✓ Balance de précision.
- ✓ Broyeur électrique.
- ✓ Plaque chauffante.
- ✓ Etuve et autoclave pour stérilisation.
- ✓ Incubateurs à 25 C et 35 C.
- ✓ Agitateur.
- ✓ Centrifugeuse.
- ✓ Pompe à filtration.
- ✓ Papier filtre.
- ✓ spectrophotomètre de type
- ✓ GC-SM de type
- ✓ Rotavapeur de type
- ✓ Glucomètre de type Contour Ts

### Produits :

- ✓ carragennine 1%
- ✓ Alloxan monohydraté
- ✓ Acide gallique
- ✓ Folin-ciocalteu

### Matériels pour le contrôle physicochimique

- Dosage par acide folin-ciocalteu
- ✓ Agitateur magnétique.
- ✓ Balance analytique.

### Réactifs et solutions

- ✓ Eau distillée
- ✓ Méthanol
- ✓ Iode (I<sub>2</sub>).
- ✓ Ethanol absolu
- ✓ Acide sulfurique concentré (96%) (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).
- ✓ Acide phosphomolybdique.
- ✓ Alcool éthylique.

## Annexe

---

- ✓ la solution alcoolique de KOH à 10%.
- ✓ HCL à 10 %. HCL.
- ✓ Acide chlorhydrique 2N.
- ✓ Ether /chloroforme (3/1).
- ✓ Acide chlorhydrique 1N.
- ✓ solution de FeCl<sub>3</sub> à 5%.
- ✓ Acétate de sodium.
- ✓ morceau de Mg.
- ✓ alcool isoamylique.
- ✓ Acétate d'éthyle
- ✓ Ether di éthylique

### Condition opératoires de la GC-SM :

**Type d'instrument :** Agilent technologies 6800 plus (Varian)

**Mode d'ionisation :** Impact électronique (IE), 70 eV (mode positif)

**Gamme de masse :**  $m/z$  Scan de 30 à 550 en 0.5 sec.

**Colonne :** FactorFour VF-5ms (5% phenyl-methyl 95% dimethyl polysiloxane, 0.25mm x 30 m)

**Débit :** 1 mL/min

**Gradient :** 150°C pendant 3 min; Montée à 250°C en 20 min; Montée à 250°C en 7 min

**Echantillons :** Huile essentielle de curcuma dans l'éther. Injection de 0.2µl

### Préparation des réactifs :

Carragennine : 1g de carragennine (poudre) sons dissouts dans 100 ml d'eau distillée.

Alloxane : 150 mg(*alloxane*) → 1000g (*poid des rats*)

$x \leftarrow 184,25g$ (*poid moyenne des rats*)

X= quantité d'alloxane nécessaire pour chaque rat = 27 ,64mg

# Annexe

## Annexe 4

Questionnaire de l'Enquête Ethno- pharmacologique sur une épice médicinale : Le curcuma obtenu à partir des rhizomes séchés et brouillés de la plante tropicale « *curcuma longa L.* »

### Objectif :

#### 1. Renseignements sur l'interrogé:

- ❖ Age: 20-40ans  40-60ans  +60ans   
❖ Sexe: Homme  Femme   
❖ Niveau intellectuel : Analphabète  EP  ES   
Universitaire

#### 2. Connaissez-vous la phytothérapie ?

Oui  Non

#### 3. Quelle est la médecine que vous préférez ?

Moderne  Traditionnelle  Les deux en parallèle

#### 4. Connaissez-vous la plante curcuma longa ?

Oui  Non

#### 5. Si oui Quelles sont ses parties utilisées ?.....

#### 6. Connaissez-vous la Provenance de plante ?

Oui  non

#### 7. Si oui d'où elle provient ?

.....

