

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université A. MIRA – BEJAIA

Faculté de Technologie



Département de Génie des Procédés

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme de Master en génie des procédés.

Spécialité : Génie pharmaceutique.

Thème :

Etude de l'extraction et de l'encapsulation de la curcumine

Réalisé par :

BENMAMMAR Katia.

SMAIL Sonia.

Encadrer par :

M^{me} Senhadji O.

Soutenu le 29/09/2020

Devant le jury de soutenance composé de :

M ^{me} Senhadji O :	Professeur	université Bejaia	Encadreur
M ^f Rezgui F :	Professeur	université Bejaia	Président
M ^f Fatmi S :	MCA	université Bejaia	Examineur

Promotion 2019/2020

Remerciements

Nous remercions ALLAH le tous puissant qui nous a guidé au droit chemin et nous a accordé la puissance, la volonté et la santé pour réaliser ce travail.

Nos remerciements s'adressent en particulier à notre promotrice madame Senhadji O, qui nous a encadrée et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. Sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordée, nous à permis de réaliser ce travail.

Nous remercions l'ensemble des membres de jury pour avoir accepté de juger ce travail, notamment : Mme Senhadji, M^r Fatmi et M^r Rezgui.

Nous remercions tous les enseignants du département « science et technologie » de l'université de A.MIRA de Bejaia et tous ceux qui nous ont aidé de près ou loin pendant toutes nos années d'études.

Nous profitons aussi cette occasion pour adresser nos remerciements à nos parents pour leurs sacrifices, et à tous les membres de la promotion 2019/2020 Master génie des procédés pharmaceutique de l'université de A.MIRA. Bejaia.

Katia et Sonia.

Dédicace

Avec un énorme plaisir et un cœur ouvert
Que je dédie ce travail à ma très chère mère
Que je ne saurai point la remercier
Comme il se doit, son affection et sa bienveillance
Ont toujours été ma source de force.
A mon père, mes frères et à toutes les personnes
Que j'aime de tout mon cœur.
Qu'Allah nous donne santé, bonheur,
Courage et surtout réussite.

Sonia

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mes chers parents Razik et Djamila pour
leurs encouragements et leur soutien tout au long
de mes études

A mon cher mari Yacine l'amour de ma vie
pour sa patience, son amour et son soutien

A mes chers frères Yacine et El Hachemi

A mes grands parents

A toute ma famille

Katia.

SOMMAIRE

Remerciement

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale.....1

CHAPITRE I : Curcuma et curcumine

I.1. LE CURCUMA.....	3
I.1.1. Introduction.....	3
I.1.2. Histoire du curcuma.....	3
I.1.3. Classement botanique du curcuma.....	4
I.1.4. Description de la plante.....	5
I.1.5. Composition chimique.....	6
I.1.6. Utilisation du curcuma.....	8
I.1.6.1. Curcuma longa L : huile essentielle.....	8
I.1.6.1.1. Utilisation de l'huile essentielle de curcuma.....	9
I.1.6.2. Curcuma longa L : forme pulvérulente.....	10
I.1.6.2.1. Curcuma en cuisine.....	10
I.1.6.2.2. Curcuma en industrie.....	10
I.1.6.3. Curcuma utilisé en association.....	11
I.1.7. Données pharmacologiques et observations.....	12
I.1.7.1. Activité anti-oxydante et anti-inflammatoire.....	12
I.1.7.2. Activité antibactérienne.....	12
I.1.7.3. Activité antivirale.....	13
I.1.7.4. Activité antifongique.....	13

I.1.7.5. Activité anti VIH.....	14
I.1.7.6. Activité anti diabétique.....	14
I.1.7.7. Activité anti Alzheimer.....	15
I.1.7.8. Cancérologie.....	15
I.1.8. Conclusion.....	16
I.2. LA CURCUMINE.....	17
I.2.1. Introduction.....	17
I.2.2. Histoire de la curcumine.....	17
I.2.3. Isolement de la curcumine.....	18
I.2.3.1. Synthèse et biosynthèse de la curcumine.....	18
I.2.3.1.1. Biosynthèse.....	18
I.2.3.1.2. Synthèse organique de la curcumine.....	19
I.2.3.2. Caractéristiques structurales de la curcumine.....	20
a. UV-visible.....	20
b. IR.....	21
c. RMN.....	21
I.2.4. Propriétés physico-chimiques.....	21
I.2.4.1. Solubilité de la curcumine.....	21
I.2.4.2. Stabilité de la curcumine.....	22
I.2.4.2.1. Modification et dégradation oxydative en vitro de la curcumine.....	23
I.2.4.2.2. Dégradation photochimiques de la curcumine.....	23
I.2.4.2.3. Dégradation chimiques de la curcumine.....	24
I.2.4.2.4. Conséquences de l'instabilité (photo)chimique de la curcumine pour les préparations pharmaceutiques.....	24
I.2.5. Biodisponibilité et formulation.....	25
I.2.5.1. Curcumine : Elément de biodisponibilité.....	25

I.2.5.1.1. Par voie orale.....	25
I.2.5.1.1.1. Absorption.....	25
I.2.5.1.1.2. Distribution.....	25
I.2.5.1.1.3. Métabolisation.....	26
I.2.5.1.1.4. Elimination et demi vie de la curcumine.....	26
I.2.5.1.2. Par voie intraveineuse ou intrapéritonéale.....	29
I.2.6. Conclusion.....	29
I.3. Effets secondaires, contre-indications et interaction.....	29
I.3.1. Le dosage.....	29
I.3.2. Effets secondaires.....	30
I.3.3. Interactions.....	30
I.3.4. Contre-indications.....	31
I.3.5. Grossesse et allaitement.....	31

CHAPITRE II : Procédes d'extraction de la curcumine.

II.1. Introduction.....	33
II.2. Procédé d'extraction de la poudre de curcuma.....	33
II.2.1. Procédé d'extraction.....	34
II.2.2. Extraction par hydrodistillation.....	35
II.2.3. Entraînement à la vapeur d'eau (vapo-hydrodistillation).....	36
II.2.4. Extraction solide-liquide.....	37
II.2.4.1. La macération.....	37
II.2.4.2. Extraction par appareillage soxhlet.....	38
II.2.5. Extraction assistée par ultrasons.....	38
II.2.6. Extraction assistée pa micro-ondes.....	39
II.2.7. Extraction par CO ₂ supercritique.....	40
II.3. Méthodes utilisées pour l'amélioration de la biodisponibilité de la curcumine.....	40

II.3.1. Co-administration avec un adjuvant : la pipérine.....	40
II.3.2. Variation du Ph.....	41
II.3.3. Complexes liposomaux, micellaires et phospholipidiques.....	41
a. Liposomes.....	41
b. Complexes micellaires.....	42
c. Complexation avec des phospholipides.....	43
II.3.4. Encapsulation de la curcumine avec des nanoparticules.....	43
II.3.5. Utilisation de la curcumine avec d'autres dérivés naturels.....	44

CHAPITRE III : Les cyclodextrines

III.1. Introduction.....	46
III.2. Historique des cyclodextrines.....	46
III.2.1. La période de découverte (1891 au milieu des années 30).....	46
III.2.2. La période d'exploration.....	46
III.2.3. La période d'utilisation (1970 à nos jours).....	47
III.3. Caractéristiques des cyclodextrines.....	47
III.3.1. Origine et caractéristiques structurales des CDS.....	47
III.3.2. Cyclodextrines naturelles.....	48
III.3.3. Cyclodextrines modifiées.....	49
III.3.4. Dérivés des cyclodextrines.....	50
III.3.4.1. Les dérivés méthylés.....	50
III.3.4.2. Les dérivés hydroxypropylés.....	50
III.3.4.3. Les dérivés sulfobutylés.....	51
III.3.4.4. Caractéristiques générales des dérivés de cyclodextrines.....	51
III.4. Propriétés physico-chimique.....	51
III.4.1. Amphiphilie.....	51
III.4.2. Basicité.....	52

III.4.3. Énantioselctivité.....	52
III.4.4. Solubilité.....	52
III.4.5. Stabilité.....	53
III.4.6. Biodégradabilité.....	53
III.4.7. Toxicité des CDs.....	53
III.5. Complexes d'inclusion.....	54
III.5.1. Définition.....	54
III.5.2. Les techniques de préparation des coplexes d'inclusion CD/invité.....	56
III.5.2.1. L'inclusion par cristallisation de la solution (co-précipitation).....	56
III.5.2.2. La complexation en phase solide.....	56
III.5.2.3. L'inclusion en suspension (slurry).....	57
III.5.2.4. Méthode de pétrissage (Kneading).....	57
III.5.2.5. L'inclusion en méthode humide (damp).....	57
III.5.2.6. L'inclusion par extrusion.....	57
III.5.2.7. Lyophilisation.....	58
III.5.2.8. Inclusion par neutralisation.....	58
III.5.2.9. Inclusion par co-évaporation.....	58
III.5.2.10. Séchage par atomisation / pulvérisation (spray drying).....	58
III.5.2.11. Complexation par CO ₂ à l'état supercritique.....	58
III.5.2.12. Inclusion par microondes.....	59
III.5.3. Facteur influençant le phénomène d'inclusion.....	59
III.5.4. Conséquences de l'inclusion.....	59
III.5.5. Techniques de caractérisation des complexes d'inclusion.....	60
III.5.5.1. Méthode spectrophotométrie UV-visible.....	60
III.5.5.2. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	60
III.5.5.3. Spectroscopie infrarouge (IR).....	61

III.5.5.4. Diffraction des rayons X (DRX).....	61
III.5.5.5. Analyse thermogravimétrique (ATG).....	61
III.5.5.6. Analyse calorimétrique différentielle (DSC).....	61
III.5.5.7. Test de dissolution.....	62
III.6. Application des cyclodextrines.....	62
III.6.1. Domaine pharmaceutique.....	63
III.6.2. Industrie alimentaire.....	64
III.6.3. Cosmétique.....	64
III.6.3. Agriculture.....	64
III.6.6. Textile.....	64
III.6.7. En chimie catalytique et analytique.....	64
III.6.8. Domaine biologique.....	64
III.7. Amélioration de la biodisponibilité de la curcumine dans les β -cyclodextrines.....	65
III.7.1. Inclusion de β -cyclodextrines chargées de curcumine de type liquide.....	65
III.7.2. Inclusion de β -cyclodextrines de types solides chargés de curcumine.....	66
III.7.3. Inclusion de β -cyclodextrines chargées de curcumine de type gel.....	66
III.7.4. Encapsulation de la curcumine par des nanoemulsion avec SMEDDS (Self Emulsifying Drug Delivery System).....	67
III.8. Conclusion.....	68

CHAPITRE IV : Cas d'étude de l'amélioration de la biodisponibilité de la curcumine.

IV.1. Introduction.....	70
IV.2. Présentation de cas d'étude de l'amélioration de la biodisponibilité de la curcumine...	70
IV.2.1. Co-administration avec la pipérine.....	70
IV.2.2. Les nanoparticules.....	72
IV.2.3. Encapsulation avec des liposomes.....	72

IV.2.4. Encapsulation avec les cyclodextrines.....	74
IV.3. Discussion des résultats.....	76
Conclusion générale.....	78
Références bibliographiques.	

Liste des figures

Figure I.1 : Schéma de la plante curcuma longa.....	5
Figure I.2 : Le rhizome primaire et le rhizome secondaire.....	5
Figure I.3 : Structure chimique des principaux constituants de l'huile essentielle de curcuma.....	8
Figure I.4 : Les pigments curcuminoïdes responsables de la couleur jaune foncée du curcuma.....	11
Figure I.5 : Structure de la curcumine.....	17
Figure I.6 : Les trois composés nécessaires à la biosynthèse de la curcumine.....	19
Figure I.7 : Spectre UV-visible de la curcumine C1.....	20
Figure I.8 : Structure développée du radicale stable N centré DPP.....	23
Figure I.9 : Produits de solvolysse de la curcumine parmi lesquels on retrouve deux matières premières : la vanilline et l'acide férulique.....	24
Figure I.10 : Structure de la curcumine et ses métabolites.....	28
Figure II.1 : Photographie représentant des rhizomes saupoudrés de curcuma et de la poudre de curcuma telle qu'elle est à la fin des procédés de broyage et tamisage.....	33
Figure II.2 : Montage d'hydrodistillation.....	36
Figure II.3 : Montage d'entraînement à la vapeur.....	37
Figure II.4 : Schéma de système soxhlet.....	38
Figure II.5 : Montage représentant le procédé d'extraction d'hydrodistillation assistée par micro-ondes «MAHD».....	39
Figure II.6 : Structure de la pipérine.....	40
Figure II.7 : Structure de liposome.....	41
Figure II.8 : Structure d'une micelle.....	42

Figure II.9 : Structure du complexe de curcumine-phospholipide.....	43
Figure II.10 : Structure de quercétine.....	44
Figure II.11 : Structure de l'épigallocatechine-3-gallate.....	44
Figure III.1 : Formule développée générale des cyclodextrines (α , β , γ).....	48
Figure III.2 : Forme géométrique des cyclodextrines.....	48
Figure III.3 : Schéma d'inclusion d'une molécule dans la cavité d'une cyclodextrine.....	54
Figure III.4 : Schéma général de la formation d'un complexe d'inclusion entre une molécule hôte de cyclodextrine et une molécule invitée.....	54
Figure III.5 : Représentation des différentes stœchiométries des complexes d'inclusion.....	55
Figure IV.1 : Evolution de la concentration sérique moyenne en $\mu\text{g/ml}$ (moyenne +/- SEM) de curcumine après absorption de 2 g de curcumine orale seule et en association avec 20 mg de pipérine chez l'homme.....	71
Figure IV.2 : Variation de l'absorption de la curcumine et e la curcumine+ biopérine en fonction de temps.....	72
Figure IV.3 : comparaison de l'évolution de la concentration plasmatique en curcumine après absorption de 4 formulations de curcumine pendant 12 heures (CP-1 et CP-2 : 2 formulations de curcumine commercialisées ; standard curcumin : un extrait standard de curcumine non formulé et le CAVACURMIN [®] : complexe breveté γ -cyclodextrine-curcumine).....	75

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Classification botanique du curcuma.....	4
Tableau I.2 : Principaux constituants et valeurs nutritionnelles et énergétique du Curcuma Longa L (pour 100 gr de poudre).....	6
Tableau I.3 : Position et intensité de la 1ère bande d'absorption UV-visible de THC1, THC2 et THC3.....	21
Tableau I. 4 : Données spectrales Infrarouge de THC1, THC2, THC3.....	21
Tableau III.1 : Propriétés structurales des principales cyclodextrines.....	49
Tableau III.2 : Caractéristiques des cyclodextrines modifiées.....	50
Tableau III.3 : Propriétés physicochimique des CDs natives.....	52
Tableau III.4 : Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrines dans différents domaines d'applications.....	62
Tableau IV.1 : Synthèse des résultats de travaux de recherche dédiées à quelques méthodes utilisées pour l'amélioration de la biodisponibilité de la curcumine.....	69

Liste d'abréviation

EC50 : La concentration efficace.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

IC50 : Concentration inhibitrice médiane.

