

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane Mira

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico–Chimique

Mémoire de Master

Filière : Biologie

Option : Pharmacologie Moléculaire

Thème

Activités Antioxydant et
Antimicrobienne des extraits de
Curcuma longa

Présenté par :

M^{elle} BOUZERA Yasmine

M^{elle} HAMOUCHE Amira

Membres du jury :

Présidente : M^{me} Abderrahim S.

Promotrice : M^{me} Bedjou F.

Examinatrice : M^{me} Bougoffa K.

Examinatrice : M^{me} Touati N.

Grade et Lieu :

(MAA) UAMB

(MCA) UAMB

(MAA) UAMB

(MAA) UAMB

Année : 2012-2013

Remerciements

Nous remercions tout particulièrement notre promotrice D^r BEDJOU. F pour l'honneur qu'elle nous a fait en nous encadrant, pour l'aide précieuse qu'elle nous a apportée, pour ses remarques et ses conseils avisés, qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nous remercions également M^{elle} ADRAËS pour nous avoir guidées de la meilleure façon qui soit, nous avons beaucoup appris avec elle.

Merci à M^{me} OUKIL qui nous a accueillies au sein de son laboratoire.

Nous remercions également M^{me} BOUGOFFA. K et M^{me} TOUATI. N qui nous ont fait honneur de juger ce travail.

Un grand merci à M^{elle} BOUREBABA.L pour son aide précieuse, son soutien, et son dévouement.

Merci à M^r BRIBI et M^r BOUGUEZZA. Y pour leurs conseils et leur aide si précieuse.

A toutes personnes ayant participé de près ou de loin à notre formation et à tous ceux qui nous ont apportées leur soutien et leurs encouragements durant la réalisation de ce travail.

Amira. H & Yasmine.B

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chers parents qui ont toujours été présents pour me soutenir, veiller à mon éducation et m'encourager à bien travailler dans tous ce que j'entreprends et plus particulièrement dans mes études. Je leur suis très reconnaissante .leur fierté à mon égard aujourd'hui est pour moi la meilleure des récompenses.

Mes dédicaces s'adressent aussi à mon adorable petite sœur ainsi qu'à mon unique et cher frère.

A tous ceux qui me sont chers et à tous mes amis.

AMIRAH

Dédicaces

Avec ma gratitude et tout mon amour, Je dédie ce modeste travail à ma maman.

Mamounette, un grand merci pour le soutien, l'amour et l'attention que tu me portes, toujours là pour moi à me rassurer et m'épauler. Cette réussite je te la dois car je trouve en toi l'encouragement, le réconfort et la sécurité que nulle autre personne ne peut m'apporter.

Tu représentes pour moi un modèle et une vraie leçon de vie, j'espère un jour avoir ta force, ton courage et ta foi.

Un grand merci à mes quatre sœurs « Shehrazed, Sonia, Amel et Amanda » pour tout l'amour qu'elles me portent et leur aide si précieuse.

A mes deux beaux-frères adorés « Nordine et Kamel » qui représentent les frères que je n'ai jamais eu. Sans oublier mes très chères nièces « Nais et Imène » et neveux « Mehdi, Yanis, Lotfi et Daris ».

A ma « mémé » chérie, la meilleure des grand-mères.

A mon époux « Karim », merci pour ta patience, ton aide et ta compréhension.

Je remercie également mes amis les plus chers Amel, Anissa, Amira, Linda et Sidali pour leur soutien et leur conseils qui m'ont été d'une grande utilité.

Yasmine. B

Abréviations

ABTS : Acide 2,2- azino-bis-3-éthyl-Benzo Thiazoline Sulfonique

AlCl₃ : Chlorure d'Aluminium

APG : Angiosperme Phylogénie Groupe

BHA : Hydroxyanisole Butylé

C₂H₃NaO₂ : Acétate de Sodium

CH₃-COONa 3H₂O : Acétate de Sodium

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

E.coli : *Escherichia coli*

ERO : Espèce Réactive de l'Oxygène

Fe²⁺ : Fer ferreux

Fe³⁺ : Fer ferrique

HCl : Acide Chlorhydrique

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice à 50%

KCl : Chlorure de potassium

MH : Muller Hinton

Na₂ CO₃ : Carbonate de Sodium

NADPH : Nicotine Amide Adénine Di nucléotide Phosphate

O₂ : Oxygène

O₂⁻ : Ion Superoxyde

RL : Radicaux Libres

RLO : Radicaux Libres Oxygénés

TEAC : Trolox Equivalent Antioxydant Capacity

UV : Ultra Violet

Liste des Figures

| Figure n° | Titre de la figure | Page n° |
|-----------|---|---------|
| 1 | Dessin et photographie de <i>Curcuma longa</i> | 4 |
| 2 | Structure des principaux curcuminoïdes | 7 |
| 3 | Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie | 11 |
| 4 | Sites possibles de la fixation de Fe ³⁺ aux cycles A et C des flavonoles | 15 |
| 5 | Protocole d'extraction des polyphénols totaux | 18 |
| 6 | Protocole de dosage des polyphénols totaux | 20 |
| 7 | Protocole de dosage des flavonoïdes | 21 |
| 8 | Protocole de dosage des proanthocyanidines | 22 |
| 9 | Protocole de dosage des anthocyanes | 23 |
| 10 | Protocole de l'évaluation de l'activité anti radicalaire par la méthode du DPPH | 24 |
| 11 | Protocole de l'évaluation de l'activité antioxydant par ABTS ⁺ | 25 |
| 12 | Courbe d'étalonnage de l'acide gallique | 28 |
| 13 | Représentation graphique des taux des phénols totaux des extraits de <i>Curcuma longa</i> | 29 |
| 14 | Courbe d'étalonnage de la Quercétine | 30 |
| 15 | Représentation graphique des taux en flavonoïdes des extraits de <i>Curcuma longa</i> | 31 |
| 16 | Courbe d'étalonnage de la Catéchine | 32 |
| 17 | Représentation graphique des taux des proanthocyanidines des extraits de <i>Curcuma longa</i> | 32 |
| 18 | Formes oxydée et réduite du radical stable DPPH | 34 |
| 19 | Pourcentages de l'activité scavenging du radical DPPH des extraits de <i>Curcuma longa</i> et des standards | 34 |

| | | |
|----|---|----|
| 20 | Activité scavenging du DPPH de l'extrait du chloroforme organique de <i>Curcuma longa</i> à différentes concentrations | 35 |
| 21 | Pourcentages de l'activité anti radicalaire par ABTS des extraits de <i>Curcuma longa</i> | 37 |
| 22 | Pourcentages d'inhibition des extraits éthanolique et chloroforme organique de <i>Curcuma longa</i> à différentes concentrations | 38 |
| 23 | Pourcentages d'inhibition des extraits d'hexane aqueux et organique et du chloroforme aqueux de <i>Curcuma longa</i> à différentes concentrations | 39 |

Liste de tableaux

| Tableau n° | Titre Du tableau | Page n° |
|------------|--|---------|
| I | Classification taxonomique de <i>Curcuma longa</i> | 3 |
| II | Noms vernaculaires de <i>Curcuma longa</i> | 3 |
| III | Description et principales caractéristiques des différentes parties de <i>Curcuma longa</i> . | 4 |
| IV | Les différents antioxydants endogènes | 13 |
| V | Tableau représentatif des différentes souches bactériennes testées | 26 |
| VI | Valeurs des IC ₅₀ de l'extrait de chloroforme organique et des standards BHA et Acide Ascorbique. | 36 |
| VII | Capacités antioxydantes exprimées en équivalent trolox | 38 |
| VIII | Valeurs des IC ₅₀ des extraits de <i>Curcuma longa</i> | 39 |
| IX | Activité antibactérienne des extraits de <i>Curcuma longa</i> | 41 |
| X | CMI et CMB de <i>Curcuma longa</i> (en mg/ml) | 43 |

Sommaire

| | |
|--------------------|---|
| Introduction | 1 |
|--------------------|---|

Partie Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur *Curcuma longa*

| | |
|---|---|
| I. Présentation de <i>Curcuma longa</i> | 2 |
| I.1. Historique..... | 2 |
| I.2. Classification systématique..... | 2 |
| I.3. Noms vernaculaires de l'espèce..... | 3 |
| I.4. Description de la plante..... | 3 |
| I.5. Culture de <i>Curcuma longa</i> | 5 |
| II. Phytochimie de <i>Curcuma longa</i> | 5 |
| II.1. La fraction volatile..... | 5 |
| II.2. La fraction non volatile..... | 6 |
| II.2.1. Les polyphénols..... | 6 |
| II.2.2. Autres composants..... | 7 |
| III. Pharmacocinétique..... | 7 |
| IV. Intérêts thérapeutiques..... | 8 |
| IV.1. Médecine traditionnelle | 8 |
| IV.2. Médecine moderne..... | 8 |
| IV.2.1. L'effet antioxydant..... | 8 |
| IV.2.2. L'effet anti-inflammatoire..... | 9 |
| IV.2.3. L'effet antibactérien, antifongique et antiviral..... | 9 |
| V. Toxicité, effets secondaires et contre- indications..... | 9 |

Chapitre II : Activités biologiques des composés phénoliques

| | |
|--|----|
| I. Activité antioxydant..... | 10 |
| I.1. Radicaux libres..... | 10 |
| I.1.1. Production des radicaux libres..... | 10 |

| | |
|---|----|
| I.2. Stress oxydant..... | 11 |
| I.2.1. Conséquences du stress oxydant..... | 12 |
| I.3. Antioxydants..... | 12 |
| I.4. Propriétés antioxydantes des polyphénols..... | 14 |
| II. Activité antimicrobienne..... | 15 |
| II.1. Infections bactériennes..... | 15 |
| II.2. Modes d'action des antibiotiques..... | 15 |
| II.3. Activité antibactérienne des polyphénols..... | 16 |

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes

| | |
|---|----|
| I. Matériel..... | 17 |
| I.1. Matériel végétal..... | 17 |
| I.2. Broyage et tamisage..... | 17 |
| II. Méthodes..... | 17 |
| II.1. Extraction des polyphénols totaux..... | 17 |
| II.2. Dosage des composés phénoliques..... | 19 |
| II.2.1. Dosage des polyphénols totaux..... | 19 |
| II.2.2. Dosage des flavonoïdes..... | 21 |
| II.2.3. Dosage des proanthocyanidines..... | 21 |
| II.2.4. Dosage des anthocyanes..... | 22 |
| II.3. Evaluation de l'activité antioxydant..... | 24 |
| II.3.1. Evaluation de l'activité anti radicalaire par DPPH..... | 24 |
| II.3.2. Evaluation de l'activité anti radicalaire par ABTS..... | 25 |
| II.4. Evaluation de l'activité antibactérienne..... | 26 |
| II.4.1. Préparation des souches et des extraits..... | 26 |
| II.4.2. Méthode de diffusion des disques | 26 |
| II.4.3. Test de l'activité bactéricide et bactériostatique..... | 27 |

Chapitre IV : Résultats et discussion

| | |
|---|----|
| I. Taux d'extraction..... | 28 |
| II. Composés phénoliques..... | 28 |
| II.1. Dosage des phénols totaux..... | 28 |
| II.2. Dosage des flavonoïdes..... | 30 |
| II.3. Dosage des proanthocyanidines..... | 31 |
| II.4. Dosage des anthocyanes..... | 33 |
| III. Les activités biologiques..... | 33 |
| III.1. Activité antioxydant..... | 33 |
| III.1.1. Activité scavenging du radical DPPH..... | 33 |
| III.1.2. Activité anti radicalaire de l'ABTS..... | 36 |
| III.2. Activité antimicrobienne..... | 40 |
| Conclusion..... | 44 |
| Références bibliographiques..... | 45 |

Introduction

Les plantes aromatiques constituent une source naturelle potentielle de molécules bioactives, elles font l'objet d'études scientifiques rigoureuses pour leur éventuelle utilisation comme alternative aux médicaments. Les effets thérapeutiques de ces plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques (**Bouzouita et al., 2008**).

Curcuma longa est une plante vivace de la famille des zingibéracées. Elle a toujours été employée comme épice dans la cuisine indienne et asiatique, colorant alimentaire et synthétique et comme remède traditionnel pour traiter différentes pathologies telles que les inflammations articulaires ; cutanées et menstruelles, les troubles digestifs et les affections cardiovasculaires (**Nicole et Maudet, 2010**).

Le rhizome de *Curcuma longa* est la partie la plus utilisée et de loin la plus étudiée. La couleur jaune orangée caractéristique de la poudre est due aux curcuminoïdes plus particulièrement à la curcumine qui représente le composant majoritaire et constitue son principe actif, isolée pour la première fois en 1815 par Vogel et Pelletier (**Rohini et al., 2011**).

Le monde scientifique est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », une situation où la cellule ne contrôle plus la quantité de radicaux libres qu'elle produit, entraînant ainsi la plupart des maladies telles que les maladies cardiovasculaires, neuro-dégénératives et le cancer (**Pincemail et al., 2002**).

Le phénomène de résistance aux antibiotiques cause un sérieux problème pour la santé publique, la découverte de nouveaux composés antimicrobiens est devenue un objectif primordial dans la lutte contre les maladies infectieuses (**Bérubé-Gagnon, 2006**).

La présente étude a été consacrée à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydant et antimicrobienne de *Curcuma longa*.

Pour cela nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Extraction des polyphénols totaux de la plante.
- Dosage des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes, des proanthocyanidines et des anthocyanes.
- Evaluation de l'effet anti-radicalaire par DPPH et ABTS.
- Evaluation de l'activité antibactérienne par diffusion de disques sur agar.

Chapitre I : Généralités sur *Curcuma longa*

I. Présentation de *Curcuma longa*

Depuis deux à trois décennies, le regain d'intérêt est manifeste pour la plante *Curcuma longa* du fait des multiples propriétés attribuées à cette épice, propriétés traditionnelles reconnues ou empiriquement constatées depuis des centaines d'années d'utilisation. Les études scientifiques et leur lot de publications se sont ainsi développés avec intensité (Nicole et Maudet, 2010).

Cette épice est porteuse de grands espoirs dans l'élaboration de traitements novateurs en médecine humaine dans des voies d'avenir aussi variées que la chimiothérapie anticancéreuse ou les traitements anti-sida, grâce à une meilleure connaissance du mode d'action impliqué dans ses activités biologiques (Vaquier, 2010).

I.1. Historique

Le curcuma est une épice supposée originaire du sud-est de l'Asie, plus spécifiquement d'Inde, d'où le fait qu'elle soit appelée à tort en occident « Safran des Indes ». Cette plante est décrite et utilisée depuis au moins 4000 ans dans le système médical populaire traditionnel indien où elle se nomme Haridra en ancien Sanskrit. Elle était, et est toujours, une des pièces centrales de la médecine Ayurvédique, considérée comme symbole de prospérité et de bonne santé. Elle a aussi une longue tradition dans la médecine chinoise. Outre ses propriétés médicinales, on l'utilisait (et on l'utilise toujours) à la fois pour son odeur, sa couleur jaune-orangée comme colorant alimentaire et textile, et sa flaveur en tant qu'épice alimentaire au goût légèrement âpre et amer, poivré et aromatique. Des propriétés de conservation des aliments lui sont également attribuées (Aggarwal et al., 2007), ainsi, bien avant l'époque des conservateurs synthétiques, le curcuma jouait un rôle primordial comme additif alimentaire (Trinidad et al., 2012). En fait, ces propriétés sont universellement reconnues, si bien que le rhizome est commercialisé dans le monde entier.

I.2. Classification systématique

La classification selon APG III (angiosperme phylogénie groupe) du genre *Curcuma longa* est représentée dans le tableau n° I.

Chapitre I : Généralités sur la plante

Tableau I : Classification taxonomique de *Curcuma longa* (Quezel et Santa1963).

| Rang taxonomique | Nomenclature |
|------------------|----------------------|
| Règne | Plantae |
| Classe | Monocotylédones |
| Ordre | Zingibérales |
| Famille | Zingiberaceae |
| Genre | Curcuma |
| Espèce | <i>Curcuma longa</i> |

I.3. Noms vernaculaires de l'espèce

Tableau II : Noms vernaculaires de *Curcuma longa*

| Langues | Noms | Références |
|----------|------------|--|
| Français | Curcuma | (Hombourger, 2010) et (Grubben, 2005) |
| Anglais | Turmeric | |
| Arabe | Kourkoum | |
| Chinois | Jianghuang | |
| Indien | Haldi | |
| Kabyle | kerkem | |

I.4. Description de la plante

Le genre curcuma regroupe près de 80 espèces dont certaines sont ornementales, tandis que d'autres se sont démarquées par l'utilisation de leur rhizome aux propriétés culinaires et médicinales parmi elles, *Curcuma longa*. (Figure n°1)




Il s'agit d'une plante herbacée rhizomateuse, robuste et touffue, pérenne, érigée, fortement tallante (souvent cultivée comme annuelle), atteignant de 1 à 1.5m de haut. Elle pousse sur les alluvions, les sols bien drainés et en plein soleil **(Grubben, 2005)**.



Figure n°1 : Dessin et photographie de *Curcuma longa* (Goel et al., 2008)

Les différentes caractéristiques propres à chaque organe de la plante sont résumées dans le tableau n°III.