#### 8. Connaissez-vous le curcuma (l'épice)?

Oui  Non

#### 9. Quel est son nom local ? .....

#### 10. Comment vous la connaissez?

Utiliser par vous-même

Entendu parler

#### 11. Dans quel cas vous utilisez le curcuma ?

## Annexe

---

Cuisine     thérapie     colorant     autre

12 .Es que vous utilisé le curcuma de façon :

Continue     périodique

13. Combien de fois vous utilisez le curcuma pendant une semaine ?

.....

14 .Connaissez-vous les vertus médicinales du curcuma ?

Oui     non

15 .Si oui que connaissez-vous parmi ces propriétés thérapeutiques du curcuma ?

Antioxydant

Anti-inflammatoire

Antidiabétique

hypoglycémiant

Hépatoprotecteur

Antimicrobien

Antimutagène

16 .Dans quelles maladies vous préconisez le curcuma ? .....

17 .Comment utilisez-vous le curcuma ?

Infusion     Macération     Décoction     Poudre     Sirop     Autres

18. Est- ce que le résultat est positif ?

Oui     Non

19 .Es que vous connaissez le principe actif du curcuma ?

Oui     non

## Annexe

### Annexe 5

**Tableau XXII : L'analyse statistique de l'activité anti inflammatoire**

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
TRT\$	0.020	4	0.005	15.306	0.000
PATT\$	0.014	1	0.014	43.599	0.000
Error	0.018	54	0.000		

**Tableau XXI II : L'analyse statistique de l'activité anti diabétique**

Analysis of Variance					
Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
<b>TPS\$</b>	<b>18.907</b>	<b>3</b>	<b>6.302</b>	<b>56.502</b>	<b>0.000</b>
<b>TRT\$</b>	<b>5.559</b>	<b>4</b>	<b>1.390</b>	<b>12.460</b>	<b>0.000</b>
<b>Error</b>	<b>10.262</b>	<b>92</b>	<b>0.112</b>		

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
TPS\$	18.907	3	6.302	169.484	0.000
TRT\$	5.559	4	1.390	37.375	0.000
TPS\$*TRT\$	7.287	12	0.607	16.330	0.000
Error	2.975	80	0.037		

# Annexe

## Annexe 6

**Tableau 24** : profile chromatographique de l'HE du curcuma

Identification	RT	%
N-Heptane	3.22	1.41
Pyrrole	4.04	0.02
Toluene	4.19	0.06
1. Alpha-Pinène	10.08	0.09
2. Beta.-Myrcene	13.63	0.05
3. L-Phellandrene	14.60	1.80
4. Delta.3-Carène	14.85	0.05
5. Alpha.-Terpinène	15.27	0.03
6. P-Cymène	15.91	0.71
7. Beta-Phellandrene	16.14	0.21
8. Eucalyptol	16.32	0.52
Gamma.-Terpinène	18.22	0.06
Alpha.-Terpinolene	20.31	0.12
Alpha,P-Dimethylstyrene	20.41	0.03
Gaïacol	20.61	0.12
L-Linalool	21.39	0.02
Terpinene-4-Ol	26.75	0.04
Ethanone, 1-(3-Methylphenyl)	27.26	0.04
P-Cymen-8-Ol	27.54	0.07
Alpha-Terpineol	27.83	0.09
Sabinol	28.63	0.21
Benzaldehyde, 4-(1-Methylethyl)	31.12	0.12
2-Cyclohexen-1-One, 2-Methyl-5-(1-Methylethenyl)-, (S)	31.47	0.26
Carvotanacetone	31.67	0.04
Benzeneethanol, 2-Methoxy- (CAS)	33.95	0.04
TRANS-ANETHOLE	34.30	0.06
P -Cymen-3-Ol	35.97	0.16
4-Vinyl-2-Methoxy-Phenol	36.42	0.40
1-Isopropenyl Bicyclo[3.1.0.0(2,6)]Hexane	40.04	0.13
1-Acetamidobenzocyclobutene	40.61	0.28
Alpha-Curcumène	41.80	0.04
Cyclohexene, 1-(1-Propynyl)- (CAS)	42.10	0.15
Trans-Caryophyllene	42.94	0.65
Damascenone C	44.55	0.32
Alpha.-Humulene	44.99	0.11
Trans-.Beta.-Farnesene	45.38	0.26
Gamma.-Curcumene	46.71	0.11
Ar-Curcumène	47.20	2.66
Zingiberene	47.99	2.58