UV : Ultraviolet.

λ_{\max} : Longueur d'onde maximal.

ϵ : Le coefficient d'absorption molaire.

DMSO : diméthylsulfoxyde.

DL₅₀ : Dose létale médiane.

Ig G : Immunoglobuline G humaines.

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène.

k_{deg} : La constante de dégradation.

GSH : Glutathion.

AINS : Anti inflammatoire non stéroïdien.

MAP : Microwave assisted process.

MAE : Microwave assisted extraction.

MAHD : Microwave Assisted Hydrodistillation.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

pH : potentiel hydrogène.

(C₆H₁₀O₅)_n : formule brute des cyclodextrines.

C₃₆H₆₀O₃₀ : formule brute des α -cyclodextrines.

C₄₂H₇₀O₃₅ : formule brute des β -cyclodextrines.

C₄₈H₈₀O₄₀ : formule brute des γ -cyclodextrines.

D.S : degré de substitution moyene.

pKa : constante d'acidité.

ΔH° : l'enthalpie standard.

ΔS° : l'enthalpie libre.

$^\circ\text{C}$: degré Celsius.

T_c : température critique.

P_c : pression critique.

W : le watt.

RMN : résonance magnétique nucléaire.

IR : spectroscopie infrarouge.

DRX : diffraction des rayons X.

ATG : analyse thermogravimétrique.

DSC : analyse calorimétrique différentielle.

PA : principe actif.

SMEDDS : Self Emulsifying Drug Delivery System.

SEM : erreur standard de la moyenne.

ICH : conférence internationale sur l'harmonisation.

SD : les rats Sprague-Dawley.

T_{\max} : temps maximal.

C_{\max} : concentration maximal.

Introduction générale

Depuis l'antiquité, l'homme utilise les plantes dans la nature en phytothérapie pour traiter et soigner des maladies. Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration de médicaments. Les constituants des plantes peuvent être utilisés directement comme agents thérapeutiques, comme ils peuvent être une ressource de matières premières pour la synthèse de médicaments.

Le curcuma est une plante vivace appartenant à la famille *Zingibraceae*. Le rhizome est la partie utilisée de la plante en tant qu'épice alimentaire, conservateur, et comme colorant des aliments et des textiles.

La curcumine, principe actif de plusieurs curcumas, présente un grand nombre de propriétés pharmacologiques remarquables. Elle est très bien tolérée. Faisant l'objet d'une attention particulière de la communauté scientifique internationale, la curcumine donne lieu à des travaux de pharmacomodulation et de formulation, visant à améliorer son efficacité et sa biodisponibilité [1]. Il s'agit donc d'étudier la curcumine d'un point de vue chimique (réactivité et propriétés structurales) et biologique.

L'encapsulation de molécules d'intérêt thérapeutique est un sujet d'actualité, notamment lorsque ces molécules sont instables telle que la curcumine qui est une molécule lipophile, instable et thermosensible[2].

Dans notre travail, nous avons envisagé de traiter le thème « Etudes de l'extraction et de l'encapsulation de la curcumine ». Ce travail est divisé en quatre chapitres :

- Dans le premier chapitre, nous avons réalisé une étude bibliographique sur la plante du curcuma et de la molécule de curcumine.
- Le deuxième chapitre est consacré aux procédés d'extraction de la curcumine et les méthodes utilisées pour l'amélioration de la biodisponibilité de cette molécule *in vivo*.
- Le troisième chapitre représente une étude bibliographique sur les cyclodextrines et le rôle qu'elles jouent pour l'amélioration de la biodisponibilité de la curcumine *in vivo*.
- Le quatrième chapitre, inclue l'étude de certains cas d'encapsulation par références aux études précédentes.

A la fin de ce manuscrit, on termine par une conclusion générale.

CHAPITRE I : Le Curcuma et la Curcumine.

I.1. Le curcuma :

I.1.1. Introduction :

« Golden spice » ou « spice of life », le Curcuma est l'une des plantes les plus étudiées qui existe aujourd'hui qui se distingue par sa très belle couleur orangée, est à la fois une épice d'exception mais également une plante cultivée et utilisée depuis l'antiquité dans certaines régions du monde et en médecine naturelle chinoise et ayurvédique qui est une médecine traditionnelle non conventionnelle pratiquée en Inde. On retrouve des ouvrages traitant de l'utilisation médicinale du curcuma dans des communautés socioreligieuses diverses remontant à plus de 6000 ans.

Sa haute valeur nutritive est en partie due à sa teneur en curcumine, mais pas seulement. Les nombreuses études menées sur le curcuma qui autrefois n'était que l'emblème des cuisines orientales, en font désormais une plante médicinale particulièrement prisée pour ses nombreux bienfaits.

En 2015, ces propriétés médicinales et ces composants (principalement la curcumine) ont fait l'objet de plus de 5600 études publiées. Une recherche qui a été réalisé sur cette plante sacrée pendant cette période, a révélé plus de 600 applications préventives et thérapeutiques potentielles, ainsi que 175 effets physiologiques bénéfiques.

Le curcuma est également utilisé dans l'industrie textile, dans la préparation d'huiles, onguents et dans les produits cosmétiques pour préparer des crèmes naturelles et à base de plantes, lotion et teinture pour les cheveux [3].

I.1.2. Histoire du curcuma :

Le curcuma est une épice qui fait l'objet d'échanges commerciaux depuis tellement longtemps, le pays d'origine du Curcuma n'est pas clairement identifié aujourd'hui. On peut penser qu'il est originaire d'Inde ainsi que les autres espèces du genre curcuma mais les différents rapports traitant de *Curcuma Longa L.* depuis 1810 ne font état que de sa culture agricole à des fins industrielles. Il existe une théorie établissant que le curcuma est originaire de Cochinchine (aujourd'hui représenté géographiquement par le sud du Vietnam) et qu'il

aurait été exporté dans le Nord Est de l'Inde par des tribus Bouddhistes durant la période post-Buddha.

Son emploi, en Asie, en Afrique et au Proche et Moyen-Orient, remonte à plus de 4000 ans. Dès cette époque, le curcuma est utilisé en tant qu'épice, mais aussi comme agent de coloration de plusieurs aliments, tels que le cari et la moutarde, de même que dans la production de cosmétiques, de teintures et de médicaments. Le curcuma serait connu en Chine depuis très longtemps puisque le plus vieux traité de médecine chinoise, le PEN-TSAO de Sheng Nung écrit vers 2600 av J.-C., le mentionne dans le traitement des douleurs rhumatoïdes. L'usage du curcuma en Inde serait apparu en tant que substitut des safran et autres poudres jaunes apportées par les anciens aryens lorsqu'ils envahirent cette partie du continent asiatique vers 2000 av J.-C [3].

I.1.3. Classement botanique du curcuma :

Le curcuma provient de la racine de *Curcuma longa*, une plante verte dans la famille du gingembre. *Rhizome* a une peau brune dure et une chair orange vif. Le curcuma moulu provient des doigts qui s'étendent de la racine. Le tableau I.1 indique la classification botanique du curcuma.

Il y a environ 30 variétés de curcuma parmi les quelles on trouve : Amalapuram, Armour, Dindigam, Erode, Krishna, Kodur, Vontimitra, P317, GL Purm I et II, RH2 et RH10.

Tableau I.1 : Classification botanique du curcuma.

Nom commun	Curcuma
Règne	Plantae
Sous embranchement	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Ordre	Zingiberales
Famille	Zingiberaceae
Genre	Curcuma
Espèces	Curcuma longa

I.1.4. Description de la plante :

Curcuma longa L. est une plante qui peut mesurer de 60 à 100 cm de hauteur, pourvue d'une tige courte et de longues feuilles engainantes. Les feuilles sont très longues, avec des lames elliptiques disposées en touffes, pouvant mesurer jusqu'à 1 m ou plus et dont le pétiole, effilé à la base, peut être aussi long que la lame (Figure I.1).



Figure I.1 : Schéma de la plante curcuma longa.

Les fleurs sont généralement jaunes et assemblées en épi. Elles mesurent entre 10 à 15 cm de long et leur pédoncule mesure 15 cm mais il est généralement caché par les gaines des pétioles. Quand il fleurit, les bractées vert clair deviennent violettes.

Le rhizome commercialisé est le rhizome primaire, il est ovale, oblong, piriforme et communément appelé « ampoule » ou curcuma « rond ». Les rhizomes secondaires sont plus cylindriques, mesurent 4 à 7 cm de long pour 1 à 1,5 cm de large et sont appelés « doigts ». Ils sont de couleur jaunâtre à brun-jaunâtre à l'extérieur et jaune ou jaune orange à l'intérieur. Leur odeur est aromatique, leur goût chaud et légèrement amer.



Figure I.2 : Le rhizome primaire et le rhizome secondaire.

I.1.5. Composition chimique :

Dans le tableau I.2 sont donnés les principaux composants de la partie comestible de la poudre de curcuma :

Tableau I.2 : Principaux constituants et valeurs nutritionnelles et énergétique du Curcuma Longa L (pour 100 gr de poudre) :

Eléments	Valeurs	Eléments	Valeurs
Eau	11,4 g	P	268 mg
Energie	1481 kJ (354 kcal)	Fe	41,4 mg
Protéines	7,8 g	Zn	4,4 mg
Lipides	9,9 g	Vitamine A	traces
Glucides	64,9 g	Thiamine	0,15 mg
Amidon	45 à 55% de la composition totale	Riboflavine	0,23 mg
Fibres alimentaires	21,1 g	Niacine	5,14 mg
Omega 9	3,12 g	Cu	603 mg
Omega 3	0,48 g	Vit B6	1,8 mg
Omega 6	1,69 g	Vit C	26 mg
K	2525 mg	Vit E	3,1 mg
Mn	7,8 mg	Vit K	13,4 mg
Ca	183 mg	Folate	39 µg
Mg	193 mg	Acide ascorbique	25,9 mg

Le principe actif du curcuma est la curcumine. Les principaux composants du rhizome de Curcuma longa sont : [4]

- des curcuminoïdes, qui donnent la coloration jaune et qui sont les principes actifs principaux :
 - curcumine,
 - desméthoxycurcumine,
 - bidesméthoxycurcumine,
 - dihydrocurcumine.
- des quinoïdes :

- des sesquiterpènes :
 - alpha et gamma alantones,
 - bisabolène,
 - bisacumol,
 - bisacurone (molécule étudiée pour ses propriétés anti-inflammatoires),
 - caryophyllène (molécule qui contribue à la nature épicée du curcuma et possédant des propriétés anti-inflammatoires),
 - curcumène,
 - curcuménone (supposé être un agent antiviellissement).
- des stéroïdes :
 - cholestérol,
 - campesterol (posséderait des propriétés anti-inflammatoires),
 - stigmastérol,
- des monoterpènes :
 - cinéole,
 - camphène,
 - terpinène,
- des phénylpropanoïdes :
 - acide caféique,
 - acide p-cumarique,
 - 4-hydroxy cinnamoylméthane.
- des lignanes :
 - iso-procurcuménol,
 - 4-hydroxy-cinnamoyl-(féruloxyl) méthane,
- des benzénoïdes :
 - curcumine et dérivés,
 - gäïacol.
- des glucides :
 - ukonane A.
 - des alcaloïdes,
- de l'huile essentielle :
 - turmérone (à propriétés antidépresseur étudiées),
 - déshydroturmérone,

- gingibérène (aux propriétés antiulcéreuses supposées),
- atlantone,
- curcuménol,
- bornéol (effet hépatoprotecteur),
- camphre, terpinène.

I.1.6. Utilisation du curcuma :

Le curcuma est utilisé sous différentes formes brutes ou produits d'extraction. Seront abordées dans ce chapitre les formes les plus utilisées dans le commerce, de nos cuisines aux études agroalimentaires.

I.1.6.1. Curcuma longa L : huile essentielle :

L'huile essentielle de curcuma est obtenue par extraction à partir des rhizomes. La qualité d'un extrait de curcuma est fonction de sa teneur en curcumine celle-ci possède, entre autres, une forte activité anti-oxydante à l'inverse des autres curcuminoïdes se trouvant dans l'extrait. L'huile essentielle de curcuma se compose également en petites quantités de monoterpènes oxygénés, associés à de petites quantités de sesquiterpènes hydrocarbonés et de monoterpènes hydrocarbonés (Figure I.3). La contribution relative de chaque composant à l'arome et à la flaveur est mal connue. L'arome de l'huile essentielle distillée à la vapeur est différent de celui de l'épice [5].

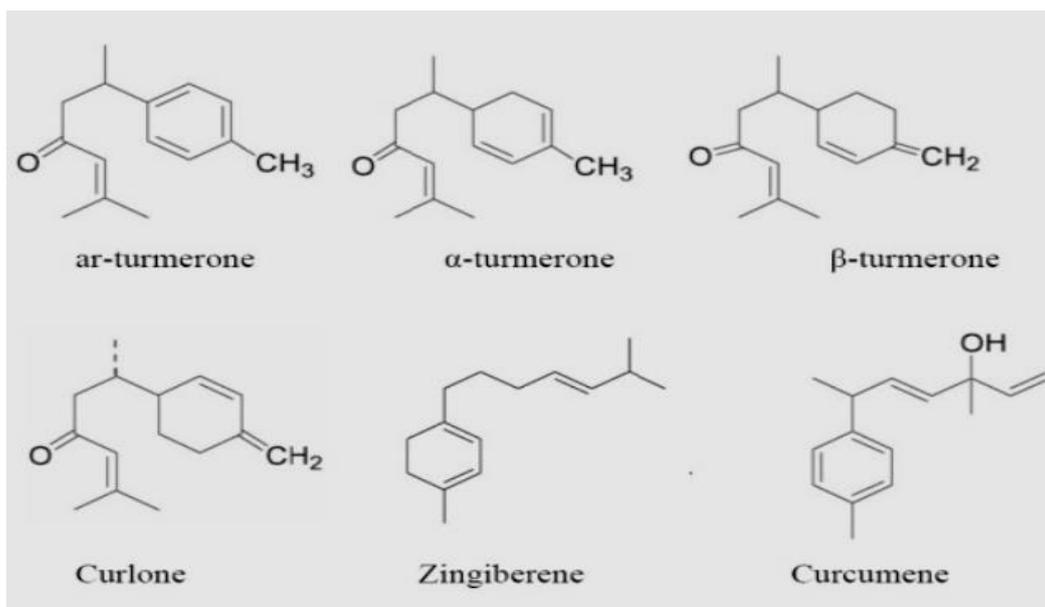


Figure I.3 : Structure chimique des principaux constituants de l'huile essentielle de curcuma.