Tableau III : Description et principales caractéristiques des différentes parties de *Curcuma longa*.

| Organes | Caractéristiques | Références |
|---|--|---|
| <p>Rhizome</p>  | <p>-Le rhizome principal est ovoïde, oblong, piriforme (environ 3 cm de diamètre et 4cm de long), les rhizomes secondaires sont courts, légèrement coudés, souvent ramifiés atteignant 6cm de long et 15mm d'épaisseur.</p> <p>-L'extérieur des rhizomes est de couleur jaunâtre à brun-jaune, la chair interne est jaune orangée.</p> | <p>(Grubben, 2005)</p> |
| <p>Feuille</p>  | <p>-grande feuille lancéolée, de couleur vert uniforme faisant jusqu'à 50cm de long et 7 à 25cm de large.</p> | <p>(Bruneton, 2009)</p> |
| <p>Fleurs</p>  | <p>Regroupées par paires sous forme d'entonnoir, de couleur jaune pale à blanc au sommet rose et mesurant environ 5 à 6cm de long.</p> <p>Elles sont tubulaires, zygomorphes et bisexuées.</p> | <p>(Rivera-Espinoza et Muriel, 2009)</p> |
| <p>Fruit</p> | <p>-rarement produit ;</p> <p>-C'est une capsule à trois loges contenant de nombreuses graines arillées.</p> | |

I.5. Culture de *Curcuma longa*

Le curcuma demande un climat humide et chaud. Il peut être cultivé dans la plupart des régions tropicales et subtropicales pourvu que les précipitations soient suffisantes (1000-2000 mm) ou que l'on puisse irriguer.

Le curcuma est cultivé jusqu'à 1200 m d'altitude sur les contreforts de l'Himalaya mais il pousse mieux à des altitudes comprises entre 450 et 900 m.

Les températures optimales sont de 30 à 35°C pendant le démarrage, de 25 à 30°C pendant le tallage, de 20 à 25°C pendant l'initiation des rhizomes et de 18 à 20°C pendant leur développement (**Hombourger, 2010**).

Le curcuma pousse sur divers types de sol, mais préfère des limons fertiles ou argileux, bien drainés, meubles et friables, riches en matières organiques, et de pH 5 à 7,5. Il ne supporte pas l'asphyxie racinaire ou les sols alcalins

La multiplication du curcuma se fait de façon végétative par rhizomes (On utilise généralement des rhizomes mères, entiers ou coupés en morceaux).

La récolte s'effectue généralement sept à dix mois voire douze mois après la plantation lorsque les feuilles inférieures jaunissent (**Grubben, 2005**).

II. Phytochimie de *Curcuma longa*

Les plantes produisent un grand nombre de métabolites secondaires, ainsi l'action de la phytothérapie sur l'organisme dépendra de la composition chimique de ces plantes et de leur teneur en ces métabolites (**Daayf et Lattanzio, 2008**).

Curcuma longa est une source riche en métabolites secondaires importants tels que des polyphénols, les huiles essentielles et bien d'autres substances.

Plusieurs études réalisées sur la plante ont clairement indiqué que son utilisation en thérapeutique était justifiée en raison de sa composition.

Le screening phytochimique de la poudre issue du rhizome séché de *Curcuma longa* a révélé la présence de deux fractions : volatile et non volatile (**Bruneton, 2010**).

II.1. La fraction volatile

Les huiles essentielles volatiles

Ce sont des substances organiques aromatiques liquides qu'on trouve naturellement dans diverses parties des plantes. Elles sont très concentrées, volatiles, généralement huileuses et sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur (**Garnero, 1996**).

La fraction volatile représente environ 6 à 7% de l'ensemble, elle est obtenue par distillation. De couleur jaune, elle est composée d'huiles essentielles volatiles, dont les principaux composés chimiques sont essentiellement des monoterpènes et des sesquiterpènes dont les α - et β -turmerones et α -turmerone et représentent environ 60% de l'huile, le zingiberène 25%, ainsi que d'autres éléments présents en faibles concentrations (atlantone, cinéole, dphallandrène...).

Les concentrations varient en fonction des régions d'origine des plantes et du moment de la récolte par rapport au cycle végétal (Vaquier, 2010).

II.2. La fraction non volatile

La fraction non volatile comprend des polyphénols et d'autres composants.

II.2.1. Les polyphénols

Ils Constituent une famille de molécules très largement répandue dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce sont des substances chimiques possédant dans leur structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (Nkhili, 2009).

Parmi les polyphénols identifiés :

- **Curcuminoïdes** : Les curcuminoïdes constituent la fraction active de l'extrait de curcuma. Ils sont insolubles dans l'eau et doivent être extraits à l'aide de solvants. Principes pigmentaires, leur teneur varie selon le cultivar, elle peut atteindre 8%. Ils appartiennent à la famille des diarylheptanoïdes. Le composé majoritaire (50 à 60%) est la curcumine de formule chimique $C_{21}H_{20}O_6$ et de structure 1,7-bis (4-hydroxy-3 méthoxyphényl)1,6-heptadiène-3,5-dione(Curcumine1), la monodéméthoxycurcumine (Curcumine2) et la bisdéméthoxycurcumine (Curcumine3) sont ses principaux dérivés (Portes, 2008., Bruneton, 2009).

La figure n°2 représente la structure chimique des principaux curcuminoïdes

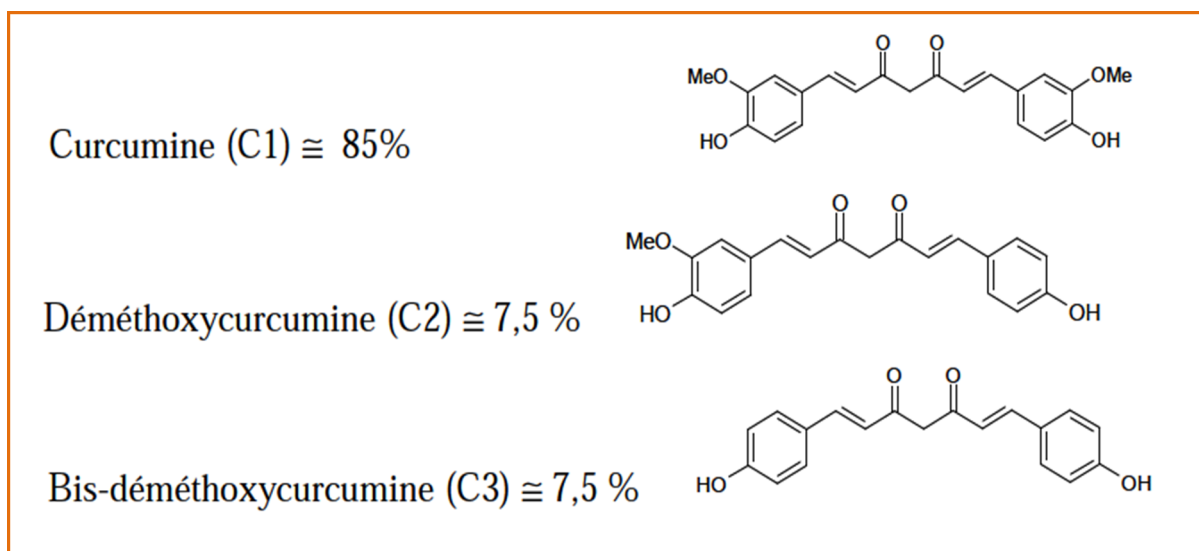


Figure2 : Structure des principaux curcuminoides (Portes, 2008).

II.2.2. Autres composants

Le rhizome de curcuma est riche en amidon (45 à 55%) et autres glucides (presque 70% en tout). Il contient aussi des protéines, 6.3% dont la turmerine, peptide hydrosoluble, des lipides à hauteur de 5% environ et 3.5% de minéraux (Vaquier, 2010).

III. Pharmacocinétique

Le Curcuma, au travers de ses différents constituants chimiques se montre capable d'interférer avec un certain nombre de voies métaboliques et de molécules, mais son principal facteur limitant est une faible biodisponibilité, en relation directe avec la faible biodisponibilité de la molécule curcumine (Vaquier, 2010).

Les raisons majeures attribuées à cette faible biodisponibilité sont une faible absorption digestive, un métabolisme rapide et une élimination systémique également rapide essentiellement dues à la nature hydrophobe de la curcumine. Pourtant la curcumine présente une activité biologique multiple chez l'Homme et chez les animaux (Vaquier, 2010).

La curcumine est principalement métabolisée par des réactions de conjugaison et de réduction. La voie orale conduit, par conjugaison dans les intestins et le foie, à la formation de dérivés glucuronides et de dérivés sulfate de la curcumine, ils se présentent soit sous forme glucuronide, soit sous forme sulfate mais il n'a pas été détecté de forme mixte. Ces conjugués sont excrétés dans l'urine (Cheikh Ali, 2012).

Les métabolites obtenus tels que les glucuronides par exemple seraient inactifs pharmacologiquement mais la tétrahydrocurcumine, un des principaux métabolites de la curcumine, assez stable en milieu neutre ou alcalin, garde ses propriétés antioxydantes (Cheikh Ali, 2012).

Face à ce problème, les chercheurs tentent de comprendre et d'augmenter la biodisponibilité de la curcumine.

- **Moyens mis en œuvre pour améliorer la biodisponibilité de la curcumine**

L'utilisation d'un adjuvant comme la pipérine (alcaloïde trouvé dans le poivre noir *Piper nigrum* et le poivre long *Piper longum*) interfère avec la glucurono-conjugaison de la curcumine, en inhibant son métabolisme hépatique et intestinal (**Vaquier, 2010**).

Récemment, une étude relate l'utilisation d'un "véhicule de transport" pour la curcumine sous la forme de nanofibres, destinées à amener la molécule sur son site d'action en concentration suffisante. Sa biodisponibilité a été augmentée de façon significative (**Vaquier, 2010**).

IV. Intérêts thérapeutiques

IV.1. Médecine traditionnelle

En médecine ayurvédique, la curcumine est un traitement efficace pour diverses affections respiratoires comme l'asthme, l'allergie, ainsi que les désordres hépatiques et biliaires (jaunisse), l'anorexie, les rhumatismes, les rhumes et les sinusites (**Hombourger, 2010**).

En médecine traditionnelle chinoise, le curcuma est utilisé pour traiter les maladies associées aux douleurs abdominales, pour ses propriétés carminatives et anti infectieuses.

Dans l'ancienne médecine hindoue, il était utilisé pour traiter les entorses et les enflures et à travers l'Orient comme anti-inflammatoire (**Grubben, 2005**).

IV.2. Médecine moderne

IV.2.1. Effet antioxydant

Les curcuminoïdes sont des antioxydants, piègeurs de radicaux libres, inhibiteurs de la peroxydation lipidique et jouant un rôle important dans l'inflammation, les maladies cardiovasculaires et le cancer (**Grubben, 2005**).

Une étude a été réalisée par **Jayaprakasha, (2005)** qui en a conclu que la curcumine agit par plusieurs mécanismes amenant des effets antioxydants.

- Effets protecteurs sur 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 ...etc.

IV.2.2. Effet anti-inflammatoire

La curcumine, caractérisée chimiquement pour la première fois en 1910 est identifiée comme responsable de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de Curcuma, mais le mélange des trois curcuminoïdes révèle une meilleure activité, ce qui a été confirmé par **Ramsewak et al., (2000)**. Les curcuminoïdes agissent en inhibant l'enzyme cyclogénase de type II, enzyme responsable de la synthèse des prostaglandines inflammatoires dans l'organisme (**Mesa et al., 2000**).

IV.2.3. Effet antibactérien, antifongique et antiviral

Le Curcuma inhibe la croissance de nombreuses bactéries (Gram positif et négatif) et plusieurs champignons pathogènes. Lors d'infections, il inhibe également la production de certaines toxines bactériennes qui peuvent causer de sérieux tords à l'organisme (**Mesa et al., 2000**).

Plusieurs études ont également démontré que le curcuma ralentit la progression du VIH et semble augmenter le taux de lymphocytes dans le sang. Deux fonctionnements sont énoncés :

- Inhibition de la synthèse de l'enzyme intégrase qui permet au virus de s'intégrer au code génétique de la cellule hôte.
- Inhibition de la production de cytokines par la cellule hôte en sachant que celles-ci stimulent la formation du VIH dans les lymphocytes (**Mesa et al., 2000**).

V. Toxicité, effets secondaires et contre-indications :

L'expérimentation animale révèle l'absence de toxicité aiguë ou chronique de la curcumine per os (absence d'effets pour une dose de 3.5 g/kg/jour durant 3mois).

Cette innocuité est confirmée chez l'Homme par plusieurs essais cliniques de phase I qui n'ont relevé aucun effet indésirable sévère, même pour des doses très élevées (8g/jr). Mais les éventuels effets indésirables d'un traitement à long terme ne sont pas connus (**Bruneton, 2009**).

On note de rares troubles digestifs à fortes doses, des allergies de contact possibles ainsi qu'une coloration de la salive en jaune-orange.

Le Curcuma est contre-indiqué chez la femme enceinte et dans les cas d'obstruction des voies biliaires ou de calculs biliaires (**Vaquier, 2010**).

I. Activité antioxydant

I.1. Radicaux libres (RL)

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairer, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. (**Halliwell, 1999**).

I.1.1. Production des radicaux libres (RL)

La production des espèces oxydantes est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d'O₂ pour produire de l'énergie au cours des réactions dites de respiration oxydative, cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau au niveau de la mitochondrie, elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés (RLO) (**Chu et al., 2010**). (figure3).

Les autres sources de production de radicaux libres sont classées en deux catégories :

- Les sources endogènes : où les RL sont des produits des réactions de l'organisme.
- Les sources exogènes : tels que le tabagisme, les radiations UV, les médicaments, les réactifs chimiques, les solvants industriels et la pollution (**pastre, 2005**).

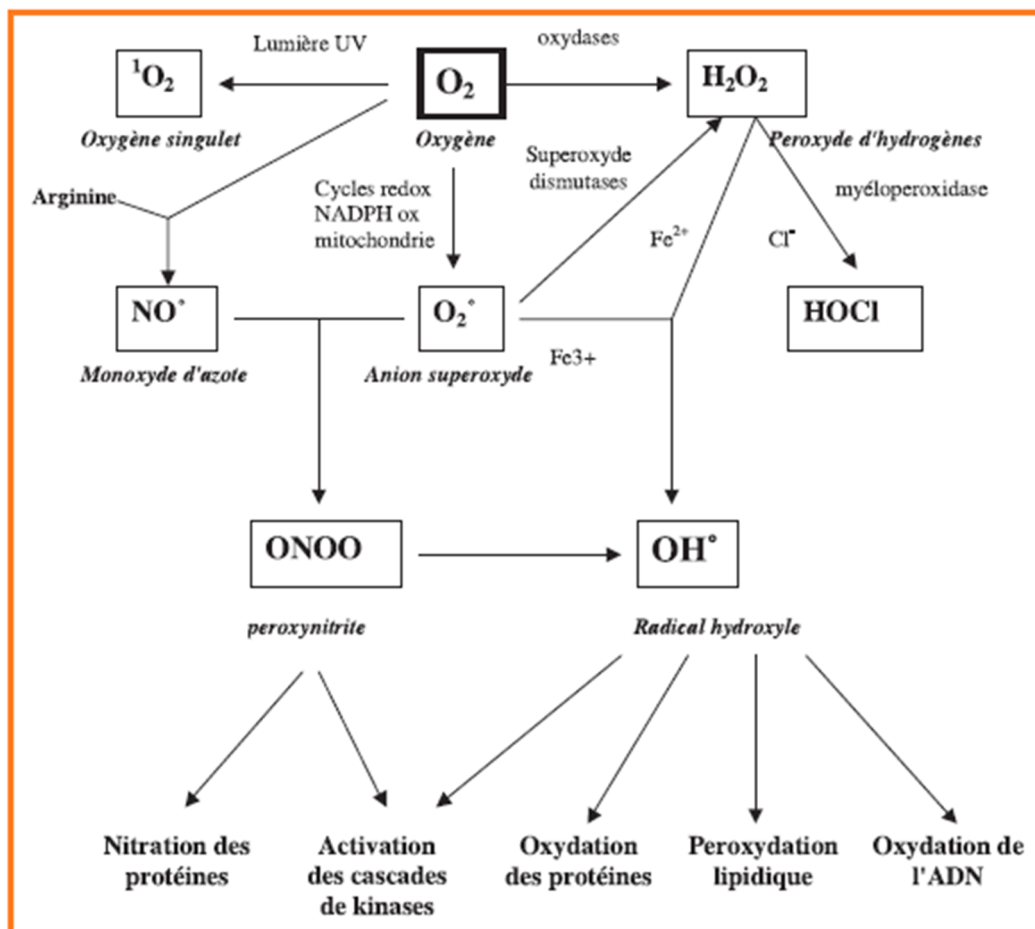


Figure n° 3: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

I.2. Stress oxydant

Le stress oxydatif, appelé aussi stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes de l'organisme en faveur des premiers, ce qui conduit à des dommages cellulaires irréversibles (Thomas *et al.*, 2003). Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas de ressources antioxydantes (vitamines, oligoéléments, enzymes) suffisantes pour les éliminer. Cette situation peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale, d'une activation de systèmes enzymatiques (xanthine oxydase, NADPH oxydase, glucose oxydase, monoamine oxydase), d'une libération de fer libre à partir des protéines créatrices (ferritine) ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine). Enfin, une mauvaise alimentation pauvre en

antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydatif (**Pincemail et al., 2008**)

I.2.1. Conséquences du stress oxydant

De nombreuses études ont montré qu'il existe une association étroite entre l'altération des systèmes de défenses antioxydants et le développement de plus de 200 physiopathologies différentes (**Rousseau, 2007**). Des concentrations élevées en espèces réactives d'oxygène (ERO) peuvent être un important médiateur de dommages des structures cellulaires, des acides nucléiques, des lipides et des protéines (**Valko et al., 2007**).