## Annexe

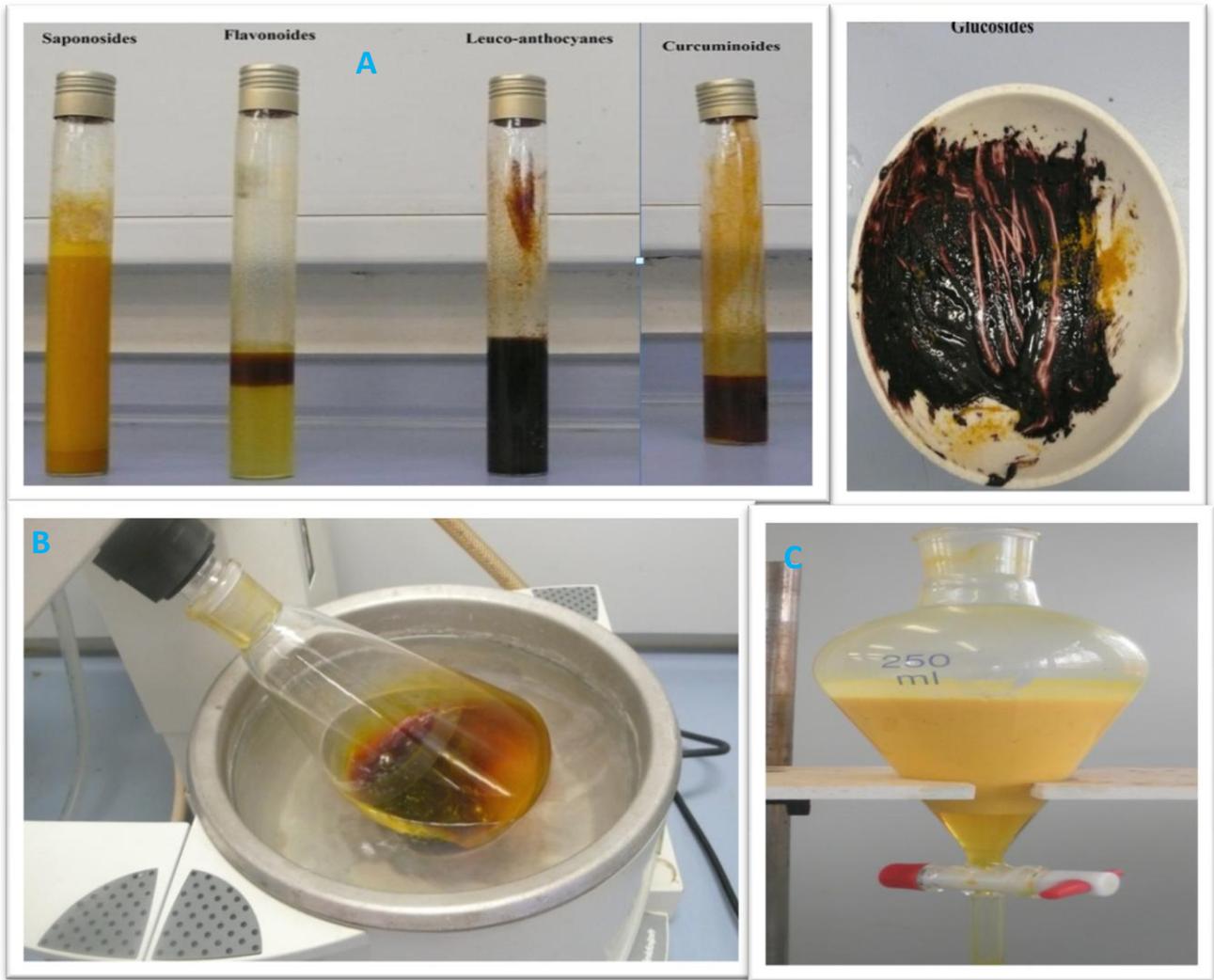
Beta-Bisabolen	48.63	0.77
Alpha.-Cedrene	48.77	0.24
Beta.-Sesquiphellandrene	49.74	3.12
Mentha-1,4,8-Triene	49.85	0.28
Trans-.Gamma.-Bisabolene	50.00	0.13
2,3,5-Trimethylfuran	50.13	0.09
Alpha.-Muurolene	50.69	0.07
3-Oxabicyclo[6.3.1]dodec-8-en-2-on	51.04	0.13
beta.-Bisabolene	51.27	0.23
2-Cyclohexen-1-one, 3,4,4-trimethyl	51.57	0.25
Caryophyllene oxide	51.91	0.37
2-Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, trans	52.34	0.07
Benzene, 1-ethyl-2-methyl- (CAS)	52.65	0.48
Benzene, 1-ethyl-3,5-dimethyl	52.84	0.56
1-Phenyl-2-(P-Tolyl)-Propane	52.99	1.00
alpha.-Longipinene	53.52	0.97
alpha.-Curcumene	54.49	2.57
Santene	54.64	0.69
beta.-Farnesene	54.92	1.00
trans-Chrysanthenyl Acetate	55.84	0.55
ALPHA.-TUMERONE	56.17	1.65
Bicyclo[3.2.2]nona-6,8-dien-3-one, 1,5-dimethyl	56.63	0.71
AR-TUMERONE	59.10	21.46
BETA. TUMERONE	59.28	4.70
BETA. TUMERONE	59.77	13.40
Di-epi-.alpha.-cedrene-(I)	59.92	0.08
Isocitronellool	60.06	0.50
ALPHA.-TUMERONE	61.32	19.23
Spiro[bicyclo[3.3.0]octan-6-one-3- cyclopropane]	61.45	0.58
Xanthorrhizol	61.56	0.43