I.1.6.1.1. Utilisation de l'huile essentielle de curcuma :

L'huile essentielle de curcuma peut être utilisée de façons très différentes pour un large spectre de maladies et symptômes [6].

- Application cutanée, massage :
 - Pour l'ensemble des problèmes cutanés (furoncle, herpès, varices, etc.).
 - Douleurs musculaires et articulaires.
 - Cheveux (chute, cheveux à pellicules, cheveux gras, psoriasis).
- Voie orale :

L'utilisation de l'huile essentielle de Curcuma en ingestion nécessite une prescription thérapeutique. Elle peut s'utiliser en cuisine si elle est diluée au préalable dans une matière grasse (huile, crème, yaourt, lait). Elle ne doit jamais s'ingérer pure.

- Inhalation :

Pour traiter l'ensemble des infections ORL et respiratoires et profiter de ses effets sur le bien-être, il est possible d'utiliser l'huile essentielle de curcuma par :

- inhalation humide.
- inhalation sèche.

- Diffusion :

L'huile essentielle de curcuma fait partie des huiles assez peu compatibles avec la diffusion. Pour lutter contre les infections et favoriser le bien-être (angoisse, anxiété, déprime, fatigue...), la diluer avec d'autres huiles essentielles, et choisir l'un des modes de diffusion suivants :

- La diffusion par nébulisation. Ces diffuseurs, qui propulsent l'huile essentielle par une pompe, sont les plus efficaces, mais leur prix est généralement élevé et ils peuvent être plus ou moins bruyants.
- La diffusion à ultra-sons (brumisation). Moins puissants, ces diffuseurs restent efficaces pour bénéficier des effets de l'huile essentielle dans des pièces fermées.
- La diffusion par chaleur douce. Sous l'effet de la chaleur, les particules aromatiques volatiles se mêleront à l'atmosphère.

I.1.6.2. Curcuma longa L : forme pulvérulente :

La poudre de curcuma peut être obtenue selon un procédé défini par « The Food and Agricultural Organization of the United Nations » qui publie ces protocoles sous la forme de recommandations post-récoltes. Ce procédé sera détaillé dans le chapitre II.

I.1.6.2.1. Curcuma en cuisine :

En cuisine, le curcuma s'est toujours plu dans les mélanges : les currys indiens ou Thaïlandais, les massala, le mukhavas (mélange indien de graines pris en fin de repas pour favoriser la digestion), le colombo antillais, le ras-el-hanout du Maghreb... Il leur donne une jolie couleur et favorise leur conservation. Mais ces épices sont connues pour avoir des propriétés biologiques de par les principes actifs qu'elles renferment. Seulement, à l'image de la curcumine présente dans le curcuma, ils sont sensibles à leur environnement physicochimique. Ainsi que certains modes de cuisson peuvent altérer la nature des protéines, sucres, lipides et des vitamines, les épices voient leur biodisponibilité changer et leurs valeurs nutritionnelles se dégrader.

I.1.6.2.2. Curcuma en industrie :

Etant à la fois une épice, une plante médicinale et un colorant, le curcuma est un produit d'intérêt pour les industries agroalimentaires, textiles, cosmétiques et pharmaceutiques.

Le principal usage du curcuma est alimentaire en tant qu'épice où il est utilisé sous forme de poudre. Par ailleurs, cette épice est connue pour rentrer dans la composition de mélange d'épices où il peut être présent jusqu'à hauteur de 25%. L'industrie agro-alimentaire emploie largement de la curcumine concentrée comme colorant alimentaire naturel nommé, E100 [3]. Il sert aussi de colorant pour les textiles et est reconnu comme une couleur étant captable de teindre le coton sans mordant. C'est ainsi que des recettes datant des Assyriens (600 ans av. JC.) ont été retrouvées, mentionnant l'utilisation du curcuma comme colorant et qu'il est traditionnellement utilisé pour confectionner les tissus de Madras, cette couleur très caractéristique du curcuma est due à un groupe de pigments naturels que l'on appelle « curcuminoïdes ». Ils sont au nombre de 4 (Figure I.4) : la curcumine qui représente 77 % des curcuminoïdes, la déméthoxy-curcumine (17%), bis-déméthoxy-curcumine (3%) et la cyclocurcumine. Cette dernière forme n'a été identifiée que récemment en raison de sa présence à l'état de traces. Ce mélange de curcuminoïdes fait l'objet de nombreuses études

analytiques qui ont pour but de différencier les teneurs respectives en curcuminoïdes et en curcumine dans les préparations alimentaires [3].

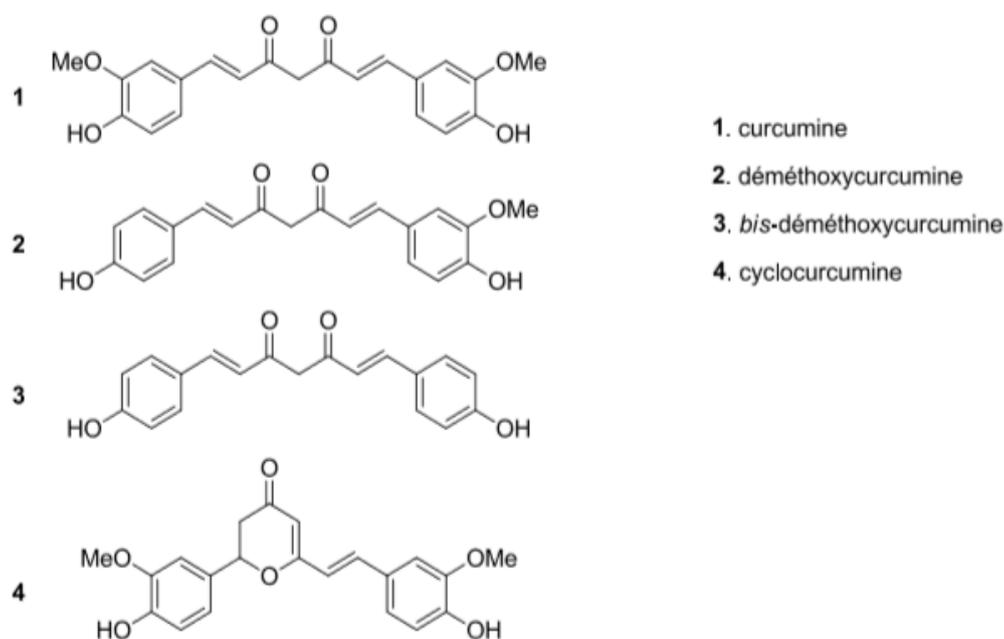


Figure I.4 : Les pigments curcuminoïdes responsables de la couleur jaune foncée du curcuma.

I.1.6.3. Curcuma utilisé en association :

On retrouve beaucoup d'études associant la curcumine à d'autres thérapeutiques afin d'en augmenter les effets ou de diminuer les risques de chimiorésistance des cellules tumorales. Les études concernant l'utilisation du curcuma en tant qu'épice sont faites sur des animaux étant placés ou non sous un régime alimentaire épicé par du curcuma. C'est le cas d'une étude associant un régime alimentaire à base de curcuma visant à savoir, si, combiné à l'ingestion de feuilles de Bétel, le risque de développement d'un cancer induit par les nitrosamines est diminué. Il apparaît ainsi que cette combinaison curcuma/bétel est efficace en tant qu'agent de chimio-prévention des cancers [3].

En agro-alimentaire, les régimes complétés avec des doses massives d'antibiotiques ayant été bannis de certains pays, à cause de la présence de résidus antibiotiques dans les viandes et de l'accroissement des lignées de bactéries résistantes suite au mésusage de ceux-ci, différentes herbes et épices ont été développées en tant qu'additifs alimentaires dans les élevages d'animaux. Une étude récente en 2014 [1] a pour but d'étudier s'il est avantageux de traiter des volailles d'élevage intensif avec des mélanges d'épices en mesurant plusieurs paramètres : leur croissance, leur ossature etc. Il en ressort que le groupe ayant été traité avec

un régime alimentaire à base de curcuma (0.5%) et de coriandre (2%) présente un meilleur taux d'anticorps et une ossature plus solide signant un état de santé globalement amélioré.

Il existe bien d'autres exemples décrits dans la littérature scientifique ou holistique d'utilisations du curcuma seul ou associé à d'autres épices. La plupart des effets bénéfiques de ces adjuvants culinaires, dont les utilisations en médecine holistique sont relatées, ont été reconnus scientifiquement ces trente dernières années et il existe des formulations commercialisées à base de ces épices, ce qui leur donne le nom de « alicament » ou en anglais « nutraceuticals » [1]. Quelques-unes de ces épices ont un profil pharmacologique suffisant pour faire l'objet d'une exploitation thérapeutique.

I.1.7. Données pharmacologiques et observations :

I.1.7.1. Activité anti-oxydante et anti-inflammatoire :

Les curcumines sont particulièrement efficaces comme piègeurs de radicaux libres [1], elles accroissent les activités des enzymes qui détruisent les ions superoxyde O_2^- et qui protègent les érythrocytes contre les peroxydes (superoxydedismutase, glutathion peroxydase, glutathionréductase, glucose-6-phosphate déhydrogénase, catalase) [1]. La peroxydation lipidique, induite par le nitrilotriacétate ferrique (Fe-NTA) ou l'eau oxygénée, est également fortement inhibée par la curcumine [1]. Le pouvoir anti-inflammatoire du curcuma est clairement relié à son effet antioxydant de nombreux mécanismes ont été invoqués pour expliquer cet effet : l'inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique et donc de la synthèse des prostaglandines, l'inhibition de l'accroissement de l'activité des enzymes lysosomiales, l'interférence avec la réponse des granulocytes aux stimulus liés au processus inflammatoire, l'inhibition de la formation d'oxyde nitrique, l'inhibition phospholipases spécifiques. Les effets antioxydant et anti-inflammatoire trouvent des applications dans les traitements de nombreuses affections [1].

I.1.7.2. Activité antibactérienne :

La curcumine a des propriétés antibactériennes, c'est en effet une bactéricide efficace vis-à-vis de *staphylococcus aureus*, d'*Enterococcusfaecalis*, d'*Escherichiacoli*, ainsi que vis-à-vis de pseudo- monasaerusigosa. A la concentration de 25 μ M et avec une exposition de 30 min, la curcumine tue entre 12% et 60% de ces bactéries avec une incubation de 2 heures, cette même dose, permet d'éliminer de 20 à 90% de chacun de ces quatre genres bactériens.

A une concentration de 100 μ M, le pouvoir bactéricide de la curcumine se révèle être de respectivement 100, 90, 100 et 57% vis-à-vis de *S.aureus*, *E. Faecalis*, *E .coli*, et *P.aeruginosa*. L'activité bactéricide de la curcumine s'expliquerait par les dommages causés aux membranes bactériennes [7], c'est en effet un anti- MRSA qui provoque aussi des dommages de la paroi bactérienne, des perturbations du contenu cytoplasme, et finalement la lyse cellulaire [1]. *Helicobacterpylori* qui est responsable de pathologies gastroduodénales incluant le cancer gastrique et qui se révèle difficile à combattre par les antibiotiques conventionnels est éradiqué par la curcumine. Ce polyphénol inhibe in vitro, avec une CMI comprise entre 5 μ g /ml, la croissance de ces bactéries isolées à partir de patients. La curcumine est aussi capable d'éradiquer *H.pylori* chez des souris infectées et permet ainsi de restaurer les dommages gastriques provoquées par ces bactéries [8].

I.1.7.3. Activité antivirale :

Il a été démontré que la curcumine en tant que dérivée végétale a un large éventail d'activités antivirales contre différents virus. L'enzyme de déshydrogénase de monophosphate d'inosine (IMPDH) due à l'activité limite de taux dans la synthèse de novo des nucléotides de guanine est suggérée comme cible thérapeutique pour les composés antiviraux et anticancéreux. Parmi les 15 polyphénols différents, la curcumine par l'activité inhibitrice contre l'effet IMPDH de manière non compétitive ou concurrentielle est suggérée comme composé antiviral puissant par ce processus [1]. L'étude de différents bioconjugués de curcumine à savoir le di-O tryptophaneylphenylalanine curcumine et le di-O-decanoyl curcumine ont révélé une activité antivirale remarquable contre VSV (virus de la stomatite vésiculaire) et FIPV (virus de la péritonite infectieuse féline) /FHV (virus de la maison de troupeau) avec des valeurs EC50 de 0,011 M et 0,029 M, respectivement. Cependant, les bioconjugés n'ont pas montré d'activité antivirale significative contre les souches IIIB et ROD du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) dans les cellules MT-4 [1].

I.1.7.4. Activité antifongique :

En raison de l'utilisation traditionnelle extensive du curcuma dans les produits alimentaires, diverses recherches ont été effectuées afin d'étudier le curcuma et la curcumine dans le but de contrôler la détérioration des champignons et les pathogènes fongiques. L'étude de l'addition de la poudre de curcuma dans la culture de tissu végétal a montré que le curcuma à 0,8 et 1,0g/L a une activité inhibitrice appréciable sur les contaminations fongiques [9]. L'extrait méthanolique de curcuma a démontré une activité antifongique contre

les *Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans* avec des valeurs CMI de 128 et 256 µg/ml, respectivement [1]. L'étude de l'extrait d'hexane de *C. longa* à 1000 mg/L a démontré un effet antifongique contre *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora infestans* et *Erysiphe graminis*. Il a également été montré que 1000 mg/L d'extrait d'acétate d'éthyle de *C. longa* présentaient un effet inhibiteur contre *R. solani*, *P. infestans*, *Puccinia recondita*, et *Botrytis cinerea*. La curcumine à 500 mg/L a également montré une activité antifongique contre *R. solani*, *Pu. recondita* et *P. infestans* [1].