La multiplicité des conséquences médicales de ce stress n'a rien de surprenant car, selon les maladies, celui-ci se localisera à un tissu et à des types cellulaires particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu. (**Favier, 2007**).

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux. Le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré mais aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

I.3. Antioxydants

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou inhiber la génération d'un oxydant toxique, d'arrêter ceux qui sont déjà produits et de les inactiver, bloqué de ce fait la réaction en chaînes de propagation produite par ces oxydants, (**Tang et Halliwell, 2010**).

Ce sont des composés utilisés par les organismes aérobies pour se protéger contre le stress oxydatif produit par les RL et les espèces oxygénées réactives. Ils exercent leur action protectrice soit par suppression de la formation des RL ou par piégeage de ces derniers.

Selon **Pelli et Lyly, (2003)**, l'organisme dispose d'une large gamme d'antioxydants endogènes sous forme de systèmes enzymatiques ou non enzymatiques et divers facteurs

nutritionnels. Le mécanisme de défense antioxydant peut être divisé en deux catégories différentes :

❖ Antioxydants endogènes

Afin que les ERO n'exercent pas de façon incontrôlée leur effet délétère, l'organisme dispose d'un système de défense enzymatique nécessitant des oligo-éléments pour fonctionner et non enzymatiques (piégeurs), localisé dans les compartiments intra et extracellulaire (Volko et al., 2007), comme le résume le tableau n° IV.

Tableau IV: Les différents antioxydants endogènes (Pincemail et al., 2002)

| Systèmes enzymatique | Oligo-éléments | Systèmes-non enzymatiques |
|-------------------------------------|----------------|---------------------------|
| Superoxyde dismutase(SOD) | Cuivre et zinc | Ferritine |
| Glutathion peroxydase (GPx) | Fer | Transferrine |
| Catalase | Sélénium | Céruloplasmine |
| Lipases, protéases et endonucléases | Manganèse | Albumine |

❖ Antioxydants exogènes

Le second groupe d'antioxydants doit être obtenu à partir de l'alimentation, puisque ces derniers ne peuvent pas être synthétisés par l'être humain. Ils comprennent les nutriments et les métabolites végétaux suivants : Les vitamines E et C, les caroténoïdes, le Sélénium, l'ubiquinone, les folates, glutathion ou acide lipoïque, les polyphénols et les flavonoïdes.

Tous ces antioxydants agissent de façon synergique contre les différents types de radicaux libres (Maritim, 2003).

I.4. Propriétés antioxydantes des polyphénols

Plusieurs études épidémiologiques ont montré qu'il y a un rapport inverse entre la prise d'aliments riches en polyphénols (fruits et légumes) et le risque des maladies liées à l'âge comme les maladies neuro-dégénératives (Hu, 2003; Bubonja-Sonje *et al.*, 2011). Cette relation est souvent attribuée aux puissantes activités des polyphénols associées à leurs propriétés redox permettant d'éliminer les effets d'ERO ainsi que de chélater les différents métaux de transition. (Ketsawatsakul *et al.*, 2000).

En outre, les polyphénols agissent contre la peroxydation lipidique de deux façons: par la protection des lipides cibles contre les initiateurs de l'oxydation ou par stabilisation de la phase de propagation. Dans le premier cas, les antioxydants dits préventifs entravent la formation des ERO ou éliminent les espèces réactives responsables de l'initiation de l'oxydation comme $O_2^{\cdot-}$, O_2 et OH . Dans le second cas, les antioxydants dits briseurs de chaîne perdent généralement un atome d'hydrogène en faveur des radicaux propagateurs de l'oxydation (LOO \cdot) pour stopper la propagation de la peroxydation (Laguerre, 2007) selon la réaction ci-dessous :



Concernant les flavonoïdes, la relation structure/activité antioxydant est généralement plus compliquée que les acides phénoliques à cause de la complexité de leur molécule, ainsi les flavonoïdes exercent des effets antioxydants aussi par la chélation des ions métalliques. Il a été postulé que la Quercétine et la Myricétine forment des complexes avec les différents métaux (Fe^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} , etc.) via les groupements hydroxyle des cycles des flavonoïdes. Néanmoins, les deux groupes 3-hydroxy et 5-hydroxy sont particulièrement intéressants car ils sont en compétition pour la fixation du métal (figure 4).

Le métal peut se fixer à la position 3-hydroxy-4-céto (gauche) ou la position 5-hydroxy-4-céto (droite) (Verdan *et al.*, 2011).

En plus, les flavonoïdes sont des inhibiteurs des enzymes impliquées dans la production des ERO. En effet on a rapporté que les flavonoles quercétine, kaempferol et galangine, ainsi que le flavone apigénine sont des inhibiteurs des enzymes du cytochrome P450 impliquées dans la production des ERO (Sandhar *et al.*, 2011).

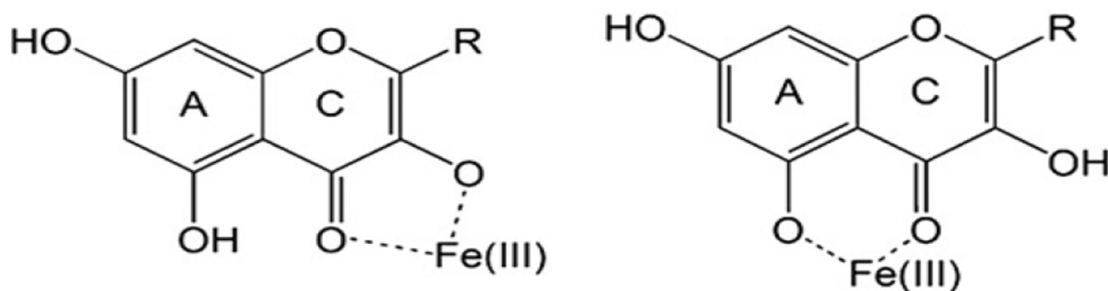


Figure 4 : Sites possibles de la fixation de Fe^{3+} aux cycles A et C des flavonols (Verdan *et al.*, 2011).

II. Activité antimicrobienne

II.1. Infections bactériennes

Les infections bactériennes sont causées par différents micro-organismes et sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues. De nombreux antibiotiques sont développés pour les traiter, cependant leur utilisation abusive est à l'origine de l'apparition de la multi résistance bactérienne.

Un antibiotique est une substance antibactérienne produite par des micro-organismes (champignons et bactéries) ou de synthèse chimique capable d'inhiber la multiplication ou détruire les micro organismes. Les antibiotiques peuvent être classés selon l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action. La classification des antibiotiques selon leurs mécanismes d'action est cependant la plus répandue. (Yala *et al.*, 2001).

II.2. Modes d'action des antibiotiques

Les agents antimicrobiens détruisent les bactéries en s'attaquant directement à leurs structures essentielles (paroi cellulaire, ribosomes, membrane plasmique et ADN) et/ou en perturbant leurs métabolismes et par conséquent leurs fonctions (Tortora *et al.*, 2003).

Les modes d'action majeurs des antibiotiques incluent l'interférence avec la synthèse de la paroi cellulaire (β -lactames), l'inhibition de la synthèse protéique (macrolides et aminoglycosides), l'interférence avec la synthèse de l'acide nucléique (fluoroquinolones) et l'inhibition d'une voie métabolique. L'action sur la membrane est aussi un mécanisme antibactérien très répandu. Les polymixines induisent l'augmentation de la perméabilité membranaire causant la perte du contenu de la cellule bactérienne (Storm, 1977), tandis que

le lipopeptide cyclique daptomycine agit, apparemment, par l'insertion de sa queue lipidique à l'intérieur de la membrane, causant sa dépolarisation et éventuellement la mort bactérienne **(Carpenter et Chambers, 2004)**.

II.3. Activité antimicrobienne des polyphénols

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement dû à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité. Il a été rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes **(Cowan, 1999)**.

Pour certains polyphénols, les cibles probables dans la cellule microbienne sont les adhésines exposées à la surface, les polypeptides de la paroi de la cellule, et les enzymes de la membrane. Elles peuvent également rendre des substrats indisponibles aux microorganismes. **(Scalbert, 1991)**.

Alors que les flavonoïdes et les tannins ont reçu plus d'attention dû à leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols à leur capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telle que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité à établir une synergie avec certains antibiotiques. La quercétine et la naringénine semblent être des inhibiteurs de nombreuses bactéries **(Daglia, 2011)**.

I Matériel

Le matériel et les réactifs utilisés dans le but de réaliser les analyses phytochimiques et d'évaluer les activités biologiques sont portés dans l'annexe n° 1.

Les préparations des solutions sont portées dans l'annexe n° 2.

I.1. Matériel végétal

Les polyphénols étudiés ont été extraits du rhizome de l'espèce *Curcuma longa* provenant d'Inde et acheté sur le marché au niveau de Bejaïa.

I.2. Broyages et tamisage

Les rhizomes secs du *Curcuma longa* ont été concassés grâce à un mortier puis broyés à l'aide d'un broyeur électrique en une poudre fine afin de permettre une meilleure extraction, puis passés au tamis électrique afin d'avoir une poudre homogène de granulométrie de 250µm (Annexe n° 3).

Cette dernière a été stockée dans des bocaux hermétiques recouverts de papier aluminium à l'abri de la lumière et de l'humidité.

II. Méthodes

II.1. Extraction des polyphénols totaux

- **Mode opératoire**

Les polyphénols de *Curcuma longa* ont été extraits par macération selon le protocole décrit par **Chiang et al., (1994)** ayant subi quelques modifications. Le protocole se divise en deux étapes, la première vise à récupérer l'extrait éthanolique brut quant à la deuxième, vise à avoir les deux phases aqueuses et organiques des fractions de chloroforme et d'hexane.

Les différentes étapes du protocole d'extraction sont représentées dans la figure n° 5.

Etape1 :

200g de poudre + 800ml d'éthanol (C_2H_6O , 96%)



Agitation pendant 24h à T° ambiante à l'abri de la lumière



Retirer de l'agitateur et laisser décanter pendant 48h



Diviser la solution en trois volumes et mettre à sécher à l'étuve à 40°C



Pesée pendant 3 jours jusqu'à évaporation complète du solvant

Etape2 :

↪ 1^{er} extrait sec + 50ml d'eau distillée + 150ml d'hexane (1 :3 ; v/v)

↪ 2^{ème} extrait sec + 50 d'eau distillée + 150 ml de chloroforme (1 :3 ; v/v)



Agitation pendant quelques minutes



Recouvrir de parafilm et laisser décanter durant 24h à température ambiante

↪ 3^{ème} extrait est mis de coté a l'abri de la lumière et de l'humidité.

Figure n°5 : Protocole d'extraction des polyphénols totaux (Chiang *et al.*, 1994).

- **Calcul du rendement**

La détermination du taux d'extraction (%) est réalisée selon la formule suivante :

$$\% = [P_1 / P_0] * 100$$

Où :

P₁ : poids de l'extrait sec exprimé en milligramme

P₀ : poids de l'échantillon initial (poudre végétale) exprimé en milligramme

II.2. Dosage des composés phénoliques

Le dosage des composés phénoliques a été réalisé sur l'extrait éthanolique, les extraits aqueux d'hexane et de chloroforme ainsi que sur les extraits organiques d'hexane et de chloroforme dans les mêmes conditions.

II.2.1. Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

La quantification colorimétrique des composés phénoliques totaux a été déterminée selon la méthode décrite par (Yap et al., 2009), utilisant le réactif de Folin Ciocalteu, qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃ PW₁₂ O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃ PMo₁₂ O₄₀). Ces derniers lors de l'oxydation des phénols, sont réduits en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

Les absorbances sont lus à 765nm. La coloration produite est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits végétaux.

Les différentes étapes du protocole de dosage des phénols totaux sont représentées dans la figure n°6.

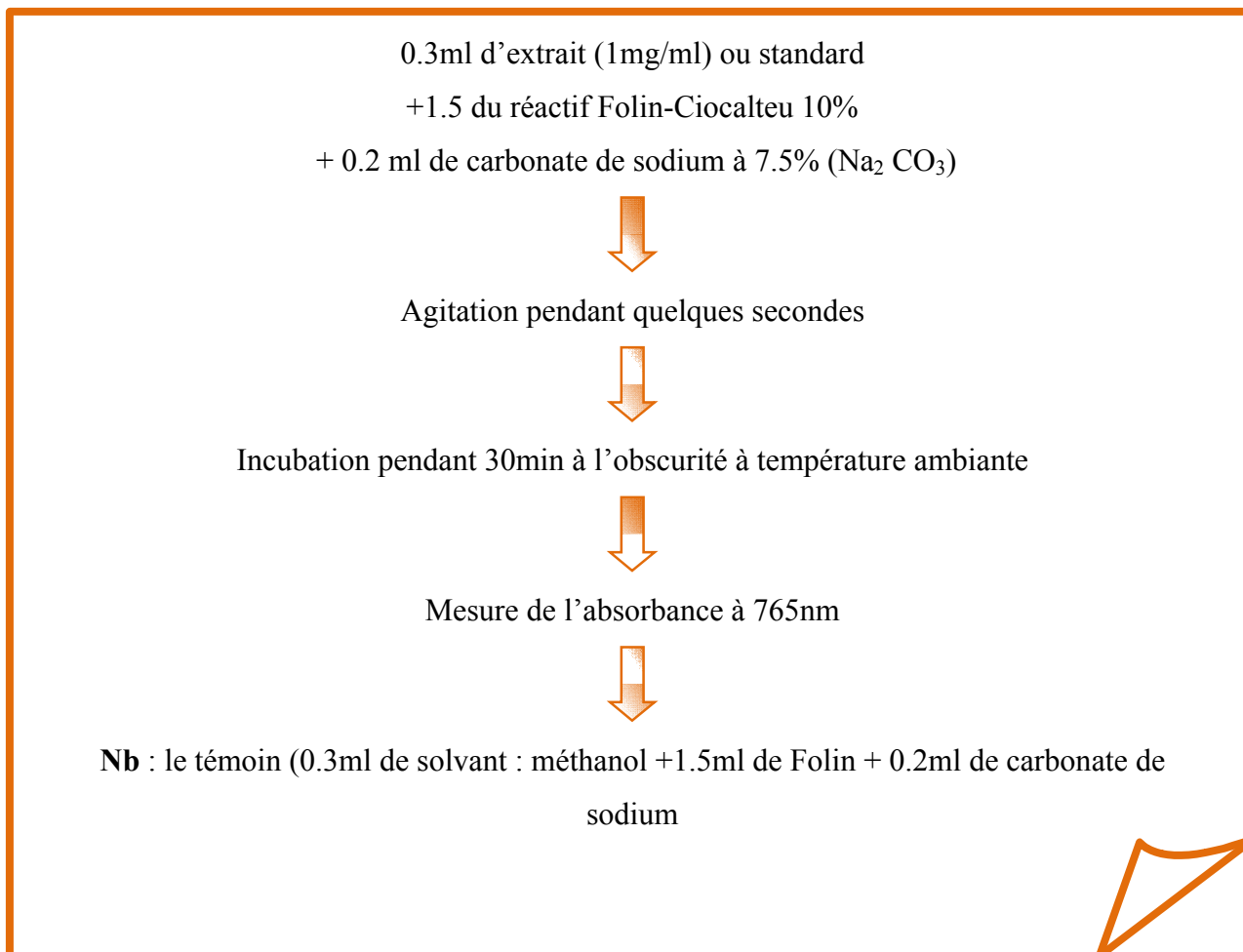


Figure n°6 : Protocole de dosage des polyphénols totaux (Yap *et al.*, 2009).

- **Expression des résultats**

Les concentrations en composés phénoliques totaux des extraits sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations en acide gallique dans du méthanol.

Limites de la méthode : Si le dosage de Folin-Ciocalteu est simple à mettre en œuvre et très sensible, il n'est cependant pas spécifique des polyphénols ; il réagit avec les acides aminés, tyrosine et tryptophane des protéines, les sucres réducteurs comme le glucose et le fructose, l'acide ascorbique, l'acide tartrique et les sulfites (Boizot et Charpentier., 2006).

II.2.2. Dosage des flavonoïdes

Principe : la méthode repose sur l'aptitude des flavonoïdes à chélater les métaux (fer et aluminium), cette propriété est propre aux groupements hydroxyles des phénols flavonoïdes capables de donner un complexe en présence d'aluminium (chlorure d'aluminium) (Ribéreau-Gayon, 1968).