Benzylidene-(1,1-Dideuteriobutyl)Amine	61.92	0.05
Benzene, 1-(3-Cyclopentylpropyl)-2	62.11	0.12
(6s,1'r)-6-(1',5'-Dimethylhex-4'-Enyl)-3-Methylcyclohex-2-Enone	62.18	0.10
m-Hydroxybenzaldoxime	62.65	1.37
2-Decene, 2,4-dimethyl	63.13	1.15
3-[2',4'-Dimethylphenyl]-2-methylpropan-1-ol	63.93	1.85
alpha.-Atlantone	64.19	2.52
Hexamethylene dibromide	64.82	0.34
Methyl 2-pentenoate	65.75	1.00
Pyridine, 4-ethyl-2,6-dimethyl	69.20	0.09
2-Pyrazoline, 1-allyl	69.96	0.04
Methyl palmitate	70.98	0.06
9,12-Octadecadienoic acid, methylester	78.70	0.06
Methyl oleate	78.99	0.04

**Annexe 7**



**Figure 56** : Matériel de laboratoire utilisé. A : GC-MS, B : Spectrophotomètre uv-visible, C : Etuve, D : révélateur uv, E : Bain marie, F : Microbalance.

## Annexe



**Figure 57** : A : Composés chimiques identifiés, B : Concentration par rotavapeur, C : Décantation de l'extrait chloroformique



**Figure 58** : A : concentration de l'extrait méthanolique préparés pour le test DPPH, B : Glucomètre contour TS

## Annexe

---



**Figure 59 :** Gavage des extraits aux souris



**Figure 60 :** Système de filtration par un disque contenant un papier Watman