La curcumine et l'huile de curcuma exercent un effet antifongique contre deux champignons phytophages, à savoir *Fusarium solani* et *Helminthosporium oryzae*. L'huile de curcuma a présenté l'activité antifongique la plus efficace contre *F. solani* et *H. oryzae* avec IC50 de 19,73 et 12,7 µg/ml, respectivement [1].

I.1.7.5. Activité anti VIH :

La transcription du provirus VIH-1 est gouvernée par la séquence LTR (long-terminal repeat). La curcumine est un inhibiteur puissant et sélectif de l'expression du VIH. Elle a inhibé la production de l'antigène p24 dans les cellules par la répression de la transcription de la séquence LTR. Deux analogues de la curcumine, le décaféoylméthane et l'acide rosmarinique, inhibent l'activité de l'intégrase. Il a aussi été montré que ces analogues peuvent inhiber la liaison de l'enzyme à l'ADN viral [1].

I.1.7.6. Activité anti diabétique :

Une étude expérimentale sur l'efficacité du curcuma sur la glycémie chez des rats albinos a montré que le curcuma et la curcumine réduisaient le taux de sucre dans le diabète induit par l'alloxane. La curcumine s'est révélée capable de diminuer les complications du diabète sucré [10]. Le rapport suggère que l'action antidiabétique du curcuma peut être principalement à travers la vitalisation des cellules pancréatiques et par la stimulation de la production d'insuline. L'extrait éthanolique de curcuma abaissait le niveau de glucose sanguin lorsqu'il était injecté à des rats expérimentaux. L'effet abaissant était de 37,2% après 3 heures et de 59,5% après 6 heures. L'huile essentielle de *Curcuma longa* et son composant principal, l'ar-turmérone, sont capables d'inhiber significativement l'activité de l' α -glucosidase et de l' α -amylase, des enzymes clés liées au diabète de type 2 [11]. De plus, un effet hypoglycémiant a été mis en évidence chez des souris diabétiques de type 2 ayant consommé

pendant 4 semaines 0,5 g/100 g d'extrait de *Curcuma longa* riche en sesquiterpénoïdes (inclus les turmérone) [1].

I.1.7.7. Activité anti Alzheimer :

Le processus par lequel la maladie d'Alzheimer dégrade les cellules nerveuses est supposé impliquer certaines propriétés : l'inflammation, les dommages oxydatifs et plus particulièrement, la formation de plaques bêta-amyloïdes et la toxicité des métaux. Il y a eu plusieurs études sur les effets de la curcumine sur la maladie d'Alzheimer. Une étude interculturelle de l'Inde et des États-Unis a révélé que la population indienne âgée de 70 à 79 ans présentait une prévalence de la maladie d'Alzheimer de 4,4 fois inférieure à celle de la même population aux États-Unis [3].

Les chercheurs ont attribué une partie de l'incidence plus faible de la maladie d'Alzheimer à l'augmentation de la consommation de curry (un aliment contenant la curcumine). Un autre moyen par lequel la curcumine peut aider à lutter contre la maladie d'Alzheimer est sa capacité à inhiber la formation de cholestérol. Un taux élevé de cholestérol sanguin et des régimes riches en graisses sont associés à une augmentation des plaques amyloïdes et donc à une prédisposition forte à la maladie d'Alzheimer ; dans une étude réalisée à l'Université de Californie à Los Angeles, la curcumine a été montrée pour effacer les plaques amyloïdes en stimulant l'activité des macrophages, qui sont des cellules qui aident le corps à combattre les protéines étrangères. Les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer qui ont été traitées avec de la curcumine ont montré une amélioration de l'élimination des plaques par rapport aux patients qui n'ont pas pris de curcumine [12].

I.1.7.8. Cancérologie :

De très nombreuses études sont menées sur le curcuma pour évaluer son action dans la lutte contre le cancer [13].

- Cancer : dans ce domaine, la recherche est très active et les résultats de plusieurs essais cliniques sont attendus. Les chercheurs pensent que les effets antioxydants et anti-inflammatoires de la curcumine peuvent jouer un rôle dans la prévention et le traitement du cancer. Des études *in vitro* indiquent déjà que la curcumine inhibe la prolifération des cellules cancéreuses en agissant à divers moments de leur développement et qu'elle favorise la fabrication d'enzymes qui aident le corps à se débarrasser des cellules cancéreuses.

- **Prévention du cancer :** Selon des données épidémiologiques, la prévalence de plusieurs cancers (du côlon, du sein, de la prostate et du poumon) est moins élevée dans les pays asiatique où l'on consomme beaucoup de curcuma. En outre, de nombreuses études sur des animaux exposés à des substances carcinogènes indiquent que la curcumine pourrait prévenir plusieurs cancers (du poumon, du côlon, de l'estomac, du foie, de la peau, du sein, de l'œsophage, lymphomes et leucémie). D'un point de vue clinique, les données sont encore peu nombreuses. Elles ont été obtenues avec des groupes ne dépassant pas 25 personnes dans la meilleure des cas. Néanmoins les résultats sont prometteurs. Il suggère que la consommation de curcuma pourrait être associée à une baisse de risque du cancer chez les fumeurs. Chez des patients à risque, des doses de 1 g à 8 g de curcumine par jour pendant 3 mois sont parvenues à faire régresser certaines lésions précancéreuses. Enfin, le nombre et la taille des polypes intestinaux de personnes atteintes des polyposes familiale ont diminué sous l'effet de la curcumine (480 mg, 3 fois par jour) associé à la quercétine (20 mg).
- **Traitement du cancer :** Les propriétés anticancéreuses de la curcumine sont prise très au sérieux par la communauté scientifique et plusieurs essais cliniques sont en cours. Jusqu'à présent, on ne dispose que de peu de résultats, mais ils sont encourageants. Utilisée seul ou en association avec la chimiothérapie, la curcumine (8g par jour) a permis dans quelques cas, de stabiliser l'évolution du cancer du pancréas. Cet effet a également été observé chez des patients souffrant de cancer colorectal.

I.1.8. Conclusion :

Ces dernières années l'intérêt pour les produits naturels n'a cessé d'augmenter. La curcumine est un antioxydant naturel prometteur et non toxique, ayant un large spectre de fonctions biologiques. La curcumine devrait trouver une application en tant que nouveau médicament dans un futur proche pour contrôler des maladies variées, notamment les désordres inflammatoires, la carcinogenèse, et les pathologies causées par le stress oxydatif. C'est ainsi que le curcuma passera de simple épice à un véritable médicament, dont les multiples indications sont encore à découvrir et à définir.

I.2. LA CURCUMINE :

I.2.1. Introduction :

La curcumine, molécule chef de file de la famille des diarylheptanoïdes, est le principe actif de plusieurs curcumas, d'autres *Zingiberaceae*. La curcumine présente un grand nombre de propriétés pharmacologiques remarquables. Elle est très bien tolérée. Faisant l'objet d'une attention particulière de la communauté scientifique internationale, la curcumine donne lieu à des travaux de pharmacomodulation et de formulation, visant à améliorer son efficacité et sa biodisponibilité [1].

I.2.2. Histoire de la curcumine :

La découverte de la curcumine présente dans le curcuma parmi les autres curcuminoïdes, remonte au milieu du siècle des lumières quand Vogel et Pelletier publient en 1815 dans le Journal de Pharmacie et Sciences Accessoires l'isolement de la « matière colorante jaune » des rhizomes de Curcuma dans leur essai intitulé « Examen chimique de la racine de Curcuma ». A la suite de quoi ils ont nommé cette matière curcumine [14].

En 1842, Vogel pense avoir produit de la curcumine de synthèse pure mais n'en publie pas la formule précise. Ce n'est qu'en 1910, après l'émission de conjectures diverses, que Milobedzka et Lampe identifient la structure chimique de la curcumine comme le diféruloylméthane ou (1E, 6E)-1,7-bis (4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1,6-heptadiène-3,5-dione (Figure I.5). Ils en publient la synthèse en 1913 puis Srinivasan sépare et quantifie les composants du curcuma par chromatographie [3].

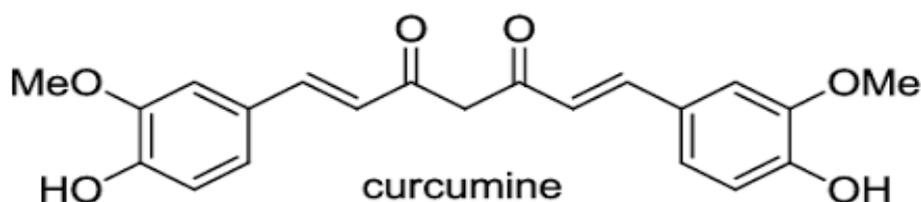


Figure I.5 : Structure de la curcumine.

Alors que le curcuma, principale source de curcumine, est utilisé à l'échelle mondiale comme une épice, ce n'est qu'au cours de la première moitié du XXe siècle que ses caractéristiques biologiques commencent à être étudiées. Schraufstatter et Bernt décrivent le pouvoir antibactérien et antifongique de la curcumine dans la revue Nature en 1949 [3]. Ils ont prouvé

son activité sur des souches de *Staphylococcus aureus*, de *Salmonella paratyphi*, *Mycobacterium tuberculosis* et également sur un champignon micromycète tellurique *Trichophyton gypseum*. Les curcuminoïdes ont été également isolés à partir d'autres espèces du genre *Curcuma* : *C. phaeocaulis* Val., *C. aromatica* Salisb., *C. mangga* Val et *C. xanthorrhiza* Roxb, elles contiennent une quantité importante de curcumine ; certains curcuminoïdes ont été isolés de plusieurs genres de *Zingiberaceae* n'appartenant pas au genre *Curcuma* : *Aframomum*, *Alpinia*.

I.2.3. Isolement de la curcumine :

Il existe différentes manières d'isoler la curcumine du curcuma. Les curcuminoïdes ne sont pas solubles dans l'eau donc l'extraction doit être faite à l'aide d'autres solvants. Plusieurs ont été évalués tels que l'hexane, l'acétone, le dichloréthylène, le méthanol et l'éthanol. Il est montré que l'acétone est le solvant qui procure le meilleur rendement d'extraction [15].

Quelle que soit la technique employée, la seule manière d'obtenir une curcumine pure est de l'isoler à l'aide d'une méthode chromatographique préparative comme la colonne chromatographique sur gel de silice. Les essais préalables en chromatographie sur couche mince donnent le meilleur mélange d'éluant pour la séparation des curcuminoïdes : (chloroforme : méthanol) à (95:5) avec des rapports frontaux à 0,75, 0,55 et 0,27 pour la curcumine, la déméthoxycurcumine et la bisdéméthoxycurcumine respectivement. Une fois isolés, la cristallisation de ces trois curcuminoïdes peut avoir lieu par évaporation lente du mélange de solvant (chloroforme : méthanol) (5:2) à la température de 5°C [3]. Il peut être intéressant d'isoler la curcumine pure, cependant, il ne faut pas négliger le problème des quantités isolables à partir du curcuma, les difficultés de purifications inhérentes aux techniques chromatographiques, le volume de solvant à utiliser et le coût de ces purifications. On ne peut pas négliger non plus les risques de dégradation de la curcumine qui est un produit instable et thermosensible [2].

I.2.3.1. Synthèse et biosynthèse de la curcumine :

I.2.3.1.1. Biosynthèse :

Les voies de biosynthèse de la curcumine ont été au centre de beaucoup d'études pour lesquelles l'utilisation d'éléments radio-marqués étaient indispensables. Prendre en exemple

les travaux de Roughley et Whiting qui furent les premiers à décrire, en 1973, l'utilisation de préparation à base de [1- et 3-¹⁴C]phénylalanine et d'acides cinnamiques diversement substitués tels que l'acide [3H]-4-hydroxy-3-méthoxy-cinnamique [16]. La biosynthèse de la curcumine peut être qualifiée de synthèse multi-étapes dans laquelle le paracoumaroyl-Coenzyme A 6, élément clé, est produit à partir de l'acide aminé L-phénylalanine 5 et du malonyl-CoA 7 qui apporte l'atome de carbone central.

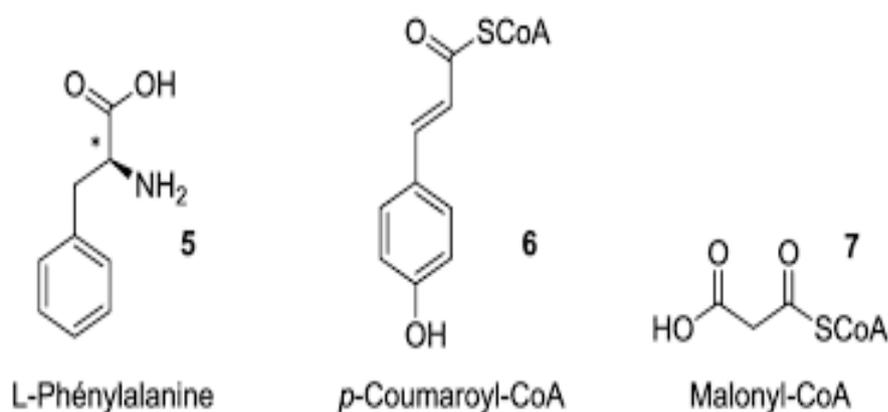


Figure I.6 : Les trois composés nécessaires à la biosynthèse de la curcumine.

C'est grâce aux travaux de Kita et *al*, en 2008 [17] qui se sont intéressés particulièrement à la curcumine que nous pouvons aujourd'hui décrire cette biosynthèse. Il existe, dans cette biosynthèse très simplifiée, de nombreuses étapes et enzymes qui peuvent modifier les groupements fonctionnels des 2 noyaux aromatiques. Leur présence explique que l'on trouve des curcuminoïdes et d'autres composés lorsque l'on procède à l'extraction des rhizomes de curcuma. Cette présence de produits « non-désirés » dans l'industrie, ajoutée à la faible quantité de curcumine pure extraite de ceux-ci, font qu'il est préférable et moins onéreux d'obtenir la curcumine pure par synthèse organique.