- **Protocole** les étapes sont détaillées dans la figure n°7

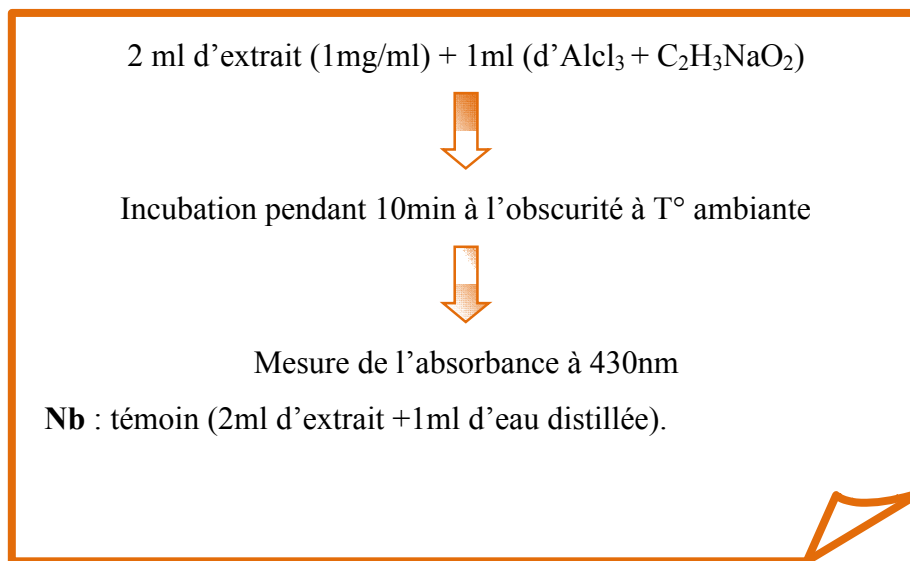


Figure n°7 : Protocole de dosage des flavonoïdes (Abdoubouba *et al.*, 2010).

II.2.3. Dosage des proanthocyanidines ou tanins condensés

- **Principe** : Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de la vanilline en milieu acide. Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère (Ba *et al.*, 2010).
- **Protocole** les proanthocyanidines des extraits de *Curcuma longa* ont été dosés selon la technique décrite par Sun *et al.*, (1998) in Adedapo *et al.*, (2009) (Figure n°8)

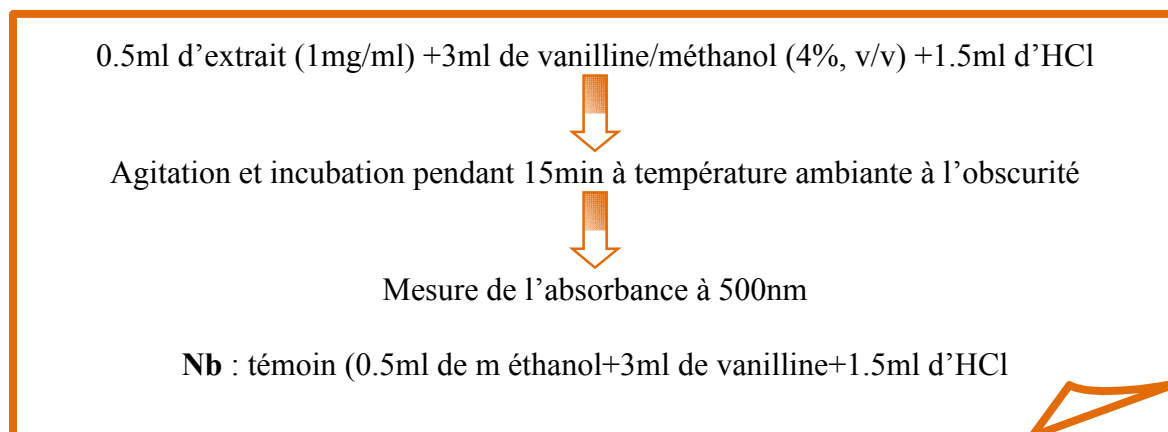


Figure n°8 : Protocole de dosage des proanthocyanidines (Sun et *al.*, 1998 in Adedapo et *al.*, 2009).

II.2.4. Dosage des anthocyanes

- **Principe :** Les anthocyanines sont des pigments dont la couleur varie en fonction de l'acidité, cette propriété est utilisée pour leur dosage. En effet, à pH 1 ils sont sous forme colorée (Oxonium ou flavymium) et à pH 4,5 sous forme incolore (carbinol). (Ribéreau-Gayon, 1968).
- **Protocole :** Le dosage des anthocyanines a été réalisé selon le protocole représenté dans la figure n°9 (Lee et *al.*, 2005).

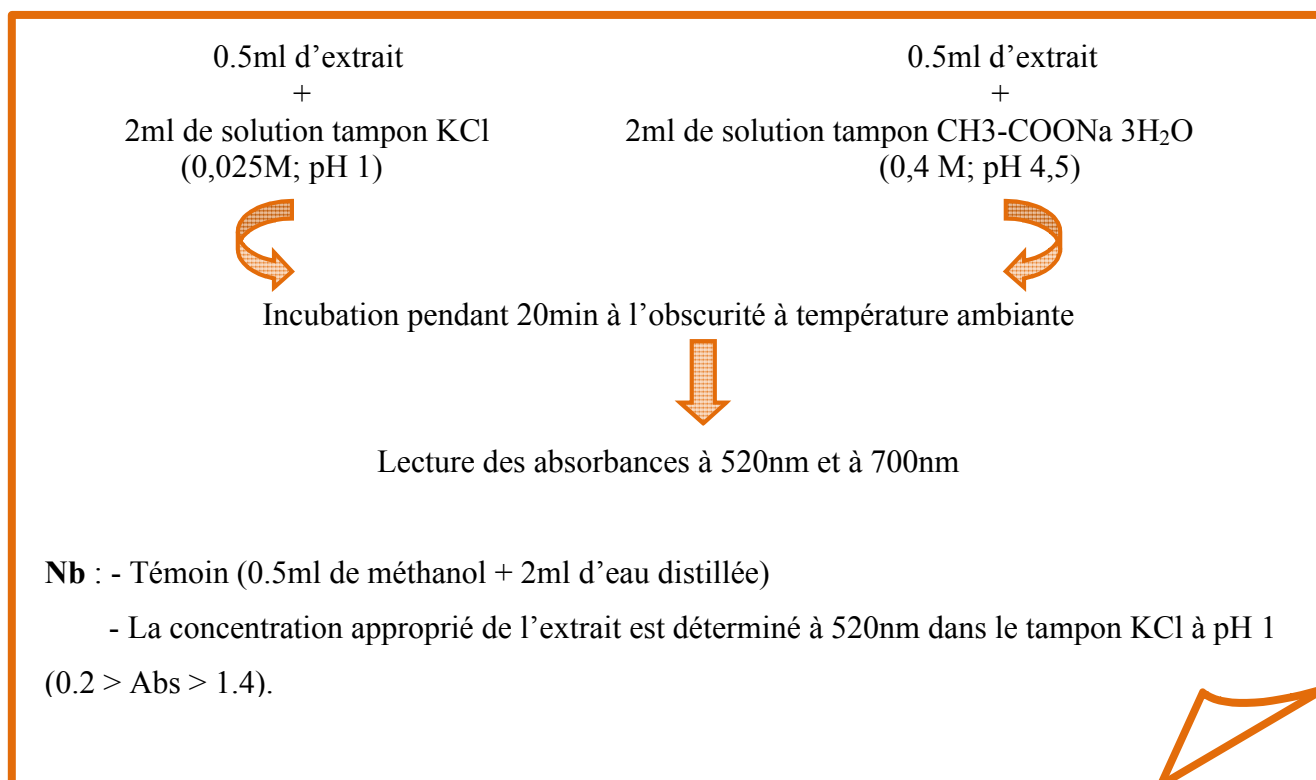


Figure n°9 : Protocole de dosage des anthocyanes Lee *et al.*, (2005)

Remarque

La dilution de l'extrait est déterminée avec le tampon pH=1 jusqu'à ce que l'absorbance à 520nm soit 0.2 > Abs > 1.4.

• Calculs

$$(A * MW * DF * 10^3) / \xi * l$$

Où:

A: (abs 520 – abs 700) pH1- (abs 520 - abs 700) pH4.5

MW: poids moléculaire de la cyanidine 3 –glucoside = 449.2g/ml

DF : facteur de dilution

l : diamètre de la cuve

ξ : 26900 (coefficient d'extinction molaire)

10³ : facteur de conversion g en mg.

II.3. Evaluation de l'activité antioxydant

Pour toutes les activités, l'extrait sec de composé phénolique, est reconstitué dans du méthanol et préparé à différentes concentrations.

Le BHA et l'Acide ascorbique ont été utilisés comme antioxydants de référence, pour apporter un point de comparaison avec les différents extraits.

II.3.1. Evaluation de l'activité anti radicalaire par DPPH

- **Principe**

La méthode est basée sur la dégradation du radical DPPH. Un antioxydant aura la capacité de donner un électron singulet au radical synthétique DPPH[•] (2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl) de coloration violette (forme oxydée) pour le stabiliser en DPPH (2,2 Diphenyl-1-picryl hydrazine) de coloration jaune-verte.

Cette méthode est très utilisée pour étudier des extraits végétaux et alimentaires pour mesurer la capacité antioxydante totale.

L'intensité de la coloration mesurée au spectrophotomètre à 517 nanomètres, est inversement proportionnelle à l'activité anti-radicalaire des composés dont on souhaite déterminer l'activité (Kouamé et al., 2009).

- **Protocole :** La méthode suivie par Sohretoglu et al., (2007) a été utilisée pour évaluer l'activité anti-radicalaire des extraits de *Curcuma longa*. Toutes les étapes de l'essai sont décrites dans la figure n°10

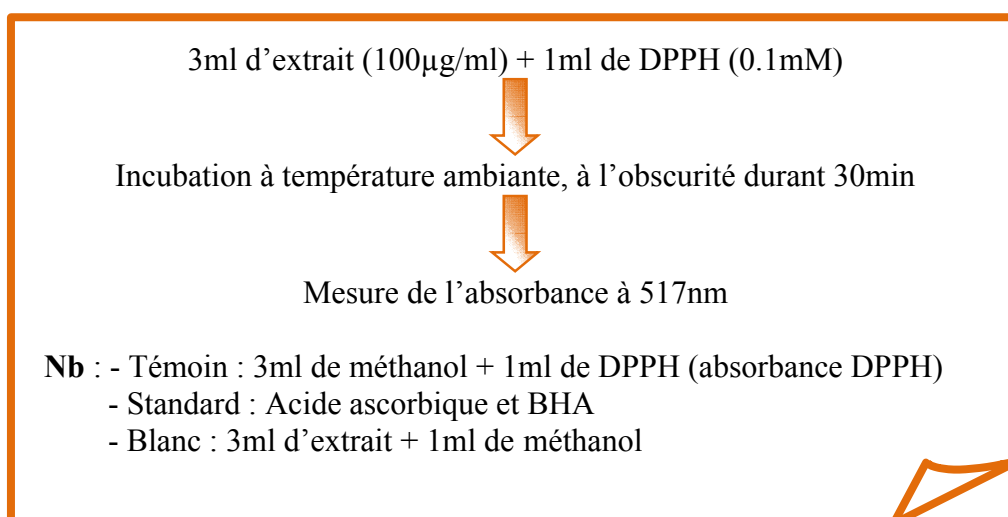


Figure n°10 : Protocole de l'évaluation de l'activité anti radicalaire par la méthode du DPPH (Sohretoglu et al., 2007).

- **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH (%) a été calculé selon la formule donnée par **Sohre toglu et al., (2007)** comme suit :

$$I \% = \frac{A_C - (A_T - A_B)}{A_C} * 100$$

Où :

A_C : Absorbance de la réaction négative (contrôle), contenant tous les réactifs excepté le composé testé.

A_T : Absorbance de la réaction positive contenant le composé testé.

A_B : Absorbance du blanc de chaque extrait.

II.3.2. Evaluation de l'activité antioxydant par l'ABTS

- **Principe**

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique $ABTS^{•+}$ de coloration bleu-verte en le transformant en $ABTS^+$ incolore par piégeage d'un proton par l'antioxydant. La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre. **Re et al., (1999)**.

- **Protocole** : Il est présenté dans la Figure n° 11.

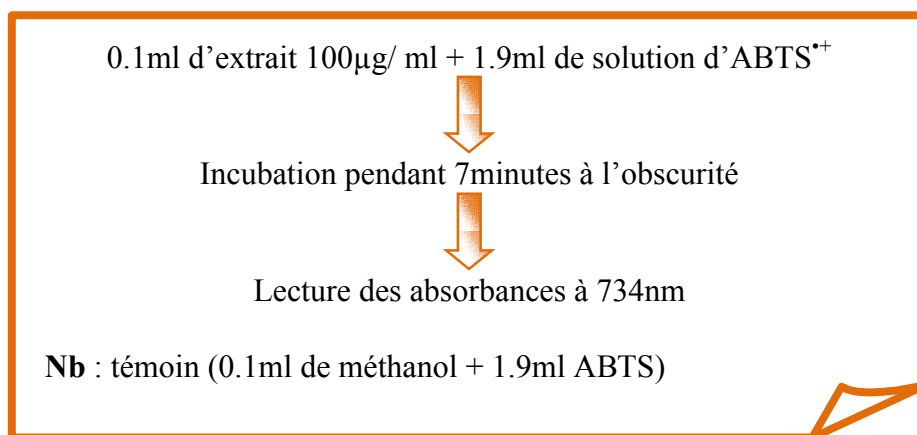


Figure n°11 : Protocole de l'évaluation de l'activité antioxydant par l'ABTS^{•+} (**Re et al., 1999**)

- **Expression des résultats**

$$\% = \frac{(A_t - A_b)}{A_t} * 100$$

Ou :

A_b : Absorbance du blanc

A_t : Absorbance du test

II.4. Etude de l'activité antibactérienne

II.4.1. Préparation des souches et des extraits

Dans le présent travail, nous avons utilisé quatre souches bactériennes, deux à Gram positif et deux à Gram négatif. Les différentes souches sont représentées dans le tableau n° V.

Tableau n° V : Tableau représentatif des différentes souches bactériennes testées.

| Souches bacteriennes | Gram | références |
|-------------------------------|------|--------------|
| <i>Bacillus subtilis</i> | + | ATCC6633 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | + | ATCC 25923 |
| <i>Escherichia coli</i> | - | ATCC4157 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | - | Hospitalière |

L'activité antibactérienne a été testée avec les extraits du chloroforme organique et aqueux, l'extrait éthanolique et l'extrait d'hexane aqueux à différentes concentrations.

Les extraits aqueux d'hexane et de chloroforme ont été dilués dans du DMSO (C₂H₆OS) contrairement à l'extrait éthanolique brut et l'extrait de chloroforme organique qui eux ont été dilués dans de l'eau physiologique, tous à des rapports de 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 et 1/32 à partir d'une solution de 10mg/ml. Les extraits bruts ont été également testés.

II.4.2. Méthode de diffusion des disques

Pour réaliser ce test, on utilise le milieu Muller-Hinton agar pour la culture des différentes souches traitées. Le milieu est coulé sur des boîtes de Pétri de 9mm de diamètre avec une épaisseur de 4mm. Les boîtes sont séchées durant 30min à 37°C selon la méthode de **Kirby et Bauer, (1966)** citée dans **Wilkins et al., (1972)**

- **Standardisation des inocula bactériens** : l'inoculum (suspension bactérienne initiale) préparé durant tout le travail est standardisé à 10⁸ UFC/ ml au laboratoire de microbiologie appliquée.
- **Revivification des souches** : les souches bactériennes ont été repiquées sur bouillon nutritif puis incubées à 37°C durant 24h.
- **L'inoculum** : Des colonies de bactéries sont repiquées dans un bouillon nutritif puis incubées à 37°C pendant 18h.

Huit colonies de bactéries à Gram négatif (*E. coli* et *S. typhimurium*) ont été dissociées dans 3ml d'eau physiologique et onze colonies à Gram positif (*B. subtilis* et *S. aureus*) dissociées dans 4ml d'eau physiologique stérile et homogénéiser par Vortex.

- **L'ensemencement :** Après avoir introduit un écouvillon stérile dans l'inoculum, rejeter l'excès de bouillon par pression sur les parois du tube et ensemencer la gélose. L'écouvillon doit passer 2 à 3 fois sur toute la surface de manière à obtenir un ensemencement homogène. Laisser sécher les boîtes 10 minutes avant de déposer les disques.
- **Dépôt des disques et incubation :** A l'aide d'une pince stérile, poser les disques préalablement imbibés de 15µl de chaque extrait phénolique à différentes concentrations, en appuyant légèrement pour qu'ils adhèrent bien à la gélose. Les disposer à 15 mm minimum de la périphérie de la boîte de manière à ce que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas et les incuber à 37°C durant 24h.
- **Evaluation de l'effet antibactérien :** Mesurer le diamètre des zones d'inhibition autour du point d'application du disque en millimètre à l'aide d'un pied à coulisse. La concentration la plus faible de l'extrait inhibant toute croissance visible à l'œil nu après 24heures d'incubation à 37°C est la concentration minimale inhibitrice notée CMI.