I.2.3.1.2. Synthèse organique de la curcumine :

On retrouve dans la littérature des synthèses comportant de nombreuses et fastidieuses étapes. Ce fut Lampe, en 1918, qui décrit la première synthèse de la curcumine en 5 étapes. Cette synthèse propose de commencer par la condensation d'un dérivé de l'acide ferulique, le chlorure de carbométhoxyféruloate et l'acétoacétate d'éthyle qui donnent l'acétyloxopentenoate d'éthyle. Ensuite une saponification et une décarboxylation mènent à un produit intermédiaire, qui est de nouveau engagé dans une condensation avec du chlorure de carbométhoxyféruloate. Ce dernier produit de condensation de type « carbométhoxy

diféruoyl acétone » est ensuite hydrolysé en milieu acide dilué à chaud pour former la curcumine [3]. Une autre méthode de synthèse est intéressante à relater car elle consiste en l'assemblage «one step» de la curcumine, ce qui correspond à une technique de synthèse dite multi composants et fait partie des procédés symétriques. Elle a été décrite par Pavolini en 1950 avec un temps réactionnel de 30 minutes et un rendement de 10% [14]. Pabon en 1964 s'attache à améliorer la méthode de Pavolini. Tout d'abord, devant ce rendement médiocre, Pabon a émis l'hypothèse de la formation d'un borocomplexe. Le rendement de la synthèse est ainsi augmenté à 80%. Les matières premières et le réactif principal sont les mêmes [14].

I.2.3.2. Caractéristique structurales de la curcumine :

a. UV-visible :

Le spectre UV-visible d'une solution de curcumine dans l'alcool éthylique montre une absorption forte de 320 à 500 nm. En présence de base, cette bande est déplacée jusqu'à 640 nm. Dans le méthanol, le coefficient d'absorption molaire (ϵ) est égal à $4,8 \cdot 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ pour $\lambda_{\text{max}} = 428 \text{ nm}$. Les variations de λ_{max} et ϵ sont dues à l'aptitude de la curcumine à former des liaisons hydrogène inter- ou intramoléculaires, en fonction du solvant [3].

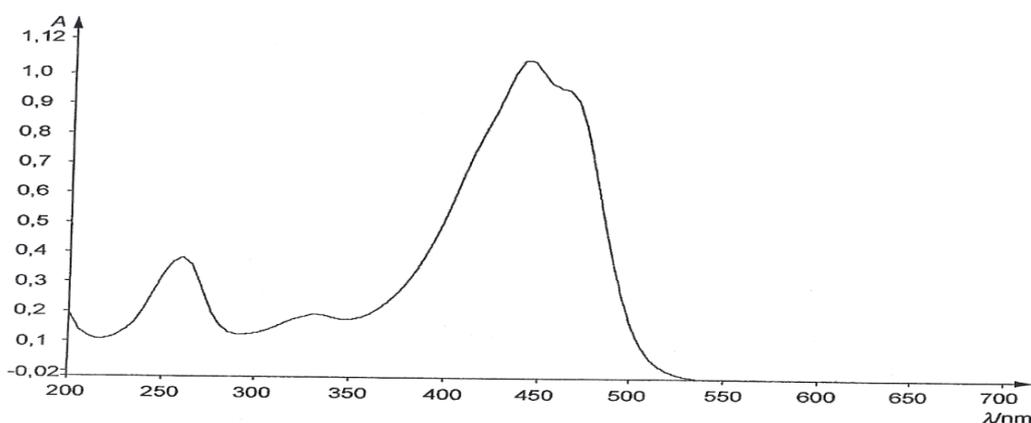


Figure I.7 : Spectre UV-visible de la curcumine C1 [59].

Les tétrahydrocurcuminoïdes sont des dérivés hydrogénés des curcuminoïdes et ils sont connus comme composés antioxydants efficaces. Les premières données spectrales UV-visible des tétrahydrocurcuminoïdes (THC1, THC2 et THC3) ont été étudiées par Sugiyama (1996) [3]. Les résultats sont rassemblés dans le tableau I.3.

Tableau I.3 : Position et intensité de la 1ère bande d'absorption UV-visible de THC1, THC2 et THC3 [18] :

Molécule	Solvant	λ_{max} (nm)	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
THC1	Méthanol	281	14800
	Ethanol	282	17380
THC2	Méthanol	280	16218
THC3	Méthanol	279	14125

b. IR :

Les différentes bandes d'absorption infrarouge de THC1, THC2 et THC3 décrites dans la littérature ont été réunies dans le tableau I.4 [3].

Tableau I.4 : Données spectrales Infrarouge de THC1, THC2, THC3 [44, 45] :

Bandes d'absorption (cm ⁻¹)			Groupes
THC1	THC2	THC3	
3440	3398	3153	ν OH (liaison H)
2930	2936	/	élongation C-H (méthyle)
1611	1613	1602	ν CO (chélaté)
1271	1269	1248	phénol
1033	1033	1039	élongation C-O-C (méthoxyle)

c. RMN :

Des études ont montré que la tétrahydrocurcumine n'existe que sous forme énolique dans le méthanol deutérié et le chloroforme deutérié [3].

I.2.4. Propriétés physico-chimiques :

I.2.4.1. Solubilité de la curcumine :

La curcumine n'est pas soluble dans les solutions aqueuses mais facilement soluble dans les solvants organiques, ce qui est confirmé par la mesure de son coefficient de partage logP, qui varie entre 2,3 et 2,6 [3]. Elle possède une très bonne solubilité dans les solvants

polaires aprotiques et protiques, par ordre de solubilité décroissant : acétone > 2-butanone > acétate d'éthyle > méthanol > éthanol > 1,2-dichloréthane > 2-propanol > éther diéthylique > benzène > hexane [14]. Un solvant très utilisé pour les évaluations biologiques de la curcumine est le diméthylsulfoxyde ou DMSO, dans lequel la curcumine est soluble à 11 mg.ml⁻¹. Il possède une DL₅₀ (Dose létale médiane) de 18 g.kg⁻¹. Le DMSO n'est pas utilisé pure, mais en faible concentration en mélange avec l'eau (1% maximum). Le DMSO possède des propriétés de solvations exceptionnelles, Il est capable de solvater des molécules dont les polarités et les profils de solubilité sont très variés [18]. La lipophilie de la curcumine impose des conséquences biochimiques qui se résument dans deux points :

Le premier avantage de cette lipophilie est que la chaîne centrale peut interagir avec des aminoacides hydrophobes dans des sites actifs de protéines. Par exemple, une étude de docking (une méthode qui calcule l'orientation préférée d'une molécule vers une seconde lorsqu'elles sont liées pour former un complexe stable [22]) menée par Liu *et al.* [3] en 2008 a confirmé, entre autres, les interactions hydrophobes entre la curcumine et l'alanine 92 et les tyrosines 91, 94 et 98 des Immunoglobuline G (Ig G) humaines. Cette étude visait à faire de ces immunoglobulines des transporteurs et vecteurs de curcumine, qui est, comme nous le verrons ultérieurement, un composé difficilement biodisponible et dont la vectorisation est une des solutions à l'étude afin d'en améliorer la drugabilité (si un médicament a déjà été identifié pour une cible, cette cible est par définition droguable). De manière générale on retrouve ce type d'interaction hydrophobe entre le linker central de la curcumine avec des aminoacides hydrophobes comme la leucine, l'isoleucine, l'alanine, la glycine et la valine. Il est également possible que ces liaisons hydrophobes renforcent certaines liaisons électrostatiques entre la curcumine et des résidus polaires [3].

Le deuxième avantage de cette lipophilie est la capacité de la curcumine à interagir avec les biomembranes. Des études d'intercalation de curcumine *in vitro* dans des modèles de membranes composées de phosphatidyl choline mono-insaturées et saturées l'ont montré [3]. L'association de ces modèles de membranes avec la curcumine permet de mesurer de bonnes constantes de partage qui sont le reflet de sa capacité à être intégrée directement dans une cellule par intercalation dans les membranes [3].

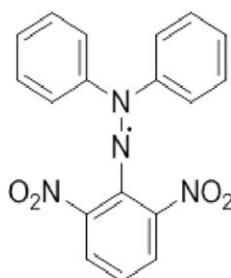
I.2.4.2. Stabilité de la curcumine :

La connaissance de cette stabilité aide les scientifiques à optimiser la formulation galénique nécessaire pour obtenir une biodisponibilité suffisante et limite la toxicité

occasionnée par les produits de dégradation ou de métabolisme. La curcumine est un composé particulièrement sensible car sa dégradation peut être médiée par plusieurs processus et générée dans différents milieux.

I.2.4.2.1. Modification et dégradation oxydative in vitro de la curcumine :

L'oxydation est le mode de dégradation principal de la curcumine. Il est médié par les Espèces Réactives de l'Oxygène ou ERO. Ces propriétés réactives ne sont pas sans conséquences sur la curcumine qui subit des modifications structurales ou des dégradations. Les modifications structurales peuvent être le résultat de cyclisations intramoléculaires ou de polymérisations induites par la présence d'ERO. La curcumine est également capable d'auto-oxydation pour former le même type de composés rencontrés après l'action des EROs. Du point de vue des tests in vitro quant à l'évaluation de son activité antioxydante, il est intéressant de relever la réactivité de la curcumine avec des radicaux non physiologiques tels que le radical 2,2diphényl-1-picrylhydrazyle ou DPP [3].



Radical diphényle picryl hydrazyle DPPH, violet

Figure I.8 : Structure développée du radicale stable N centré DPP [14].

I.2.4.2.2. Dégradations photochimiques de la curcumine :

La dégradation photochimique de la curcumine à l'état cristalline dépend du temps d'exposition à la lumière car elle absorbe fortement dans les longueurs d'onde du domaine du visible et semble dépendre du type de solvant utilisé pour l'extraction. Ainsi après 120 h de radiation lumineuse, l'on retrouve 34% de vanilline si l'on extrait à l'aide d'éthanol contre seulement 2% à l'aide de méthanol [3]. Les produits de dégradation sont les mêmes qu'à l'état solide et le solvant influe également sur la cinétique de dégradation qui est mesurée par la constante de dégradation k_{deg} .

I.2.4.2.3. Dégradations chimiques de la curcumine :

En terme de dégradation chimique, on distingue la solvolysse qui est due aux ions hydroxyles présents dans le solvant, des autres processus de dégradation chimique non médiés par les radiations lumineuses. Les produits de la solvolysse sont cependant moins nombreux. On retrouve la vanilline, l'acide férulique et le féruloïl méthane (figure I.9).

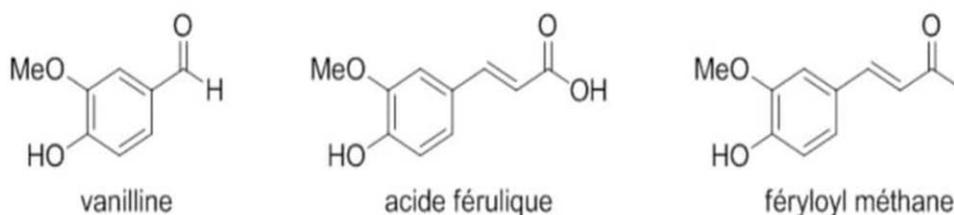


Figure I.9 : Produits de solvolysse de la curcumine parmi lesquels on retrouve deux matières premières : la vanilline et l'acide férulique.

Les processus chimiques sont nombreux et sont majoritairement des mécanismes d'oxydo-réduction faisant intervenir des ERO qui peuvent être catalysées par des cations métalliques tels que le fer ou le cuivre. Ces réactions peuvent conduire à des dimérisations ou des cyclisations en fonction des espèces radicalaires générées [3].

I.2.4.2.4. Conséquences de l'instabilité (photo)chimique de la curcumine pour les préparations pharmaceutiques :

L'instabilité de la curcumine est un des inconvénients à l'origine de nombreux problèmes de biodisponibilité et de formulation pour l'ensemble du corps médical, particulièrement de l'industrie pharmaceutique et enfin pour les éventuels patients malades [14].

Sa stabilité vis-à-vis des solvants aqueux oblige les galénistes à inclure, pour une administration orale, une grande quantité de curcumine pour compenser une baisse d'activité pharmacologique. Bien évidemment, elle est dissoute dans des solvants pour lesquels sa stabilité est très satisfaisante (DMSO, éthanol) mais entre par la suite en contact avec les milieux aqueux du corps humain comme le suc gastrique, le sang ou encore le cytosol cellulaire. De plus, on ne peut pas comparer directement les milieux physiologiques avec des modèles in vitro de tampon en milieu aqueux. Il faut également prendre en compte les

éléments actifs constituant les milieux physiologiques. Ainsi, en situation physiologique ou pathologique, les enzymes digestives, sanguines et cellulaires constituent également de grands « obstacles » à surmonter afin d'observer une activité physiologique pour la curcumine. Des essais cliniques ont montré que des administrations orales allant de 2 à 12 g/j ne peuvent déceimment être administrées à des patients atteints de cancers sans causer une baisse de l'observance [3].

I.2.5. Biodisponibilité et formulation :

I.2.5.1. Curcumine : Eléments de biodisponibilité :

Après avoir détaillé les propriétés physico-chimiques de la curcumine il convient de faire le point et de rassembler ces informations pour mieux comprendre comment cette substance se comporte lors de son utilisation en médecine humaine. La pharmacocinétique permet d'apprécier le devenir d'une molécule active dans le corps humain, alors que la biodisponibilité absolue sera le reflet de ce devenir lorsque l'administration est réalisée par voie intraveineuse, les résultats seront déclinés en fonction de la biodisponibilité relative selon les autres voies d'administrations (orale, rectal, pulmonaire, sublinguale, cutanée, nasale...).

I.2.5.1.1. Par voie orale :

I.2.5.1.1.1. Absorption :

Une dose de 0,6 mg/kg de curcumine radiomarquée (H_3) est excrétée après 72 heures à 89% dans les fèces et 6% dans les urines. En 1980, Ravindranath et Chandrasekhara [19] ont rapporté que la curcumine, après une administration orale, était absorbée aux environs de 60%. Ils ont également observé qu'au bout de 24 heures, 38% de la dose administrée était présente dans le colon. En outre, quelques traces de curcumines furent détectées dans le tissu hépatique et le tissu rénal, alors qu'aucune trace n'était retrouvée dans la veine porte dans les 24 heures qui suivirent l'administration. A partir de ces données, une absorption de la curcumine est peu probable, contrairement à ce qui est postulé précédemment.

I.2.5.1.1.2. Distribution :

Une étude chez le rat, après une administration d'une dose de charge de 400 mg, seulement des traces de curcumine inchangée ont été retrouvées au niveau du foie et des reins. Il reste à 30 min de la prise orale, 90% de curcumine inchangée dans l'estomac et le

tractus digestif, en revanche à 24 h on n'en retrouve que 1%. Dans la mesure où la curcumine possède des activités intéressantes pour les maladies neurodégénératives, sa distribution tissulaire cérébrale est également médiocre. Une étude faite chez la souris montre une très faible quantité de curcumine, 0,4µg/g, 1 heure après administration intra-péritonéale de 0,1 g/kg [20].