NB : De la même manière, des témoins ont été préparés. Témoins positifs contenant que les bactéries testées sur gélose MH (le même nombre de colonies que pour le test) et témoins négatifs contenant les extraits testés.

II.4.3. Test de l'activité bactéricide et bactériostatique

La CMB est définie comme la plus petite concentration aboutissant à une destruction notable des bactéries (0.01 de survivants) (**Bassole et al., 2001**).

Des tubes de bouillon nutritif sont ensemencés par des morceaux de gélose raclés là où aucune croissance n'est observée sur les boites de Pétri. Après incubation durant 24h, une présence ou non d'un trouble est mentionnée. La CMB correspond à la première concentration où aucun trouble n'est observé (**Bassole et al., 2001**).

I. Taux d'extraction

La macération du rhizome de *Curcuma longa* a permis d'extraire 9.44g d'extrait brut de couleur jaune orange (Annexe n° 4), soit un taux d'extraction de 4.72%, ceci indique une diffusion moyenne des portions solubles de la poudre dans l'éthanol. Ce résultat reste tout de même supérieur à celui obtenu par **Naz et al., (2010)** qui ont extrait 2.68% de polyphénols par Soxhlet en utilisant le même solvant (l'éthanol), en revanche, **Cheikh Ali, (2012)** a eu un meilleur rendement de l'ordre de 7.7% lors de son travail effectué sur *Aframomum sceptrum* de la famille des zingibéracées par Soxhlet en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction.

Cette différence pourrait être expliquée d'une part par la méthode d'extraction utilisée, et d'autre part par certains paramètres qui peuvent influencer le taux d'extraction, à savoir : le solvant utilisé (l'éthanol, le méthanol et l'acétone sont les meilleurs extracteurs pour le Curcuma qui y présente une meilleure solubilité), la granulométrie (la finesse de la poudre conditionne la qualité de l'extraction), le rapport extrait / solvant, la durée et les conditions de stockage de la poudre végétale (**Telli et al., 2010**).

II. Les composés phénoliques

II.1. Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs totales en composés phénoliques de l'extrait éthanolique et des extraits des deux phases aqueuses et organiques de chloroforme et d'hexane de *Curcuma longa* ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (AG) dans une gamme de concentrations allant de 20 à 100 µg/ml (**Figure n°12**).

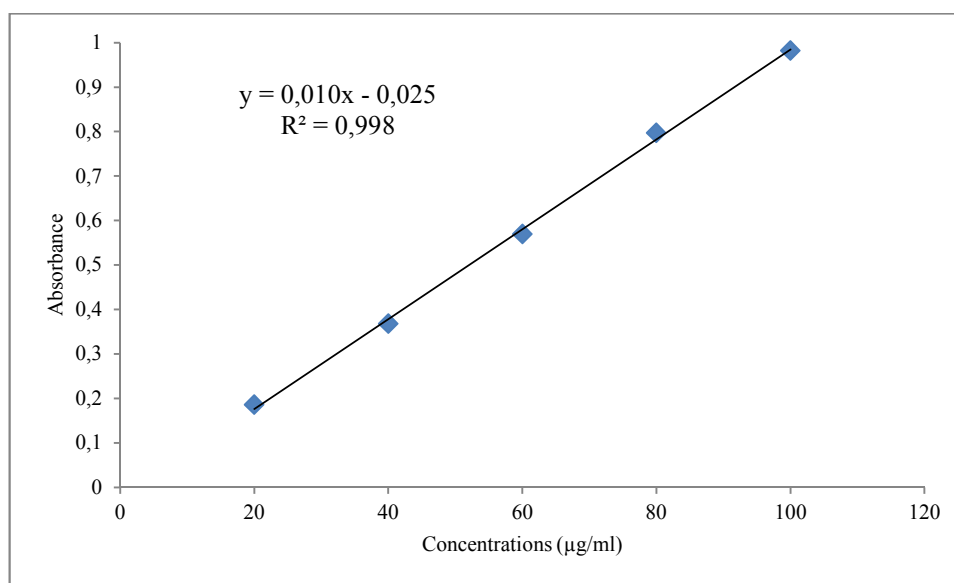


Figure n°12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les valeurs moyennes de la concentration en polyphénols totaux calculées à partir des absorbances à une longueur d'onde de 765 nm de tous les échantillons de *Curcuma longa* sont représentées dans la figure n°13.

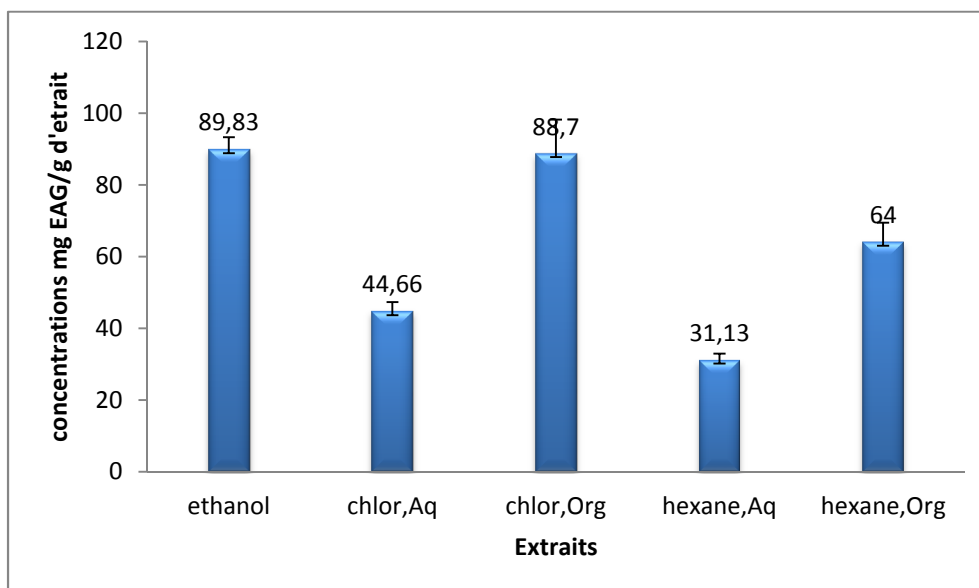


Figure n°13 : Représentation graphique des taux des phénols totaux des extraits de *Curcuma longa*

Les résultats montrent clairement que les deux extraits éthanolique et chloroformique organique possèdent une importante teneur en phénols totaux (89.83 et 88,7 mg EAG/ g d'extrait) comparé à l'hexane organique qui vient en 3^{ème} position avec une teneur de 64 mg EAG/g d'extrait. Le chloroforme et l'hexane aqueux quant à eux présentent des teneurs inférieures comparées aux précédentes avec des valeurs de 44.66 et 31.13 mg EAG/g d'extrait respectivement.

On pourrait expliquer la différence des taux des phénols totaux entre les deux extraits chloroforme et hexane par la capacité du chloroforme à extraire des flavonoïdes aglycones méthylés et peu hydroxylés (apolaires).

On constate également que les fractions organiques de chloroforme et d'hexane présentent des teneurs supérieures par rapport à leurs fractions aqueuses, ceci nous indique que *Curcuma longa* est une plante riche en composés qui présentent des polarités réduites.

Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par **Maizura et ses collaborateurs, (2011)** avec un taux de 0.67 mg EAG/g d'extrait de polyphénols totaux du jus frais du rhizome de la

plante sans addition de solvant. Cette technique ne permettant pas une extraction optimale des polyphénols.

Trinidad et al., (2012) ont également obtenu une teneur de 1.74 mg EAG/g d'extrait à partir d'une poudre de la même plante.

Ainsi, de manière générale, ces différences de concentrations pourraient être expliquées par certains facteurs qui peuvent influencer la teneur en phénols totaux tels que l'environnement, la période de récolte, le climat, les conditions de stockage ainsi que la méthode d'extraction utilisée (**Levizou et al., 2004**).

II.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de *Curcuma longa* est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la Quercétine (figure 14) dans une gamme de concentrations allant de 2.5 à 20 µg/ml.

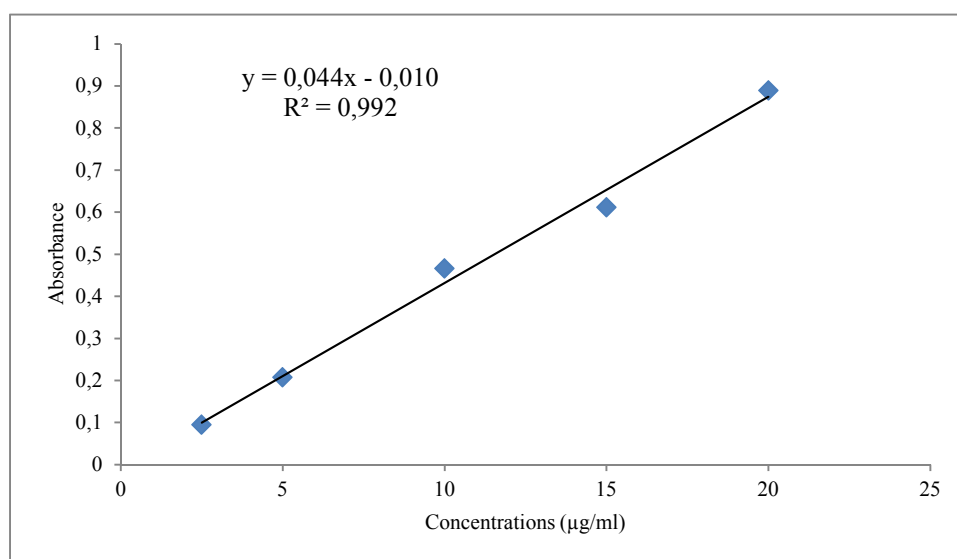


Figure n°14 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine

Les valeurs moyennes des concentrations en flavonoïdes des cinq extraits de notre plante, calculées à partir des valeurs des absorbances à une longueur d'onde de 430 nm sont représentées dans la figure n° 15.

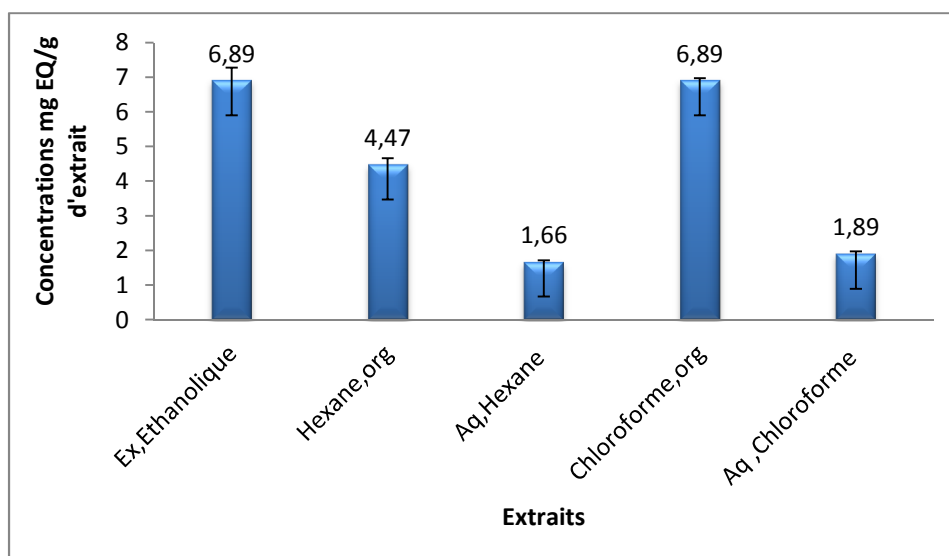


Figure n°15 : Représentation graphique des taux en flavonoïdes des extraits de *Curcuma longa*

Suivant les résultats obtenus, les taux des flavonoïdes semblent être assez importants pour les deux extraits organique de chloroforme et éthanolique par rapport aux autres extraits (6.89 mg équivalent Quercétine /g d'extrait), et les teneurs de l'hexane organique, du chloroforme aqueux et de l'hexane aqueux sont de 4.47, 1.89 et 1.66 mg équivalent Quercétine/ g d'extrait respectivement. Ces valeurs sont supérieures aux résultats obtenus par **Trinidad et al., (2012)** qui ont dosé un taux de 1.25 mg EQ/g de matière sèche de *Curcuma longa*. Cette différence pourrait être due au fait que leur étude a été réalisée sur des rhizomes de *Curcuma* pulvérisés et lyophilisés sans avoir subi d'extraction au préalable, cela a peut-être influencé la teneur en flavonoïdes.

Néanmoins, toutes ces valeurs restent assez faibles comparées aux phénols totaux. Cela pourrait être expliqué par le fait que les dosages ont été réalisés à partir des extraits obtenus du rhizome de *Curcuma* sachant que les flavonoïdes se localisent généralement dans les parties aériennes des végétaux vu qu'ils jouent un rôle important dans la protection contre rayonnements solaires.

II.3. Dosage des Proanthocyanidines (tanins condensés)

La teneur en tanins condensés de *Curcuma longa* est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine (figure 16) dans une gamme de concentrations allant de 150 à 300 µg/ml.

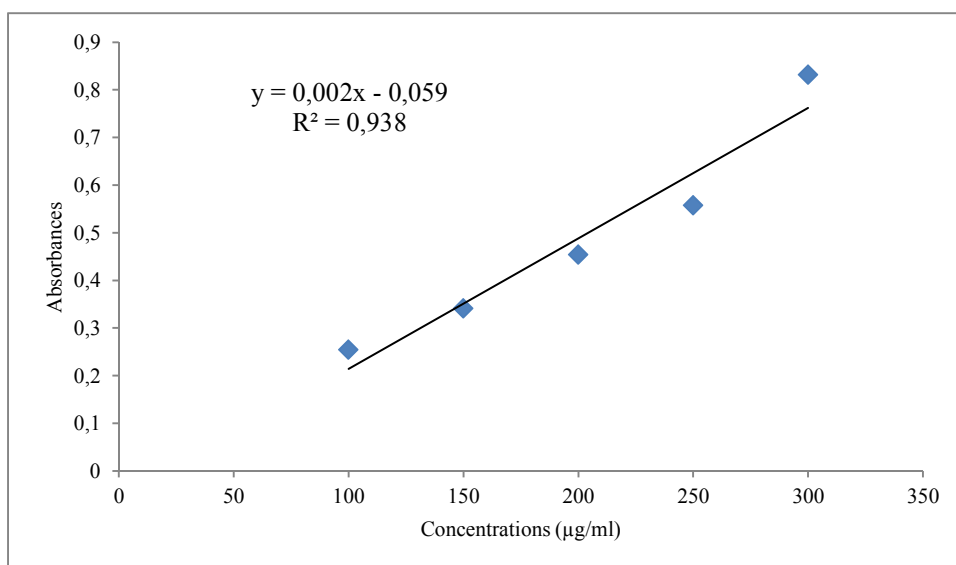


Figure n°16 : Courbe d'étalonnage de la Catéchine

Les valeurs moyennes des concentrations en proanthocyanidines des cinq extraits de notre plante, calculées à partir des valeurs des absorbances à une longueur d'onde de 500 nm, sont représentées dans la figure n° 17.

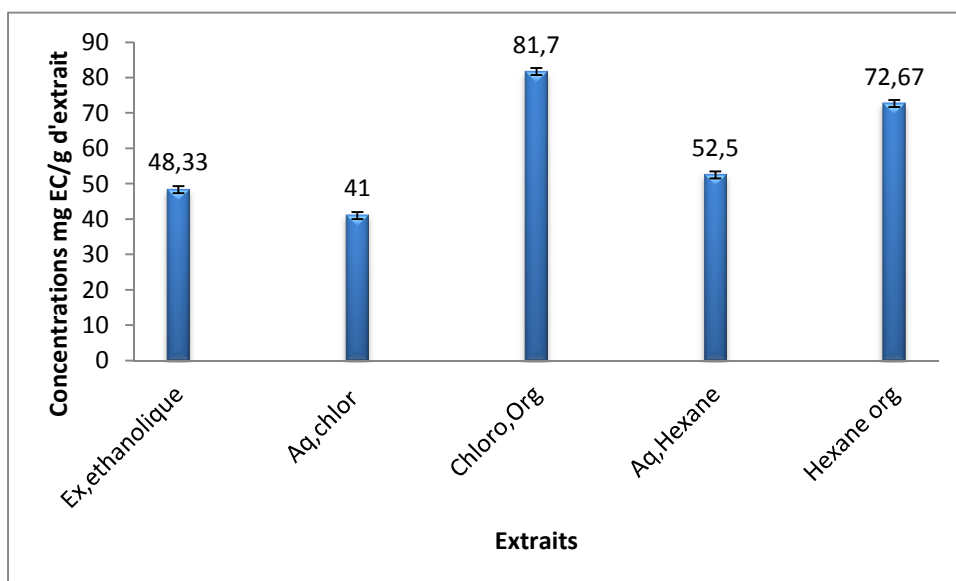


Figure n°17 : Représentation graphique des taux des proanthocyanidines des extraits de *Curcuma longa*

Les résultats des dosages réalisés ont révélé la présence de proanthocyanidines dans tous les extraits avec des proportions allant de 41 à 81.7 mg EC/g d'extrait.

On remarque également que l'extrait de chloroforme organique est plus concentré en tanins condensés que l'extrait éthanolique brut, ceci pourrait être expliqué à la fois par le fait que notre plante soit riche en tanins à haut poids moléculaire pouvant être complexés à d'autres molécules telles que des fibres, des protéines, des résines...etc (**Schofield et al., 2001**) et que la présence de plusieurs composés dans l'extrait éthanolique brut engendrerait un encombrement stérique empêchant ainsi la vanilline (réactif révélateur) de réagir avec les premières unités des polymères des proanthocyanidines (**Ba et al., 2010**).

Nos résultats se sont avérés supérieurs aux résultats obtenus par **Trinidad et al., (2012)** qui a obtenu un taux de 1.29 mg équivalent Catéchine / g d'extrait.

II.4. Dosage des Anthocyanes

Les anthocyanes pigments naturels, sont d'un intérêt particulier en raison de leur capacité à conférer une coloration rouge, orange, bleue et pourpre aux feuilles, fleurs et fruits (**Mol et al., 1998**).

La teneur en anthocyanes de *Curcuma longa* est calculée à partir de la formule décrite par **Lee et ses collaborateurs, (2005)** et a révélé une concentration de 3.09 mg/ g d'extrait équivalent en cyanidine-3-glucoside

Cette faible concentration s'avère être conforme à la littérature puisque d'après **Bruneton, (2009)**, les principes colorants du rhizome sont la curcumine et ses principaux dérivés.

III. Les activités biologiques

III.1. Activité antioxydant

L'activité antioxydant des extraits de *Curcuma longa* a été évaluée par deux méthodes : le test du DPPH et le test de l'ABTS.

III.1.1 Activité scavenging du radical DPPH

La mesure de l'efficacité d'un antioxydant par la méthode du DPPH se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH• (Figure n° 18), mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm **Popovici et al., (2009)**.

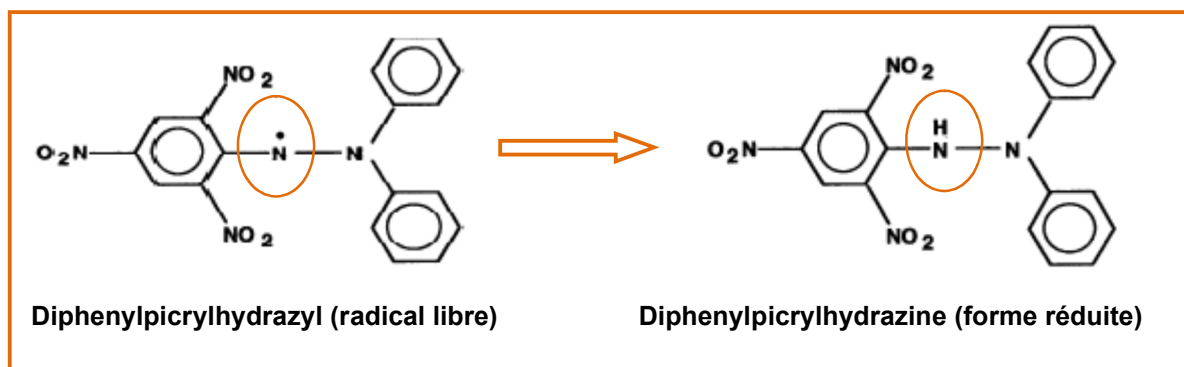


Figure n°18 : Formes oxydée et réduite du radical stable DPPH (Molyneux, 2004)

Les résultats de l'activité scavenging du radical DPPH des extraits de *Curcuma longa* à une concentration de 100µg/ml sont représentés dans la figure n° 19.

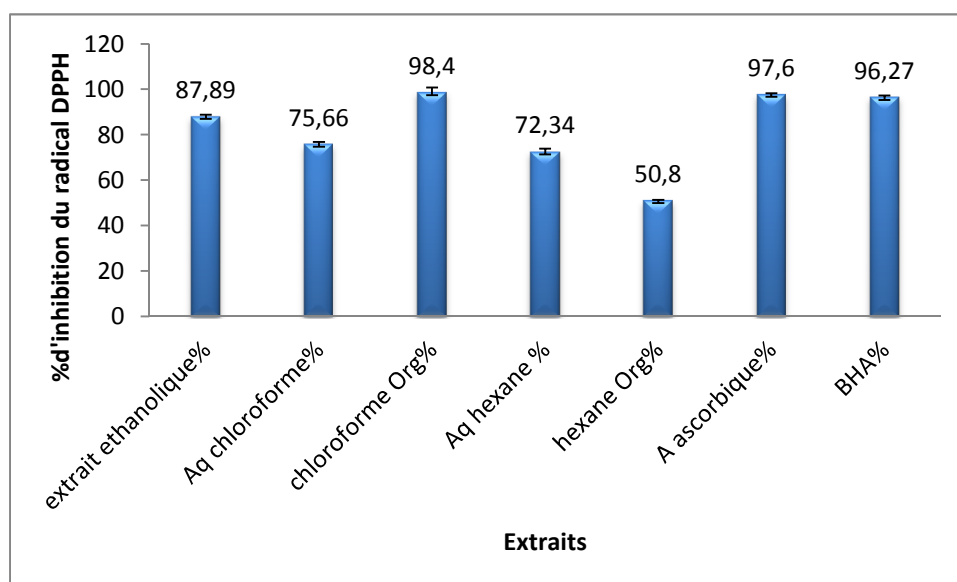


Figure n°19 : Pourcentages de l'activité scavenging du radical DPPH des extraits de *Curcuma longa* et des standards

A partir de cette figure, nous constatons que l'extrait du chloroforme organique présente une activité scavenging du radical DPPH supérieure à celles de l'acide ascorbique et de la BHA qui présentent des pourcentages de 97.6 et 96.27% respectivement (à 100µg/ml).

Nous remarquons également que le reste des extraits présentent une activité considérable avec des pourcentages qui varient entre 50,8 et 87,89%.

En effet, cela a été confirmé par une étude réalisée par **Jayaprakasha et ses collaborateurs, (2005)** qui a révélé que la Curcumine présente une bonne activité anti-radicalaire qui atteint

les 81,98%. Ce qui peut nous faire penser que dans le cas de nos extraits, la curcumine serait présente dans la fraction chloroforme organique.

Maizura et al., (2011) ont également obtenu un pourcentage d'inhibition de 64,6% pour le jus extrait du rhizome de la même espèce. Cette valeur étant inférieure à la nôtre peut être due au fait que l'extraction s'est effectuée sans addition de solvants extracteurs de substances bioactives responsables des activités biologiques.

Il est à noter que c'est l'extrait du chloroforme organique qui a montré la plus forte activité ce qui rejoint les résultats du dosage des flavonoïdes et des proanthocyanidines, ces molécules étant de puissants agents antioxydants donneurs d'électrons et de protons.

La figure n°20 représente les pourcentages de l'activité scavenging du DPPH de l'extrait du chloroforme organique à différentes concentrations allant de 2 à 10 μ g/ml.

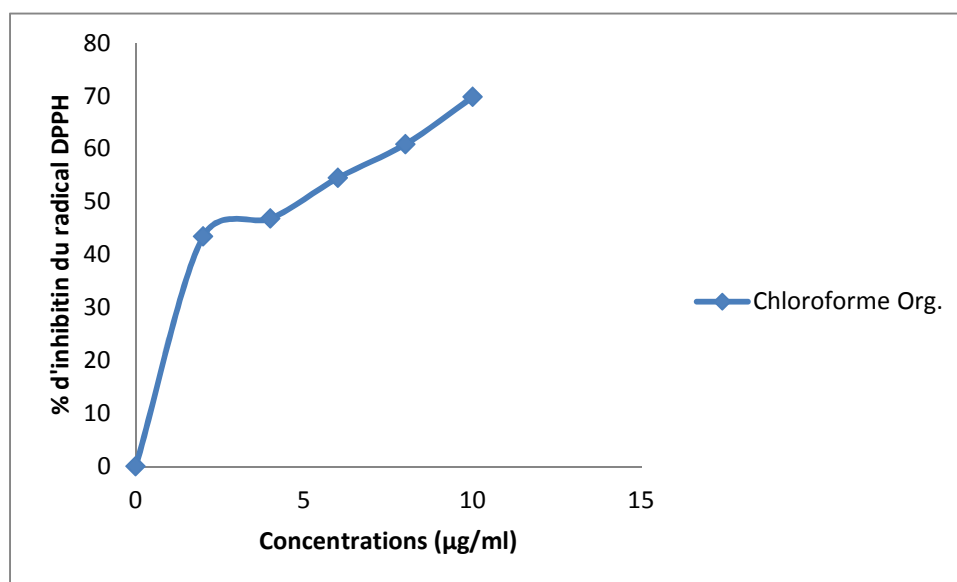


Figure n°20 : Activité scavenging du DPPH de l'extrait du chloroforme organique de *Curcuma longa* à différentes concentrations

D'après les résultats obtenus, nous constatons en premier lieu que l'activité anti-radicalaire de l'extrait augmente en fonction de la concentration.

Pour l'extrait du chloroforme organique, l'effet scavenging du DPPH varie de 43,44 % à 69,83% dans une gamme de concentrations allant de 2 μ g à 10 μ g d'extrait /ml de méthanol. La concentration inhibitrice ou l'IC₅₀ exprime la quantité d'antioxydants requise pour

diminuer la concentration du radical de 50%. Plus L'IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydant du composé testé est importante (Villano *et al.*, 2007).

Les IC₅₀ de l'extrait du chloroforme organique et des standards BHA et Acide Ascorbique sont représentées dans le tableau n° VI.

Tableau n° VI : Valeurs des IC₅₀ de l'extrait de chloroforme organique et des standards BHA et Acide Ascorbique.

| Extrait | IC ₅₀ µg/ml |
|-----------------------|------------------------|
| BHA | 0.87 |
| Acide Ascorbique | 1.63 |
| Chloroforme organique | 3.54 |

L'extrait du chloroforme organique a donné une IC₅₀ de l'ordre de 3,54 µg/ml, cette valeur est supérieure aux IC₅₀ des standards, néanmoins, il reste satisfaisant et fait de lui un puissant antioxydant.

Ce résultat est inférieur à celui obtenu par **Cheikh Ali, (2012)** avec une IC₅₀ de 15.97 µg/ml lors de son étude sur l'activité antioxydant par DPPH du rhizome d'*Aframomum Sceptrum* (espèce de la même famille que Curcuma).

III.1.2. Activité anti-radicalaire de l'ABTS

Les résultats du test ABTS de l'activité antioxydant des extraits de *Curcuma longa* et du standard Trolox à une concentration de 100µg/ml sont représentés dans la figure n° 21

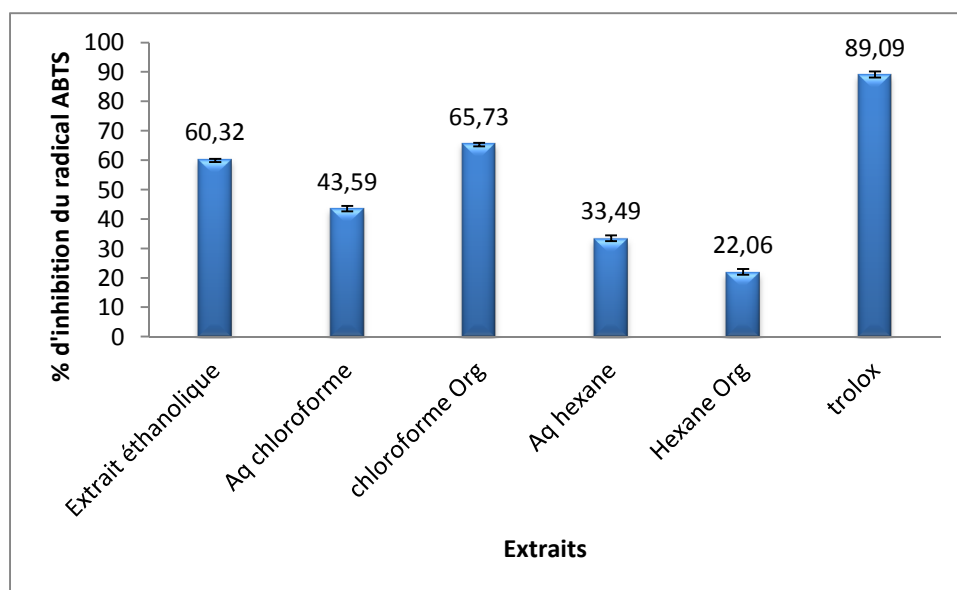


Figure n°21 : Pourcentages de l'activité anti radicalaire par ABTS des extraits de *Curcuma longa*

A partir de cette figure, nous constatons que tous les extraits présentent une activité anti radicalaire inférieure à celle exprimée par le standard à une concentration de 100µg/ml.

L'extrait du chloroforme organique et l'extrait éthanologique viennent en tête avec des pourcentages de 65,73% et 60,32% respectivement, quant au reste des extraits, ils présentent des valeurs moindres et varient entre 22,06% et 43,59%.

La capacité antioxydante exprimée en équivalent Trolox (TEAC), correspond à la concentration du Trolox ayant la même activité que la substance à tester à une certaine concentration. Ainsi, plus la valeur TEAC est élevée, plus l'antioxydant est efficace (Schlesier et al., 2002).

Le résultat est donné en mg équivalent Trolox/ g d'extrait (tableau n° VII)

Tableau n° VII : Capacités antioxydantes exprimées en équivalent trolox

| Extrait | Concentrations mg E trolox/g d'extrait |
|-----------------------|--|
| Extrait éthanolique | 671.94 |
| Chloroforme organique | 732.20 |
| Chloroforme aqueux | 485.57 |
| Hexane organique | 245.74 |
| Hexane aqueux | 373.06 |

Les extraits éthanolique et chloroforme organique ont montré le TEAC le plus élevé ce qui implique qu'ils possèdent l'activité anti ABTS la plus efficace.

La figure n°22 représente les pourcentages d'inhibition des extraits éthanolique et de chloroforme organique du *Curcuma longa* à différentes concentrations allant de 20 à 120 µg/ml de méthanol.

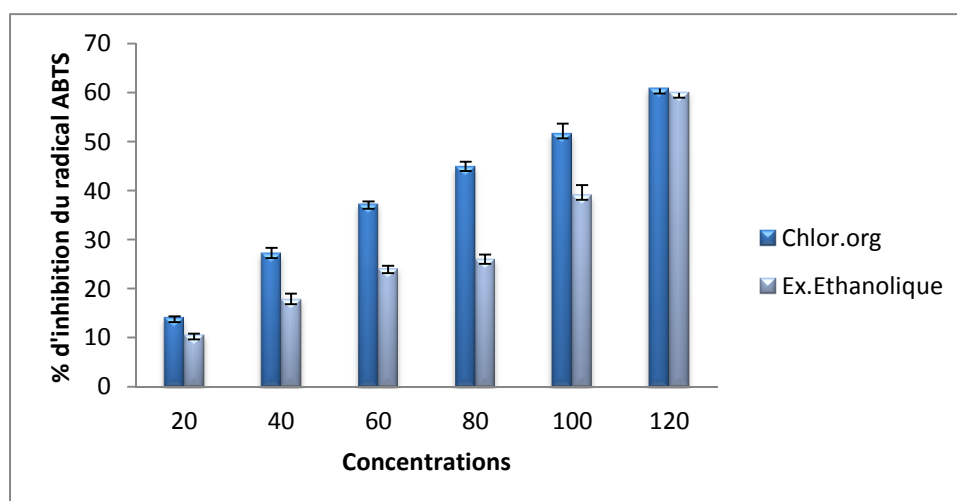


Figure n°22 : Pourcentages d'inhibition des extraits éthanolique et chloroforme organique de *Curcuma longa* à différentes concentrations

La figure n°23 représente les pourcentages d'inhibition des extraits d'hexane aqueux et organique et l'aqueux du chloroforme à concentrations allant de 100 à 1100 µg/ml de méthanol.