I.2.5.1.1.3. Métabolisation :

La curcumine subit une transformation durant son absorption via l'intestin et probablement un cycle entéro-hépatique. Elle connaît une réduction puis une conjugaison, la réduction métabolique se produisant en quelques minutes en suspension en présence d'hépatocytes humains isolés. Récemment une étude de la métabolisation in vitro de la curcumine par des microsomes humains et de rats, a montré que la curcumine subit une O-déméthylation, une réduction et une glucuronidation [21]. La métabolisation par premier passage hépatique et l'excrétion dans la bile sont très rapides. Lors d'une étude sur sa métabolisation, la curcumine a été administrée oralement à des rats à la dose de 500 mg/kg. Dans de telles conditions, de petites quantités de curcumine, d'hexahydrocurcumine, d'hexahydrocurcuminol, et de glucurono-hexahydrocurcumine, ainsi que des quantités plus importantes de glucurono-curcumine et de sulfo-curcumine sont retrouvées dans le plasma (Figure I.10).

I.2.5.1.1.4. Elimination et demi vie de la curcumine :

L'élimination d'un composé est appréciée par le calcul de la demi-vie qui correspond au temps qu'il faut à l'organisme pour éliminer la moitié de la quantité de médicament parvenue jusqu'au compartiment plasmatique ou pour atteindre la moitié de la concentration maximale. Chez le rat, après une administration orale à la dose de 1 g/kg, 75% de curcumine sont retrouvés dans les fèces et quasiment rien n'est retrouvé dans les urines. Par voie intraveineuse ou intrapéritonéale, après administration d'une dose de 400 mg, 40% de curcumine sont retrouvés sous forme inchangée dans les fèces. La voie majeure d'élimination de curcumine radiomarquée est également biliaire mais elle n'est pas distinguable, par compteur de radioactivité, de ses conjugués. Nous n'avons de demi-vie d'élimination que dans les cas d'administration chez le rat qui est de $1,7 \pm 0,5$ h. Chez l'Homme, à la même dose que chez le rat, les taux de curcumine absorbée sont si faibles qu'ils n'ont pas produit de données exploitables pour le calcul des caractéristiques d'élimination de la curcumine.

La curcumine est donc un composé qui souffre d'une biodisponibilité non seulement médiocre mais difficile à déterminer. Pour résumer, malgré une absorption assez satisfaisante, la curcumine subit un fort effet de premier passage hépatique pour être métabolisée rapidement en dérivés conjugués ou réduits puis conjugués qui seront éliminés ou excrétés rapidement quels que soient le mode et la voie d'administration [14].

I.2.5.1.2. Par voie intraveineuse ou intrapéritonéale :

Les concentrations atteintes par voie intrapéritonéale ne sont pas sensiblement différentes de celles obtenues par voie orale. Quinze minutes après administration de 0,1g/kg de curcumine à des souris, la concentration plasmatique relevée est de 2,25µg/ml. Une heure après administration, la concentration atteint 177,04µg/g dans l'intestin, 26,06 µg/g dans la rate, 26,90µg/g dans le foie, 7,51µg/g dans le rein, et seules des traces sont retrouvées dans le cerveau (0,41µg/g). Après administration intraveineuse et intrapéritonéale, de grandes quantités de curcumine et de ses métabolites sont excrétées dans la bile, principalement sous forme de glucuronides de tétrahydrocurcumine et d'hexahydrocurcumine. Suite à l'administration intrapéritonéale, la curcumine semble transformée tout d'abord en dihydrocurcumine et en tétrahydrocurcumine, ces composés étant ensuite convertis en monoglucurono-conjugués [3].

I.2.6. Conclusion :

La curcumine semble être le principe actif le plus intéressant du curcuma, et de toute la famille des *Zingiberaceae*. Cependant, sa biodisponibilité médiocre explique qu'elle ne soit pas utilisée en clinique de nos jours mais encourage la recherche de solutions toujours plus innovantes pour la rendre efficace.

I.3. Effets secondaires, contre-indications et interactions :

Le curcuma est une épice excellente pour la santé comme on l'a déjà définie bien avant dans les précédents paragraphes. Cependant, dans certains cas, et comme toutes les plantes de phytothérapie, il peut occasionner certains effets notoires et indésirables.

I.3.1. Le dosage :

Il faut bien comprendre que les effets de toute substance dépendent directement du dosage. On consomme le curcuma sous forme de gélules, de comprimés, de compléments alimentaires, d'épices, de racines séchées, de racines fraîches, et chaque forme de curcuma possède une concentration différente en curcumine.

I.3.2. Effets secondaires :

Frank et *al.* [22] ont rapporté que la curcumine liée à du cuivre perd sa capacité à inhiber les tumeurs du rein et du foie chez les rats. Des auteurs ont recensé des dermatites allergiques de contact et de l'urticaire chez l'homme [22], notamment après exposition directe avec la peau ou le cuir chevelu. Les personnes allergiques aux plantes du genre *curcuma* sont plus susceptibles de faire une réaction allergique au *Curcuma Longa*.

De plus, bien qu'une douzaine d'études aient montré que la curcumine potentialise l'effet d'agents chimiothérapeutiques, une étude chez les souris a montré qu'une supplémentation en curcumine a inhibé les effets antiprolifératifs du cyclophosphamide sur des cellules de cancer mammaire. Cependant, l'étude a été conduite sur seulement trois jours.

Cet effet peut s'expliquer par l'un des mécanismes d'action de la curcumine en induisant les teneurs en GSH et la conjugaison par les GST de produits de lipoperoxydation, la curcumine protège aussi contre la néphrotoxicité et la cardiotoxicité liées à la bioactivation pro-oxydante de la doxorubicine et à l'apoptose induite chez le rat, suggérant qu'il est préférable d'interrompre la consommation de curcumine afin de préserver l'efficacité clinique des médicaments anticancéreux dont l'action cytotoxique est liée à la production d'ERO [22].

Les effets indésirables rapportés cliniquement sont limités et réduits à des désordres gastro-intestinaux de type nausées et diarrhées, ce qui peut être minimisé par la consommation de curcumine au moment des repas. Le curcuma peut provoquer des problèmes d'estomac, surtout à haute dose ou s'il est pris sur une longue période. Des brûlures d'estomac ont été rapportées chez les patients traités pour des ulcères gastriques [3].

I.3.3. Interactions :

Selon des études en laboratoire et sur les animaux, le curcuma peut inhiber les plaquettes et augmenter le risque hémorragique causé par l'interaction avec d'autres médicaments : par exemple : l'aspirine, les anticoagulants comme la *Warfarine* ou l'*héparine*, les antiagrégants plaquettaires comme le *Clopidogel* et les AINS [4].

Le curcuma peut faire baisser la glycémie et la tension artérielles chez les rats, de ce fait, avoir des additifs avec les antidiabétiques oraux et l'insuline ainsi qu'avec des antihypertenseurs.

Concernant les effets sur le cholestérol, le curcuma a augmenté chez l'animal les effets hypocholestérolémiantes des huiles de poisson, de l'ail ou des suppléments alimentaires à base de vitamine D3 [3].

I.3.4. Contre-indications :

Des études cliniques humaines ont suggéré que la curcumine stimule la contraction de la bile et sa vidange. Mais, en raison du manque d'études chez l'homme, l'usage de la curcumine est déconseillé chez les patients ayant des calculs biliaires ou une obstruction des voies biliaires. Il faut dans ce cas précis consulter un spécialiste [3].

I.3.5. Grossesse et allaitement :

Concernant la grossesse et l'allaitement, historiquement, le curcuma est considéré sans risque lorsqu'il est utilisé en tant qu'épice. Cependant, le curcuma a déjà provoqué des stimulations utérines et peut stimuler l'apparition des règles. Des précautions sont donc à prendre lors de la grossesse, par manque d'études cliniques. Des études chez l'animal ont néanmoins démontré que la prise de curcumine n'a pas affecté le développement fœtal [3].

Chapitre II : Procédés d'extraction de la curcumine.

II.1. Introduction :

L'étape d'extraction qui a pour but la désorption des molécules d'intérêt des sites actifs de la matrice végétale, est primordiale puisqu'elle déterminera la nature et la quantité des molécules extraites et par conséquent le succès des étapes suivantes. L'extraction de produits naturels est généralement de type solide-liquide, c'est-à-dire qu'un solide, la matrice végétale, est mélangé avec un liquide, le solvant d'extraction.

II.2. Procédé d'extraction de la poudre de curcuma

La poudre de curcuma peut être obtenue selon un procédé défini par « The Food and Agricultural Organization of the United Nations » qui publie ces protocoles sous la forme de recommandations post-récoltes. Les rhizomes doivent être, avant tout procédé, nettoyés en les faisant bouillir dans l'eau jusqu'à ce qu'ils deviennent mous ou encore jusqu'à ce qu'on sente l'odeur caractéristique du curcuma, ce qui représente environ 45 min à 1h. Ce procédé gélifie l'amidon pour permettre un séchage uniforme et élimine les traces et les odeurs de terre fraîche dans laquelle ils ont été cultivés. Cette étape doit avoir lieu au maximum dans les 3 jours après la récolte. Ensuite, ils sont séchés une première fois rapidement avant d'être coupés grossièrement à l'aide d'une machine à découper spécialement développée pour les rhizomes de curcuma [3].

Le temps de séchage qui fait suite à cette opération doit durer entre 10 et 15 jours. Cette étape peut être réalisée au soleil mais elle ne fournit pas de curcuma de bonne qualité car c'est une poudre photosensible. On préférera les sécher dans des tunnels ventilés et chauffés à la température de 60°C, température qualifiée d'optimale. L'avant dernière étape a pour but d'enlever les radicelles restantes et les écailles à la surface des rhizomes en utilisant des tambours rotatifs dans lesquels un maillage métallique a été installé pour éroder leur surface. A ce stade le rhizome est déjà commercialement exploitable sous une forme dans laquelle on peut le retrouver sur certains étals de marchés. Ces rhizomes sont aspergés d'eau contenant de la poudre de curcuma puis séchés de nouveau afin de leur donner un bel aspect (Figure II.1). Pour obtenir une poudre, une ultime étape de broyage et de tamisage à travers plusieurs écrans doit être réalisée.



Figure II.1 : Photographie représentant des rhizomes saupoudrés de curcuma et de la poudre de curcuma telle qu'elle est à la fin des procédés de broyage et tamisage.

II.2.1. Procédé d'extraction :

L'huile essentielle de curcuma est obtenue par extraction à partir des rhizomes. Le protocole d'extraction est le suivant [23] :

- Les rhizomes sont lavés avec de l'eau, coupés en morceaux et séchés une semaine au soleil puis 6 heures dans une étuve à 50°C ;
- Ils sont ensuite coupés en morceaux plus fins puis placés au contact de l'éthanol absolu (solvant d'extraction), mixés et stockés à l'abri de la lumière à température ambiante ;
- L'extrait est alors filtré sur filtre Wattman No. 1 et le filtrat est évaporé sous pression réduite.

La qualité d'un extrait de curcuma est fonction de sa teneur en curcumine celle-ci possède, entre-autres, une forte activité anti-oxydante à l'inverse des autres curcuminoïdes se trouvant dans l'extrait. L'extraction peut être faite à chaud avec un appareil de Soxhlet (Figure II.4).

Il existe d'autres méthodes d'obtention d'huile essentielle de curcuma telle que la distillation. Cependant, ces méthodes ont un inconvénient majeur. Il a été prouvé que la température réduit le caractère antioxydant de l'huile essentielle recueillie, et donc, sa qualité. En conséquence, l'utilisation de la chaleur rend ces techniques impropres à l'obtention à l'échelle industrielle de curcumine de qualité [23].

L'huile essentielle de curcuma se compose également en petites quantités de monoterpènes oxygénés, associés à de petites quantités de sesquiterpènes hydrocarbonés et de monoterpènes hydrocarbonés. La contribution relative de chaque composant à l'arôme et à la saveur est mal connue. L'arôme de l'huile essentielle distillée à la vapeur est différent de celui de l'épice [3].

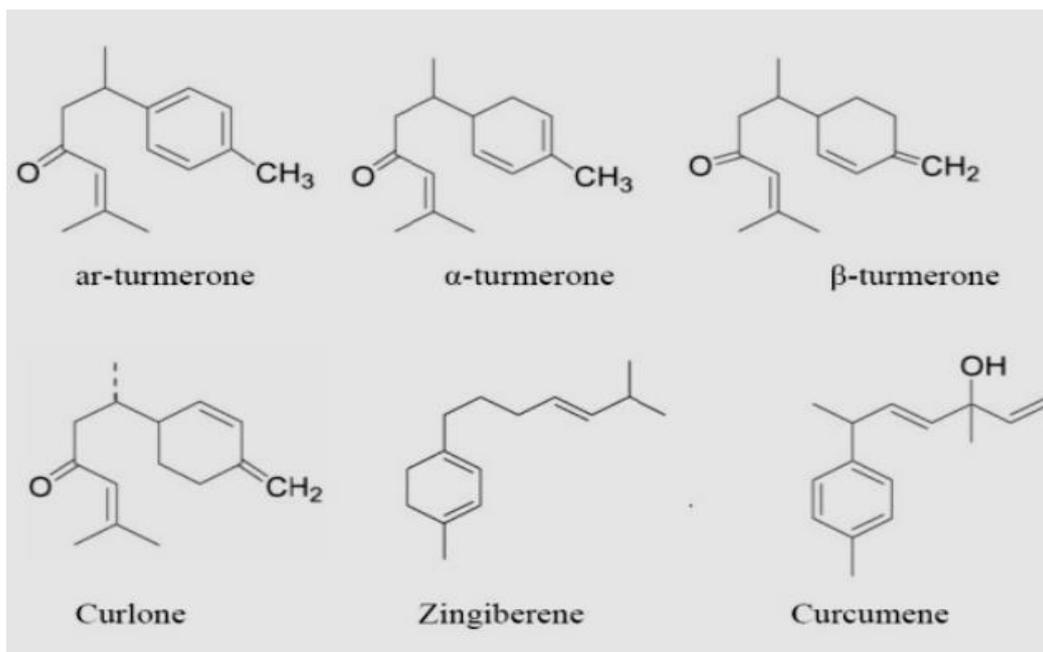


Figure I.3 : Structure chimique des principaux constituants de l'huile essentielle de curcuma [4].

II.2.2. Extraction par hydrodistillation :

Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique, et comme les huiles essentielles sont insolubles dans l'eau mais soluble dans la vapeur, lorsqu'on envoie de la vapeur d'eau sur la plante, elle se charge au passage des huiles [1].

La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange azéotropique « eau + huile essentielle » distille à une température égale 100°C à pression atmosphérique alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées, la vapeur d'eau ainsi restée de ces essences est envoyée dans un compartiment pour refroidir. La vapeur redevint donc liquide et les huiles s'en désolidarisent (elles flottent à la surface), on les récupère alors par décantation [1].

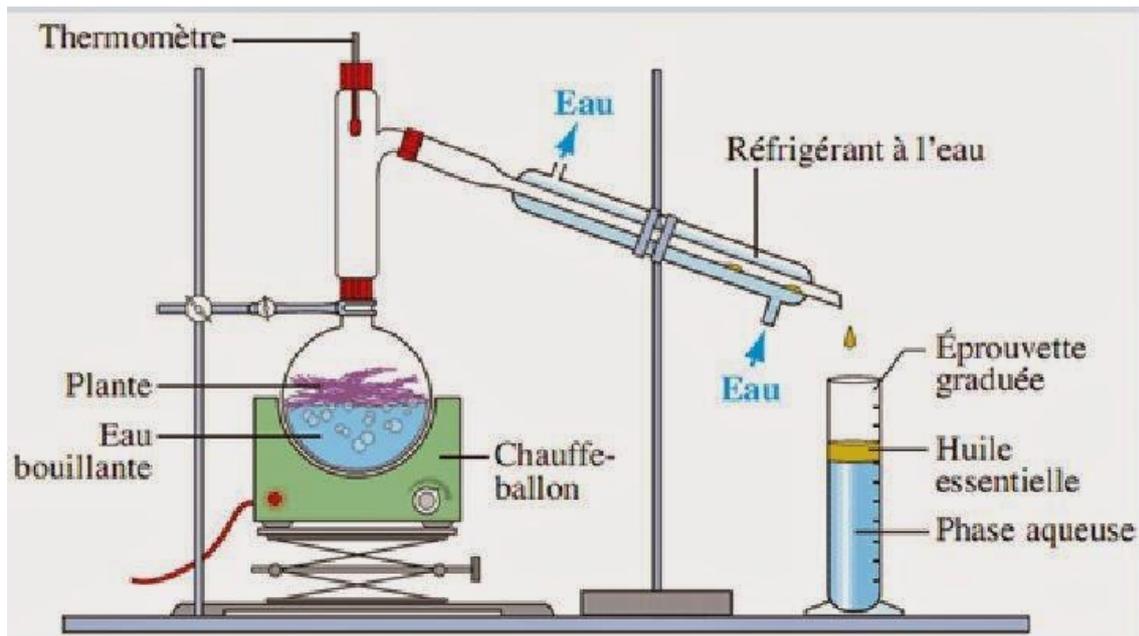


Figure II.2 : Montage d'hydrodistillation.

II.2.3. Entraînement à la vapeur d'eau (vapo-hydrodistillation) :

Le matériel végétal, dans ce cas se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic. La partie inférieure de celui-ci est remplie d'eau. Le niveau de cette dernière doit permettre d'éviter tout contact entre l'eau et la plante. Les particules de vapeurs d'eau, se dirigeant vers le haut, font éclater les cellules contenant l'essence et entraînent avec elles les molécules odorantes. La vapeur passe ensuite à travers un récipient réfrigérant ou la température diminue, provoquant le détachement des molécules huileuses des particules de vapeurs, qui se condense en eau. L'huile et l'eau se séparent du fait de leur poids spécifique différent : l'huile flottera sur l'eau car elle est plus légère. A travers un robinet, on fait couler le distillat qui contiendra les composants hydrosolubles de l'essence (eau aromatique) et l'on obtient ainsi l'huile essentielle pure. Parfois les huiles essentielles sont soumises à une rectification pour éliminer certaines substances particulièrement irritantes. Il est à noter qu'il est possible de travailler en surpression modérée afin de raccourcir le temps de traitement, limiter l'altération des constituants de l'huile essentielle et d'économiser l'énergie [1].

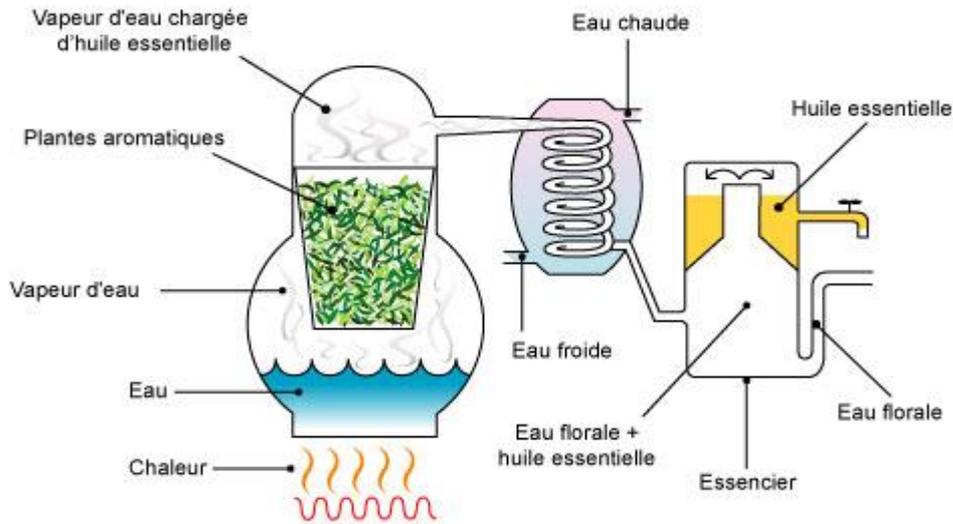


Figure II.3 : Montage d'entraînement à la vapeur.

II.2.4. Extraction solide-liquide :

L'extraction solide-liquide est une opération physique de transfert de matière entre une phase solide, qui contient la substance à extraire et une phase liquide, le solvant d'extraction [24]. Suite au contact entre le solvant et le solide hétérogène, les substances ayant une affinité pour le solvant sont solubilisées et passent de la phase solide dans la phase liquide. Au cours de l'extraction, leurs teneurs (fractions) dans la phase solide diminuent et leurs concentrations dans la phase liquide augmentent. Le transfert de matière se réalise par diffusion moléculaire et par convection. L'extraction est un processus non stationnaire qui s'arrête au moment où s'établit un équilibre entre les deux phases [1].

II.2.4.1. La macération :

C'est une méthode traditionnelle qui consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée, basée sur la solubilité des composés bioactifs dans un solvant d'extraction. La macération est relativement peu coûteuse et aussi la plus simple, elle est utilisable dans le cas de l'extraction d'un ensemble de molécules fragiles et se déroule à température ambiante ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules bioactives qui sont sensibles aux changements de température. Pour être efficace, une macération a des temps d'extraction très longs (environ 4 à 10 jours), ceci peut présenter quelques inconvénients, en termes de fermentation, ou de contamination bactérienne notamment si le solvant utilisé est l'eau [12].

II.2.4.2. Extraction par appareillage soxhlet :

L'extraction par Soxhlet est une extraction par solvant organique d'une espèce contenue dans une poudre solide ou un amas de morceaux de matrice grossiers placés dans une cartouche en papier (filtre épais). Le solvant placé dans un ballon est chauffé jusqu'à ébullition et sa vapeur passe au travers de l'échantillon dans l'extracteur, puis le condenseur où il est condensé et retombe dans l'extracteur contenant la cartouche avec l'échantillon. L'échantillon placé dans le filtre au sien de l'extracteur va progressivement être recouvert par le solvant d'extraction condensé. Quand le solvant atteint le niveau maximal de remplissage au niveau de la cartouche, il se déverse par un siphon vers le ballon de distillation avec les composés ciblés issus de la macération de l'échantillon dans le solvant. Ces différentes étapes (ébullition, condensation, macération, vidange par effet siphon) se répètent de manière cyclique tant que l'ébullition du solvant dans le ballon est maintenue [25].

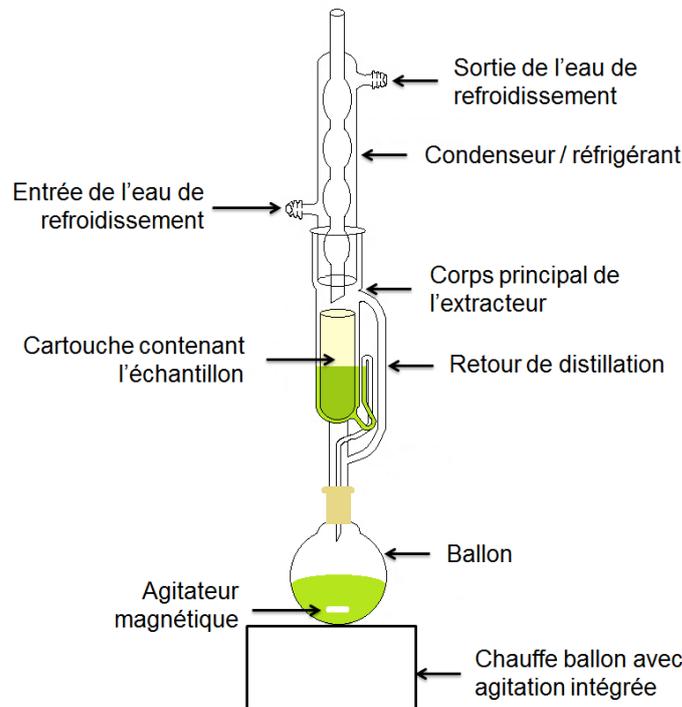


Figure II.4 : Schéma de système soxhlet.

II.2.5. Extraction assistée par ultrasons :

Les expériences d'extraction assistée par ultrasons sont réalisées dans un système de sonde à haute intensité de 200 W et 33 kHz. La sonde à ultrasons est immergée dans des échantillons et placée dans un bain d'eau pour maintenir une température constante. L'échantillon est traité avec différentes puissances ultrasonores, c'est-à-dire des puissances de 25, 50 et 75 W ... et leur effet sur le rendement d'extraction a été surveillé [26].

II.2.6. Extraction assistée par micro-ondes :

L'extraction assistée par micro-ondes de produits naturels d'origine végétale a fait l'objet de nombreux travaux publiés dans des revues scientifiques. Actuellement, les techniques d'extraction par micro-ondes les plus utilisées sont incontestablement l'extraction assistée par micro-ondes par solvant « MAE » et sans solvant « MAP » mise à part l'hydrodistillation par microondes sous vide ou vacuum microwave hydrodistillation « VMHD » et l'entraînement à l'air. Cette extraction est une nouvelle technique caractérisée principalement par la rapidité, l'efficacité et la sélectivité. Elle implique une interaction directe entre un rayonnement électromagnétique et la matière végétale [1].

Pour des plantes à huiles essentielles localisées superficiellement et riches en eau, les micro-ondes permettent tout d'abord l'éclatement des glandes oléifères puis le chauffage de la matière première végétale pour en extraire ses composés. Dans le cas où les huiles essentielles sont à l'intérieur du végétal, l'utilisation des micro-ondes permet d'établir un gradient thermique inversé par rapport à celui obtenu lors d'un chauffage classique. Cette inversion du transfert de matière a pour conséquence de faciliter la diffusion des molécules constitutives des huiles essentielles. Plusieurs études ont montré que le procédé Hydrodistillation assistée par micro-ondes « Microwave Assisted Hydrodistillation (MAHD), comparée à l'hydrodistillation **HD** classique, permet d'obtenir un rendement et une composition d'huile similaire pour un temps d'extraction plus court. Par exemple, l'extraction de l'huile essentielle de Thym nécessite 4 h en HD pour obtenir un rendement maximal de 2,39 % alors qu'avec le procédé MAHD, en 2h la totalité des huiles sont recueillies [1].

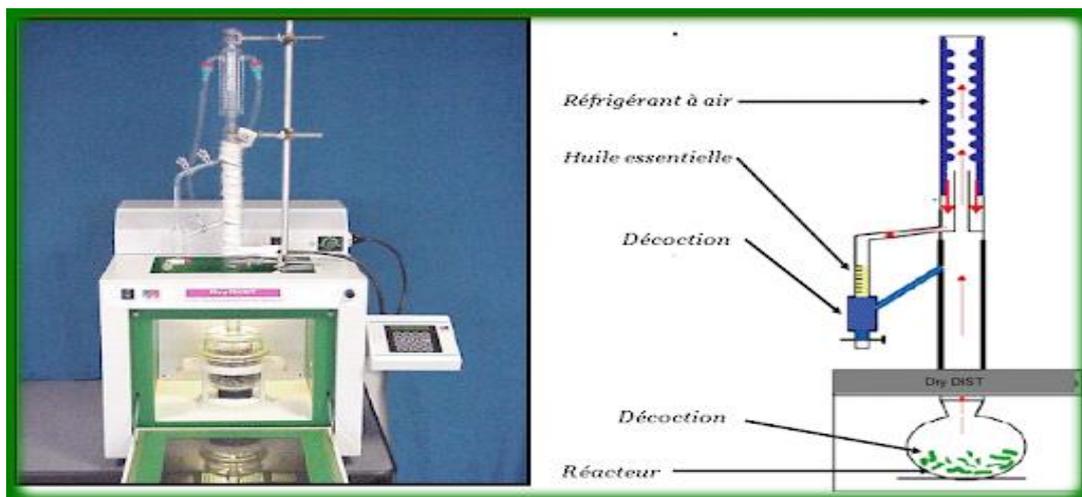


Figure II.5 : Montage représentant le procédé d'extraction d'hydrodistillation assistée par micro-ondes «MAHD» [27].

II.2.7. Extraction par CO₂ supercritique :

Le produit à traiter est placé dans un extracteur traversé par le flux de CO₂ supercritique. A l'état supercritique (plus de 74 bars et de 31 °C), le CO₂ est caractérisé par une grande diffusivité ce qui lui confère une bonne aptitude à la diffusion, et une densité élevée qui le dote d'une capacité de transport et d'extraction importante. Le fluide se charge en composé extrait, puis il est détendu, passe en phase gazeuse et se sépare du composé extrait. Ce dernier est recueilli dans un séparateur. Son utilisation permet d'avoir une extraction sélective et douce sans dénaturer les molécules sensibles mais sa consommation énergétique est très importante pour établir les pressions et les températures [1].