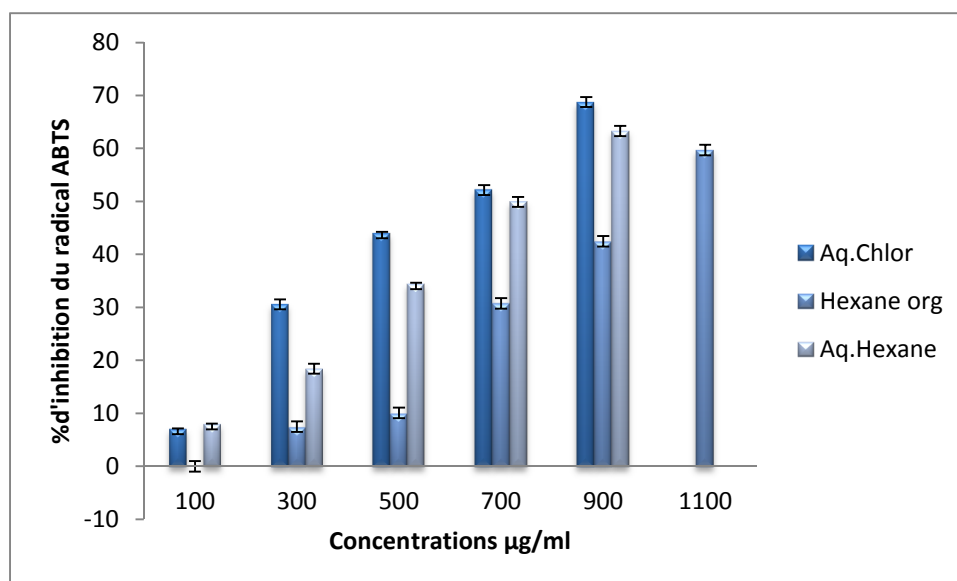


Figure n°23 : Pourcentages d'inhibition des extraits d'hexane aqueux et organique et du chloroforme aqueux de *Curcuma longa* à différentes concentrations

Une vue générale de la représentation graphique des extraits nous permet de constater que les pourcentages d'inhibition augmentent proportionnellement avec l'augmentation des concentrations des extraits.

Selon les résultats rapportés dans les travaux de **Simay et ses collaborateurs, (2008)**, où ils ont obtenu un pourcentage d'inhibition de 80%, nous déduisons que notre résultat est légèrement inférieur au leur, cela pourrait s'expliquer par le solvant utilisé (dichlorométhane) ou les conditions de travail. Les IC_{50} des extraits de *Curcuma longa* sont regroupées dans le tableau n° VIII.

Tableau n° VIII: Valeurs des IC_{50} des extraits de *Curcuma longa*.

| Extraits | IC_{50} $\mu\text{g/ml}$ |
|-----------------------|----------------------------|
| Ethanolique | 119.19 |
| Chloroforme organique | 92.62 |
| Chloroforme Aqueux | 465.67 |
| Hexane organique | 705.9 |
| Hexane aqueux | 681.67 |

L'extrait du chloroforme organique présente la plus petite IC_{50} (92,62 $\mu\text{g/ml}$) par rapport aux autres extraits, ce qui lui confère donc la meilleure efficacité anti-ABTS sachant que, plus l' IC_{50} d'un composé sera négligeable meilleure sera son activité antioxydant.

L'ordre d'efficacité est donc le suivant : Chloroforme Organique > Extrait éthanolique > Chloroforme Aqueux > Hexane Aqueux > Hexane Organique.

En termes de comparaison entre les deux tests d'évaluation de l'activité antioxydant, c'est le test par DPPH qui a donné la meilleure activité anti radicalaire pour l'extrait du chloroforme organique avec une IC_{50} de 3, 54 $\mu\text{g/ml}$ qui est largement inférieure à celle obtenue par le test d'ABTS.

En comparant entre les deux tests effectués (DPPH et ABTS) pour l'évaluation de l'activité antioxydant, nous relevons une différence assez importante entre les résultats obtenus.

De manière générale, parmi tous les extraits de *Curcuma longa* testés, le chloroforme organique est de loin celui qui a montré l'activité antioxydant la plus efficace.

III.2 L'activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne des extraits de *Curcuma longa* a été testée vis-à-vis de quatre souches bactériennes (*E.coli*, *Bacillus Subtilis*, *Staphylococcus Aureus* et *Salmonelle Typhymurium*) via la méthode de diffusion des disques. Les résultats révèlent que l'extrait du chloroforme organique exerce l'effet le plus important avec une zone d'inhibition qui atteint 15,8mm de diamètre.

Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induite par tous les extraits sont regroupés dans le tableau n°XI.

Tableau n° IX: Activité antibactérienne des extraits de *Curcuma longa*

| Diamètre de zones d'inhibition en mm | | | | | | | | |
|--------------------------------------|-------------------------------|-------------|--------------------|-----|-----|-----|------|------|
| Gram | Souche bacterienne | Extrait | Dilution 100 mg/ml | | | | | |
| | | | pure | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 | 1/32 |
| Négatif | <i>Escherichia coli</i> | Ethanolique | 8,1 | 7,9 | 7,5 | 7 | 0 | 0 |
| | | Aq chlor | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | chloroforme | 9 | 8,8 | 8,8 | 8,7 | 8,5 | 8,4 |
| | | Aq hexane | 8 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | <i>Salmonella typhimurium</i> | Ethanolique | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Aq chlor | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | chloroforme | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Aq hexane | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Positif | <i>Bacillus Subtilis</i> | Ethanolique | 7,9 | 7,4 | 7,4 | 0 | 0 | 0 |
| | | Aq chlor | 8 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | chloroforme | 15,8 | 12 | 8,2 | 5,7 | 0 | 0 |
| | | Aq hexane | 10 | 8 | 7,5 | 0 | 0 | 0 |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | Ethanolique | 9 | 8 | 8 | 7,5 | 7,4 | 7 |
| | | Aq chlor | 11,9 | 10 | 10 | 0 | 0 | 0 |
| | | chloroforme | 14 | 11 | 8,8 | 8 | 7,8 | 7,5 |
| | | Aq hexane | 12 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 |

- ✚ *Salmonella typhimurium* n'a montré aucune sensibilité vis-à-vis de l'ensemble des extraits mis à part l'extrait brut éthanolique avec une zone d'inhibition de 11mm. Cela pourrait être dû soit à la concentration insuffisante en polyphénols, soit à la résistance de cette souche contre l'action antimicrobienne de ces composés.
- ✚ *Escherichia coli* s'est montré assez sensible vis-à-vis de l'ensemble des extraits mis à part l'extrait du chloroforme aqueux. Les zones d'inhibition sont équivalentes avec une moyenne de 8 mm. Nos résultats ne sont pas conformes aux résultats obtenus par **Simay et ses collaborateurs, (2008)** qui n'ont eu aucune activité antimicrobienne vis-à-vis de cette souche. Cela pourrait s'expliquer par les concentrations utilisées (25 à 200µg/ ml) qui sont inférieures aux nôtres où bien à la différence du protocole d'extraction utilisé, ou encore au type de métabolites secondaires que contient la plante.
- ✚ *Bacillus subtilis* a montré une grande sensibilité vis-à-vis de l'extrait du chloroforme organique pur avec une zone d'inhibition atteignant les 15,8 mm et représentent la plus grande activité antimicrobienne par rapport aux autres extraits dont les zones d'inhibition varient entre 7 et 10mm.
Ceci a été confirmé par **Naz et ses collaborateurs, (2010)** lors d'une étude de l'activité antimicrobienne du Curcuma vis-à-vis de cette même souche avec une zone d'inhibition de 10mm.
- ✚ *Staphylococcus aureus* a également montré une sensibilité notable vis-à-vis de tous les extraits avec un pic de 14 mm pour l'extrait de chloroforme organique.
On remarque que tous les extraits ont eu un effet similaire avec ces deux souches à Gram positif (avec des différences de l'ordre de 1mm).
Cela est en accord avec les résultats obtenus par **Naz et ses collaborateurs, (2010)** qui ont mis en évidence l'efficacité antibactérienne de la curcumine et de l'huile essentielle extraite de *Curcuma longa* avec des zones d'inhibitions de 12,2 et 10 mm respectivement vis-à-vis des deux souches précitées.
- ✚ Témoins positifs : Prolifération des souchesensemencées.
- ✚ Témoins négatifs : Aucune culture n'a été observée sur les boîtes de Pétri.

Chapitre IV: Résultats et discussions

Les CMI représentent les concentrations minimales auxquelles apparaissent des zones d'inhibition et varient entre 3.125 à 100mg/ml. Elles sont déduites d'après les calculs des diamètres des zones d'inhibition illustrés dans le tableau n° IX.

Les CMB représentent les concentrations minimales auxquelles les souches sont tuées (effet bactéricide).

Les résultats des CMI et des CMB sont représentés dans le tableau n° X.

Tableau n° X : CMI et CMB de *Curcuma longa* (en mg/ml)

| | Gram négatif | | | | Gram positif | | | |
|----------------|---------------|-------|-------------------------------|-----|------------------------------|-------|--------------------------|------|
| | <i>E.coli</i> | | <i>Salmonella typhymurium</i> | | <i>Staphylococcus aureus</i> | | <i>Bacillus subtilis</i> | |
| | CMB | CMI | CMB | CMI | CMB | CMI | CMB | CMI |
| E.éthanolique | / | 12.5 | / | 100 | 100 | 3.125 | / | 25 |
| Chloroforme | 100 | 3.125 | / | / | 100 | 3.125 | / | 12.5 |
| Aq chloroforme | / | / | / | / | / | 25 | / | 50 |
| Aq hexane | / | 50 | / | / | / | 50 | / | 25 |

La plupart des extraits ont manifesté un effet bactériostatique vis-à-vis des souches testées mis à part l'extrait du chloroforme organique et l'extrait éthanolique purs (non dilués) qui ont exercé tous les deux un effet bactéricide vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. D'autre part, seul l'extrait du chloroforme pur a exercé ce même effet à l'égard d'*E. Coli* (Annexe n° 5).

Conclusion

L'objet du présent travail a porté sur l'étude des activités antioxydant et antimicrobienne de *Curcuma longa*.

Les résultats du dosage des composés phénoliques totaux, à partir des extraits obtenus, ont clairement montré que tous les extraits de Curcuma possèdent des concentrations appréciables en ces composés, néanmoins, les extraits éthanolique et chloroforme organique présentent les plus fortes teneurs (89.83 et 88.7 mg EAG/g d'extrait respectivement).

L'évaluation de l'activité antioxydant par les deux tests DPPH et ABTS a révélé que tous les extraits présentent un important potentiel antioxydant, avec la prédominance de l'extrait du chloroforme organique qui montre des pourcentages d'inhibition de 98.4% et 65.73% respectivement.

Ces résultats indiquent donc que le Curcuma est une source riche en molécules à effet antioxydant et confirment de ce fait les données retrouvées dans la littérature.

L'évaluation de l'effet antibactérien des extraits de Curcuma a permis d'affirmer qu'elle a un pouvoir inhibiteur vis-à-vis de toutes les souches testées : *E.coli*, *Staphylococcus Aureus*, *Bacillus subtilis*, et *Salmonella Thiphymurium*. Mis à part cette dernière bactérie qui s'est montrée résistante à l'égard de tous les extraits à l'exception de l'extrait éthanolique à l'état pur. Ainsi, on conclut que la plante testée est dotée d'une activité antimicrobienne non négligeable.

Ces données préliminaires donnent un aperçu intéressant sur les capacités des différents extraits de *Curcuma longa* à exercer un effet antioxydant et antimicrobien.

A présent, il serait plus intéressant de procéder à une étude toxicologique afin de s'assurer de son innocuité, puis à la séparation et la caractérisation des différentes substances présentes dans ces extraits, et de déterminer lesquelles d'entre elles sont responsables de ces activités par des techniques telles que CCM, HPLC et RMN.

Par la suite essayer de réaliser ces tests *in vivo* afin de s'assurer de l'efficacité des extraits ou des constituants biochimiques isolés.

Enfin, exploiter les autres métabolites que contiennent cette plante et ses différentes parties.

« A »

Abdou Bouba, A., Njintang , Y.N., Scher, J. & Mbofung, C.M.F. (2010). Phenolic compounds and radical scavenging potential of twenty Cameroonian spices. *Agric Biol.J.N.Am*, **1**(3): 213-224.

Adedapo, A. A., Jimoh, F.O., Afolayan, A. J. & Masika, P. J. (2009). Antioxidant Properties of the Methanol Extracts of the Leaves and Stems of *Celtis Africana*. *Records of natural products*, **3**(1): 23-31.

Aggarwal, B. B., Sundaram, C., Malani, N. & Ichikawa, H. (2007). Curcumin: the Indian solid gold. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **59**: 51-75.

« B »

Ba, K., Tine, E., Destin, J., Cissé, N. & Thonart, P. (2010). Etude comparative des composés phénoliques du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, **14**(1) : 131-139.

Bassole, H.N., Kabore, Z.I. & Traore, A.S. (2001). Etude des profils bactériostatiques et bactéricides d'extraits végétaux vis-à-vis de germes pathogènes impliqués dans la contamination des denrées alimentaires d'origine animale. *Pharm Med Trad Afr*, **11**:113-122.

Bérubé- Gagnon, J.B. (2006). Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*, mémoire présenté à l'Université du Québec Chicoutimi. *Sc. Chimie*. **45** (5) : 113-128.

Boizot, N. & Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le cahier des techniques de l'INRA - N° spécial : 79-82.

Bouzouita, N., Kachouri F., Ben Halima, M. & Chaabouni M. M., (2008). Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*. **10** : 119-125.

Bruneton, J. (2009). Composés phénoliques shikimates et acétates In Pharmacognosie Phytochimie des plantes médicinales. 3^{ème} Edition. Lavoisier Tec&Doc, Paris, pp : 135-142.

Bubonja-Sonje, M., Giacometti, J. & Abram, M (2011). Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*, **127**: 1821-1827.

« C »

Carpenter C.F. & Chambers H.F. (2004). Daptomycin: another novel agent for treating infections due to drug-resistant gram-positive pathogens. *Clinical Infectious Diseases*, **38**: 994-1000.

Cheikh Ali, Z. (2012). Études chimiques et biologiques d'*Aframomum sceptrum* (Zingiberaceae) et de la curcumine. Thèse de doctorat en pharmacie. *Université Paris-Sud*, 160p.

Chiang, H.C., Lo, Y.J. & Lu, F.J. (1994). Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *Alsophila spinulosa* (Hook) Tryon. *Enzyme Inhibition*, **8** (1): 61-71.

Chu, W.L. ., Lim Y.W, Radhakrishnan, A. K. & Lim P. E. (2010). Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **10** (53): 2-8.

Cowan, M.M. (1999). Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, **12** (4): 564-582.

« D »

Daayf, F. & Lattanzio, V. (2008). Recent advances in polyphénol research. *Blackwell publishing, Singapore*, p: 1.

Daglia, M. (2011). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, **23**: 1-8.

« F »

Favier, A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108 - 115.

Favier, A. (2007). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales pharmaceutiques Françaises*, **64** (6) : 390-391.

« G »

Garnero, P. (1996). Huiles essentielles *In* Techniques de l'ingénieur. Ed.Tec&Doc. Paris. K34.

Goel, A., Kunnumkara B. & Aggarwal, B.B. (2008). Curcumin as "Curecumin": From kitchen to clinic. *Biochem. Pharmacol*, **75**: 787 – 809.

Grubben, G.J.H. (2005). *Curcuma longa* *In* ressources végétales de l'Afrique tropicale 3.Colorants et tanins. *Prota, Backhuys publishers/CTA Wageningen, Pays bas*, pp: 76-83.

« H »

Halliwel, B. (1999). Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxydant: the biomarker concept. *Nutr. Rev.* **57** : 104-113.

Hombourger, C. (2010). Le *Curcuma longa*, de l'épice au médicament. Thèse de doctorat en pharmacie. *Université Henri Poincaré-Nancy1*, 222p.

Hu, F.B. (2003). Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview. *American Journal of Clinical Nutrition*, **78** : 544-551.

« J »

Jayaprakasha, G.K., Jagannohan Rao,L.& Sakariah,K.k. (2005). Antioxydant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Food chemistry*, **98**:720-724.

« K »

Ketsawatsakul, U., Whiteman, M. & Halliwel B (2000). A reevaluation of the peroxynitrite scavenging activity of some dietary phenolics. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **279**: 692-699.

Kouamé, J., Gnoula, C., Palé, E., Bassolé, H., Guissou, I.P., Simporé, J. & Nikiéma, J.B. (2009). Etude des propriétés cytotoxiques et anti-radicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis* J. F. Gmel (Combretaceae). *Sci & tech, Sciences de la santé*, **32** : 9 - 23.

« L »

Laguerre, M., Lecomte, J. & Villeneuve, P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research*, **46**: 244-282.

Lee, J., Barnes, K.W., Eisele, T., Giusti, M.M., Haché, J., Hofsommer, H., Koswig, S., Krueger, D.A., Kupina, S., Martin, S.K ; Martinsen, B.K ; Miller, T.C; Paquette, F; Ryabkova, A ; Skrede, G; Trenn,U. & Wightman, J.D. (2005).Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices beverages natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *AOAC international*, **88**:1269-1278.

Le, K., Chiu, F. & Ken, N.G. (2007). Identification and quantification of antioxydants in Fructus lycii. *Food Chemistry*, **105**: 353-363.

Levizou, E., Petropoulou, Y. & Manetas, Y. (2004). Carotenoid composition of peridermal twigs does not fully conform to a shade acclimation hypothesis. *Photosynthetica*, **42**(4): 591 - 596.

« M »

Maizura, M., Aminah, A. & Wan Aida, W.M. (2011). Total content and antioxydant activity of kesum (polygonom minus), ginger (zingiber officinale) and turmeric (Curcuma longa) extract. *Internation food research journal*, **18**: 529-534.

Maritim, A.C., Sanders, R.A. & Watkins, J.B. (2003).Diabetes ,oxidative stress, and antioxidants. *Biochem Mol Toxicol*, **17**(1):24-38.

Mesa, M. D., Ramirez-Tortosa, M.C., Aguilera, C.M., Ramirez-Bosca, A. & Gil, A. (2000). Efectos farmacologicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa L* y de los curcuminoides. *Ars pharmaceutica*, **41**(3): 307-321.

Mol, J., Grotwold, E. & Koes, R. (1998). How genes paint flowers and seeds. *Trends plant sci.* **3**: 212-217.

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn. J. Sci. Technol.*, **26**(2): 211 - 219.

« N »

Naz, S., Jabeen, S., Manzoor, F., Aslam, F. & Ali, A. (2010). Antibacterial activity of *Curcuma longa* varieties against different strains of bacteria. *Pak.J.Bot*, **42**(1): 4555-462.

Nicole, M. & Maudet, M. (2000). Le curcumin. *Medecine et nutrition*, **41**(3) : 135-145.

Nkhili, E. (2009). Polyphénols de l'alimentation, extraction, interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Thèse en cotutelle pour le doctorat de Sciences des Aliments. *Université Cadi-Ayyad, faculté des sciences Semlalia Marrakech et Université d'Avignon et des pays de Vaucluse. Ecole doctorale 306-SPSA- Montpellier*. 378p.

« P »

Pastre, J.O.C. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de docteur vétérinaire. *Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse*. 120p.

Pelli, K. & Ily, M. (2003). Radicaux libres et stress oxydatif ; *In les antioxydants dans l'alimentation* ; INRA, Paris. Pp : 4-6.

Pincemail, J., Karine, B., Karine, C. & Jean-Olivier D. (2002). Mécanismes Physiologiques de la Défense Antioxydante. *Physiological Action of Antioxidant Defences. Nutrition Clinique et Métabolisme*. **16** (6) : 233-239.

Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K. & Defraigne, J.O. (2008). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, **16** : 233 – 239.

Popovici, C., Saykova, I. & Bartosz, T. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *e-Revue de génie industriel*, **4** : 1313 - 8871.

Portes, E. (2008). Synthèse et étude de tetrahydrocurcuminoïdes : propriétés photochimiques et antioxydantes, application à la préservation de matériaux d'origine naturelle. Thèse de docteur en chimie organique. *Ecole doctorale des sciences chimiques Bordeaux I*, 244p.

« Q »

Quezel, P. & Santa, S. (1963). Nouvelle Flore d'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Ed. Centre national de la Recherche Scientifique.

« R »

Ramsewak, R.S., De Witt, D.L. & Nair, M.G. (2000). Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of curcumins I-III from *Curcuma longa*. *Phytomedicine*, **7**(4): 303 – 308.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggebnte, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Science Inc*, **26**:1231-1237.

Ribereau-Gayon, P. (1968). Notions générales sur les composés phénoliques des Végétaux. Dunod, Paris, pp: 105-133.

Rivera- Espinoza, Y. & Muriel, P. (2009). Pharmacological actions of curcumin in liver diseases or damage. *Pub.Med*, **29**(10): 1457-1466.

Rohini, S., Mehta, A., Mehta, P. & Shukla, K. (2011). Anthelmintic activity of rhizome extracts of *Curcuma longa* and *zingiber officinale* (zingiberacea). *Int.J.Pharm.Pharm.Sci*, **3**(2): 236-237.

Rousseau, N. (2007). Les antioxydants à la loupe. *Chimie nouvelle*. **87** :118-119.

« S »

Sandhar, H. K., Kumar, B., Prasher, S., Tiwari, P., Salhan, M. & Sharma, P. (2011). A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, **1** (1), 25-41.

Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, **30** : 3875-3883.

Simay, C., Erkan, M. & Hasibe, Y. (2008). Biological activity of curcuminoides isolated from *Curcuma longa*. *Rec.Nat.Prod*, **2**(1): 19-24.

Schlesier, K., Harwat, M., Bohm, V. & Bitsch, R. (2002). Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Radical Research*, **36**: 177–187.

Schofield, P., Mbugua, D.M. & Pell, A.N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and technology*, **91**: 21-40.

Sohretoglu, D., Sakar, M.K., Ekizoglu, M. & Ozalp, M. (2007). Free radical scavenging and antimicrobial activities of three Geranium species growing in Turkey. *Fabad J.Pharm.Sci*, **32**: 59-63.

Storm, D. R., Rosenthal, K.S., & Swanson, P. E. (1977). Polymyxin and related peptide antibiotics. *Annual Review of Biochemistry*, **46**: 723-763.

« T »

Tang, S. Y. & Halliwell, B. (2010). Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **394**: 1-5.

Telli, A., Mahboub, N., Boudjeh, S., Siboukeur, O.E.K. & Moulti-mati, F. (2010). Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L) variété ghars, *Annales des Sciences et Technologie*, **2(2)**: 107 - 114.

Thomas, S.R., Chen, K. & Keaney, J.F. (2003). Oxidative stress and endothelial nitric oxide bioactivity. *Antioxid Redox Signal. Mary Ann liberty publishers*, **5 (2)**:94-181.

Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2004). Microbiology: An Introduction. Pearson 8ème édition, pp. 150-152.

Trinidad, P.T., Sagum, R.S., De leon, M.P., Mallillin, A.C. & Borlagdan, M.P. (2012). *Zingiber officinale* and *Curcuma longa* as potential functional food/ingredients. *Food and Public Health*, **2(2)**:1-4.

« V »

Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M.T.D., Mazura, M. & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **39**: 44 - 84.

Vaquier, A.R.L. (2010). Intérêt d'un nouveau nutriment à visée anti-inflammatoire dans la gestion des troubles locomoteurs chez le cheval : aspects bibliographiques et étude clinique. Thèse pour le doctorat vétérinaire. *Ecole nationale vétérinaire d'Alfort*, 199p.

Verdan, A.M., Wang, H.C., García, C.R., Henry, W.P. & Brumaghim, J.L (2011). Iron binding of 3-hydroxychromone, 5-hydroxychromone, and sulfonated morin: Implications for the antioxidant activity of flavonols with competing metal binding sites. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **105**: 1314-1322.

Villano, D., Fernandez-Pachon, M.S., Moya, M.L., Troncoso, A.M. & Garcia- Parrilla, M.C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, **71**: 230 - 235.

« W »

Wilkins, T.D., Holdeman , L.V., Abramson, I.J. & Moore,W.E.C. (1972). Standardized single disc method for antibiotic bacteria. *Antimicrobial agents &chemiotherapy*, **1(6)**:451-459.

« Y »

Yala, D., Merad, A.S., Mohamedi, D. & Ouar Korich, M.N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, n° 91.

Yap, C.F., Ho, C.W., Wan Aida, W.M., Chang, S.W., Lee, C,Y.& Leong, Y,S.(2005). Optimization of extraction conditions of total phenolic compounds from star fruits (*Averrhoa carambola* L.) residues. *Sains Malaysiana*, **38(4)**: 511-520.

Annexes

Annexe n° 1 : Produits et matériel utilisés

1- Appareillage :

- Agitateur
- Autoclave
- Bain Marie Bensen
- Balance de précision
- Balance analytique
- Bec Bensen
- Etuve MEMMERT
- Four Pasteur
- pH mètre
- Spectrophotomètre UV visible
- Tamiseur
- Vortex

2- Produits Chimiques :

- ABTS
- Acide Ascorbique
- Acide Chlorhydrique (Hcl)
- Acide Gallique
- BHA
- Carbonate de Sodium ($\text{Na}_2 \text{CO}_3$)
- Catéchine
- Chloroforme
- Chlorure d'Aluminium (AlCl_3)
- DMSO
- DPPH à 0.008% : 8mg/100ml de méthanol
- Eau distillée
- Eau physiologique
- Ethanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$) à 99%
- Folin Ciocalteu à 10%
- Gélose nutritive
- Hexane
- Méthanol (CH_3OH) 99%
- Muller Hinton
- Sulfate de Sodium Anhydre
- Quercétine

Annexe n°2 : Préparation des solutions

Préparation ABTS (Pour 7mM) :

- 72mg d'ABTS+ 20ml d'eau distillée → Agitation ;
- Ajout de 13.24mg de Persulfate de Potassium, bien agiter ;
- Incubation durant 12 à 16h à T°c ambiante à l'abri de la lumière ;
- Mettre au réfrigérateur pour arrêter la réaction.

Préparation de solution tampon Kcl à 0.025M :

- 1.86g de Kcl + 980 ml d'eau distillée ;
- Ajuster le pH à 1 ;
- Ajuster le volume à 1L d'eau distillée.

Préparation de solution tampon Acétate de Sodium à 0.4M :

- 54.43 g d'Acétate de Sodium + 960 ml d'eau distillée ;
- Ajuster le pH à 4.5 ;
- Ajuster le volume à 1L d'eau distillée.

Préparation de l'eau physiologique :

- 9g de Nacl (Chlorure de sodium) + 1L d'eau distillée ;
- Agitation magnétique jusqu'à dissolution complète ;
- Ajuster le pH à 7.2 ;
- Mettre à l'autoclave durant 30 min.

Préparation de la gélose :

- 38g de poudre MH déshydratée + 1 volume d'eau, agitation magnétique à 250°c;
- Ajuster le volume à 1L d'eau distillée ;
- Ajuster le pH à 7.6 ;
- Mettre à l'autoclave durant 30 min.

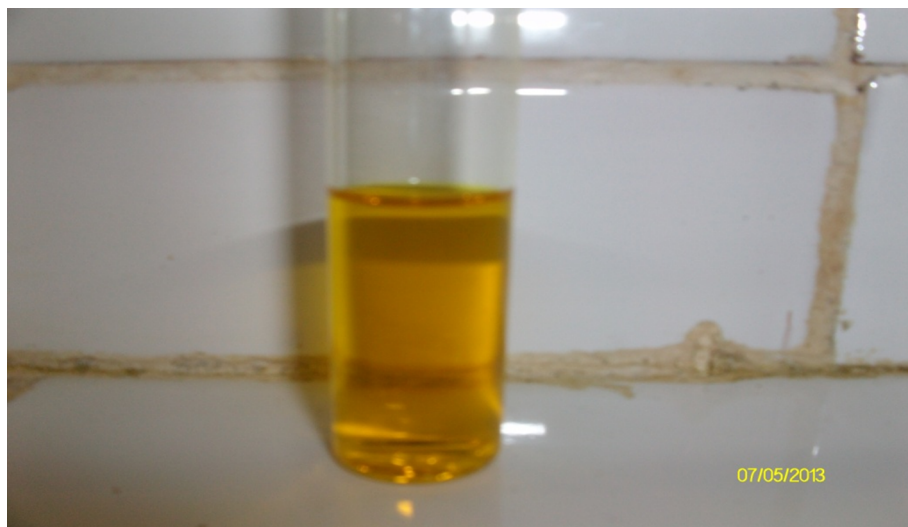
Préparation du bouillon nutritif :

- 25 g de bouillon nutritif déshydraté + un volume d'eau distillée ;
- Agitation jusqu'à dissolution complète ;
- Ajuster le pH à 7.4 ;
- Ajuster le volume à 1L d'eau distillée ;
- Mettre à l'autoclave durant 30 min.

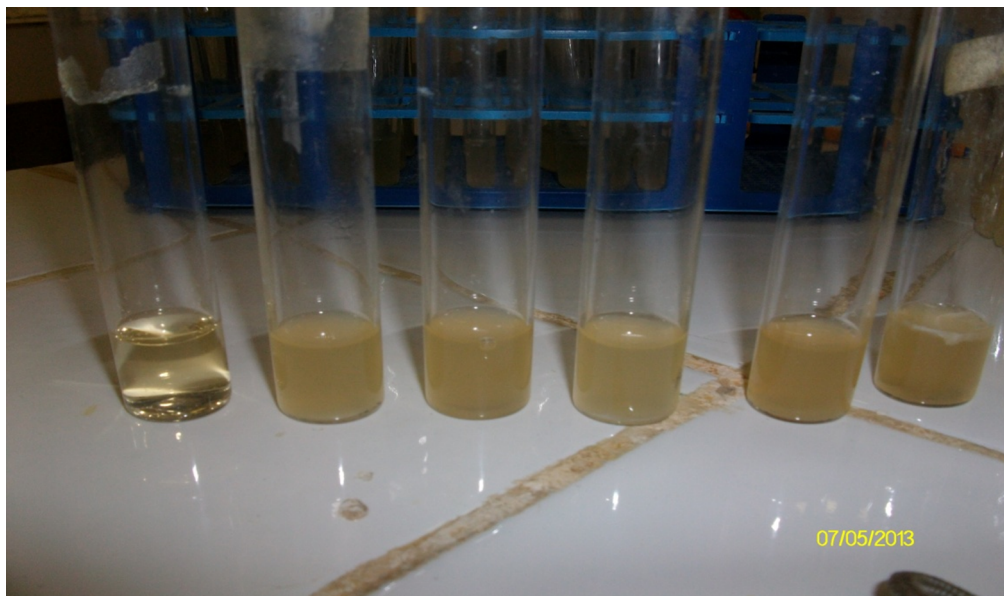
Annexe n°3 : Photographie de la poudre du rhizome de *Curcuma long*



Annexe n°4 : Photographie de l'extrait éthanolique brut en g / 1ml de méthanol



**Annexe n°5 : Photographie des Tests sur la CMB de l'extrait de chloroforme organique
vis-à-vis d'E.coli**



Partie Bibliographique

Partie Pratique

Introduction

Chapitre I
Généralités sur *Curcuma longa*

Chapitre II

Activités biologiques des composés phénoliques

Chapitre IV

Résultats et Discussions

Conclusion

Références Bibliographiques

Annexes

Chapitre III

Matériel et Méthodes

Résumé

Curcuma longa est une plante appartenant à la famille des zingibéracées largement utilisée en médecine traditionnelle. L'objectif de cette étude est d'évaluer les activités antioxydant et antibactérienne des phénols extrait du rhizome de cette plante. L'extraction par solvants a permis l'obtention d'un extrait éthanolique brut avec un rendement de 4.72%, à partir de celui-ci, deux extraits organiques et aqueux de chloroforme et d'hexane ont été extrait, dans le but d'évaluer l'activité antioxydant par DPPH et ABTS.

Le dosage des phénols totaux et des flavonoïdes a révélé que les deux extraits éthanolique et de chloroforme organique possèdent les taux les plus élevés en phénols totaux avec des teneurs de 89.83 et 88.7mg EAG/g d'extrait respectivement et en flavonoïdes présentant la même teneur de 6.89mg EQ/g d'extrait. Concernant les tanins condensés, ce sont les fractions organiques d'hexane et de chloroforme qui présentent les taux les plus importants de l'ordre de 81.7 et 72.67 mg EC/g d'extrait respectivement. Le dosage des anthocyanes de l'extrait éthanolique brut a révélé une concentration de 3.09 mg/ g d'extrait équivalent en cyanidine-3-glucoside.

Les résultats ont montré que tous les extraits possèdent une excellente activité anti radicalaire par DPPH allant de 50.8 à 98.4% équivalente aux standards (Vit C et BHA 97.6 et 96.27% respectivement) et une bonne activité par ABTS allant de 22.06 à 65.73%.

Dans le test antibactérien, tous les extraits ont manifesté une activité moyenne vis-à-vis des quatre souches testées (*E.coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* et *S. typhymurium*) avec des zones d'inhibition allant de 7 à 15.8 mm. Seuls les extraits éthanolique et de chloroforme organique ont eu un effet bactéricide à l'égard d'*E. Coli* et de *S. Aureus*.

Mots clés : *Curcuma longa*, polyphénols, curcumine, activité antioxydant, activité antimicrobienne

Abstract

Curcuma longa is a plant belonging to the zingiberacea family widely used in traditional medicine. The target of this study is to evaluate both antioxydant and antibacterial activities of the phenol extracted from this plant's rhizome. The extraction done by solvents resulted in having an untreated extract of ethanol with a 4.72% yield ; from this latter , two organic and aqueous extracts , one of chloroform and the other one of hexane had been removed in order to evaluate the antioxydant activity by DPPH and ABTS .

The dosage of both total phenols and flavonoids revealed that both extracts of ethanol and organic chloroform have the highest rate of total phenols: 89.83 and 88.7mg EAG/g of extract respectively and the same rate of flavonoids: 6.89mg EQ/g of extract. In regards to the condensed tannin, we noticed that organic fraction of hexane and chloroform represents the highest rate of 81.7 and 72.67 mg EC/g of extract respectively.

The dosage of the anthocyanes present in the extract of untreated ethanol revealed a concentration of 3.09 mg/ g of extract equivalent to cyanidine-3-glucoside.

The results show that all extracts have very good anti- free radical activity by DPPH from 50.8 to 98.4% which are equivalent to the standards (Vitamin C and BHA: 97.6 et 96.27% respectively) and good activity by ABTS going from 22.06 to 65.73%.

Regarding the antibacterial test, all extracts showed an average activity towards four tested strains (*E.coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* and *S. typhymurium*) including some zones of inhibition from 7 to 15.8 mm; only extracts made of ethanol and organic chloroform had a bactericidal effect towards *E. coli* and *S. aureus*.

Key words: *Curcuma longa*, Polyphenols, curcumine, antioxydant activity, antimicrobial activity