II.3. Méthodes utilisées pour l'amélioration de la biodisponibilité de la curcumine :

II.3.1. Co-administration avec un adjuvant : la pipérine :

La pipérine est un alcaloïde présent dans certaines plantes de la famille des Piperaceae, dont le poivre noir (*Piper nigrum L*) (figure II.6). Elle est connue pour inhiber la glucuroconjugaison hépatique et intestinale. Or, il a été décrit que cette transformation métabolique de phase 2 tient une grande part dans l'élimination de la curcumine.

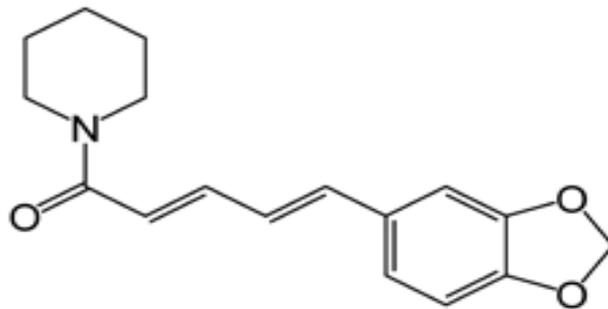


Figure II.6 : Structure de la pipérine.

En 1998, Shoba et *al.* [3] ont évalué les paramètres pharmacocinétiques de la curcumine en co-administrant la pipérine et la curcumine à des volontaires sains. Une dose de 2 g de curcumine administrée par voie orale avec 20 mg de pipérine a fait augmenter la biodisponibilité de la curcumine de 2000 % au regard de la même dose de curcumine administrée seule. Ryu et *al.* [3] ont montré que cette co-administration augmente la distribution tissulaire cérébrale jusqu'à 48 % de plus dans le cerveau que dans le reste de l'organisme.

II.3.2. Variation du pH :

La curcumine est stable à pH acide (estomac), mais pas à pH neutre ou alcalin. Dans des conditions physiologiques *in vitro* (tampon phosphate 0,1 M ; pH 7,2), elle est dégradée à plus de 90 % en féruloylméthane, en acide férulique et en vanilline [21].

II.3.3. Complexes liposomaux, micellaires et phospholipidiques :

a. Liposomes :

Un liposome est une vésicule artificielle formée par des bicouches lipidiques concentriques, celles-ci emprisonnent un compartiment aqueux (figure II.7). Les liposomes sont obtenus à partir d'une grande variété de lipides amphiphiles, dont les plus couramment utilisés sont des phospholipides. Les liposomes sont de plus en plus développés dans la recherche pharmaceutique comme vecteurs de médicaments. Les liposomes peuvent retenir plusieurs types de composés qu'ils soient hydrosolubles ou liposolubles.

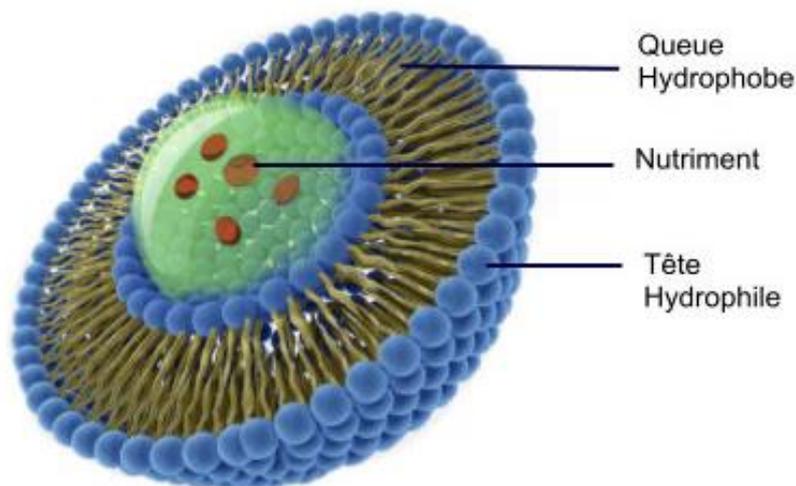


Figure II.7 : Structure de liposome.

Li et *al.* [21] ont encapsulé la curcumine dans un système liposomal qui permettrait une administration intraveineuse et ont également étudié l'activité antitumorale de la curcumine liposomale *in vitro* et *in vivo* dans un modèle du carcinome du pancréas humain. Les auteurs ont montré que la curcumine liposomale inhibe *in vivo* la croissance tumorale, de manière plus puissante que la curcumine. Ruby et *al.* [21] ont testé les activités antitumorale et antioxydante de curcuminoïdes liposomaux *in vivo* chez les souris. D'autres études précliniques ont également montré une augmentation de la biodisponibilité de la curcumine liposomale par rapport à la curcumine. Les paramètres pharmacocinétiques après

administration orale de la curcumine liposomale chez les rats ont été comparés à ceux de la curcumine non mise en forme. Une augmentation de biodisponibilité de la curcumine a été observée dans le cas de la curcumine liposomale, le taux d'absorption était plus élevé que celui de la curcumine seule. Ces résultats indiquent que l'absorption gastro-intestinale de la curcumine est améliorée par l'encapsulation dans des liposomes [21].

b. Complexes micellaires :

Une micelle est un agrégat sphérique de molécules possédant une tête polaire hydrophile dirigée vers le solvant et une chaîne hydrophobe dirigée vers l'intérieur (figure II.8). Elle peut améliorer la biodisponibilité par augmentation de l'absorption digestive et la diminution de l'élimination rénale. Une augmentation de l'absorption intestinale in vitro de la curcumine de 47% à 56% a été observée dans les micelles [21].

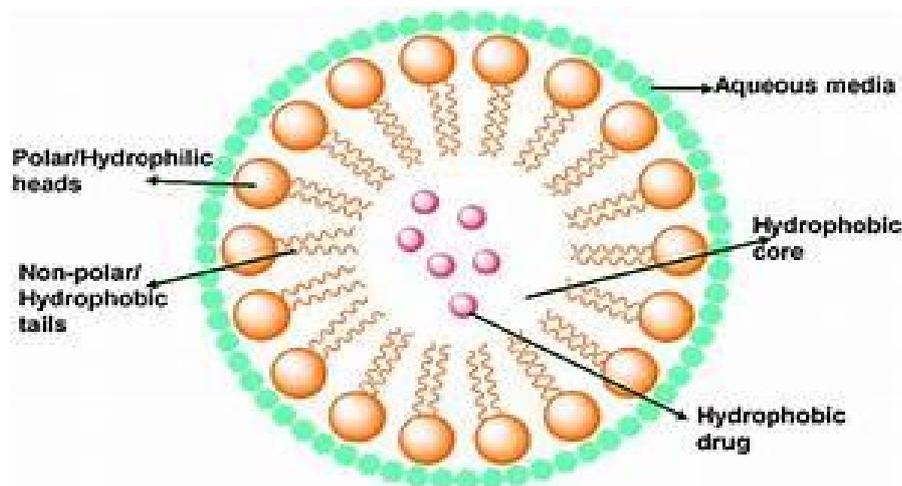


Figure II.8 : Structure d'une micelle.

Des nouvelles micelles copolymères de la curcumine (PLGA-PEG-PLGA) [PLGA : poly (acide lactique co-glycolide)] ont été synthétisées et caractérisées. L'étude de biodistribution chez les souris a montré que les micelles diminuent la séquestration par le foie et la rate et améliorent la distribution dans les poumons et le cerveau. Ces résultats suggèrent que les micelles PLGA-PEG-PLGA seraient un vecteur potentiel pour la curcumine [21]. Pour améliorer l'applicabilité de la curcumine dans le traitement du cancer, une encapsulation de la curcumine dans le (PLGA) (polymère biodégradable), en présence d'alcool vinylique et de poly (L-lysine) stabilisateurs, en utilisant une technique de nanopréciipitation [21].

c. Complexation avec des phospholipides :

Un complexe préparé avec de la curcumine et de la phosphatidylcholine de soja hydrogénée forme une vésicule de phospholipides entre lesquelles s'intercale la curcumine (figure II.9).

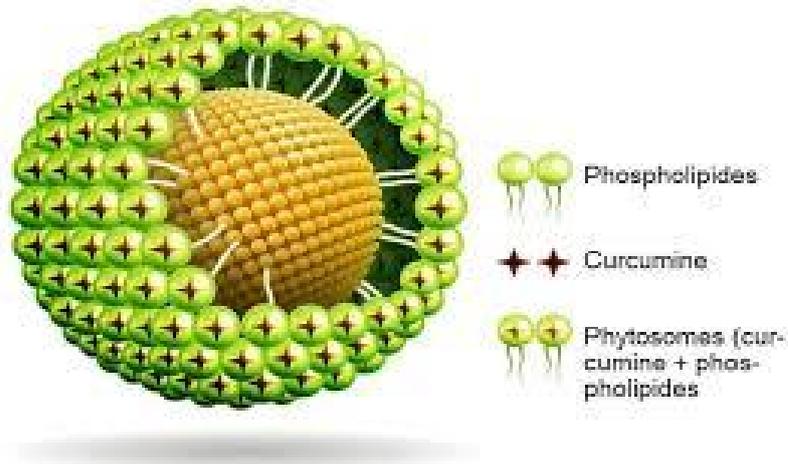


Figure II.9 : Structure du complexe de curcumine-phospholipide.

Cette méthode de complexation augmente la solubilité dans l'eau et dans le n-octanol à 25°C par rapport à la curcumine pure ou au simple mélange curcumine et phospholipide. L'activité antioxydante et l'effet hépatoprotecteur du complexe ont été mesurés chez le rat pour juger son efficacité et ils se sont révélés significativement plus élevés que ceux de la curcumine pure, vraisemblablement grâce à une absorption et une biodisponibilité meilleures [21].

II.3.4. Encapsulation de la curcumine avec des nanoparticules :

Les systèmes de délivrance à partir de nanoparticules conviennent particulièrement aux agents hydrophobes tels que la curcumine. Ils sont souvent de taille inférieure aux formulations liposomales et moins hétérogènes.

La synthèse, la caractérisation physicochimique d'un polymère d'une taille inférieure à 100 nm, baptisé «nanocurcumine», ont été décrites par une équipe de chercheurs en 2007. La nanocurcumine devient complètement soluble dans l'eau. L'absence d'effets secondaires liés à la nano-encapsulation a été constatée sur des souris. Cependant, l'effet et la biodistribution in vivo n'a pas été déterminé [20]. Récemment, des nanoparticules de la curcumine ont été préparées par formulation en milieu liquide, sans ajouter de tensio-actif, par dispersion libre dans l'eau avec un co-solvant, puis évaporation. Des nanoparticules de curcumine se forment, avec une distribution granulométrique étroite de l'ordre de 2 à 40 nm. Les activités

antibactériennes et antifongiques de cette nanocurcumine ont été évaluées in vitro montrant une amélioration par rapport la curcumine. Les résultats ont démontrés aussi que la solubilité dans l'eau et l'activité antimicrobienne de la curcumine sont nettement améliorées par la réduction de la taille des nanoparticules [21].

II.3.5. Utilisation de la curcumine avec d'autres dérivés naturels :

La quercétine (figure II.11) est un composé antioxydant puissant [3]. Cruz-Correa et al. [3], ont co-administrés la curcumine (480 mg) et la quercétine (20 mg) par voie orale trois fois par jour pendant 6 mois à 5 patients atteints de polypose adénopathique familiale. La taille des polypes des 5 patients a diminué de 50,9 % et leur nombre de 60 %. Malheureusement, ils n'ont pas comparé les effets d'une éventuelle administration seule de chacun des principes actifs.

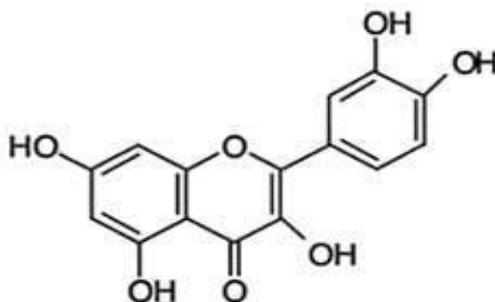


Figure II.10 : Structure de quercétine.

La curcumine fait également l'objet d'une étude en co-administration avec l'épigallocatechine-3-gallate (EGCG) (figure II.11) en 2013 [3]. Ce composé naturel est extrait du thé vert.

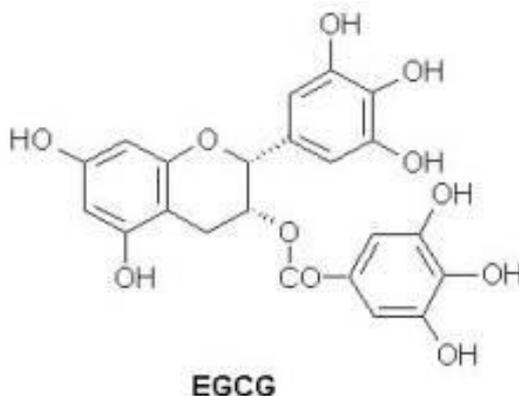


Figure II.11 : Structure de l'épigallocatechine-3-gallate.

Chapitre III : Les cyclodextrines.

III.1. Introduction :

Les cyclodextrines (CDs) naturelles ou chimiquement modifiées font partie de la famille des « molécules-cage ». Elles sont connues pour leur aptitude à accroître la solubilité de nombreuses molécules organiques par formation de composés, ou complexes d'inclusion. Cette propriété confère aux cyclodextrines un large champ d'application dans des domaines très variés allant de la pharmacie à l'agriculture en passant par l'industrie textile, la chimie des parfums et des arômes... .

III.2. Historique des cyclodextrines :

Dans une revue récente, Crinia divisé l'histoire des cyclodextrines (CDs) en cinq périodes : la découverte, la période de doute, la période de maturation, l'exploration et l'utilisation. Comme la période de doute et la période de maturation sont marquées néanmoins par plusieurs résultats contradictoires[28], nous décrivons dans ce mémoire l'historique des CDs suivant trois grandes périodes : la découverte, l'exploration et la période d'utilisation et d'application.

III.2.1. La période de découverte : 1891 jusqu'au milieu des années 30

La première revue écrite sur les CDs a été publiée en 1891 par le scientifique français A. Villiers, après les avoir découvertes et isolées à partir de produits de dégradation de l'amidon, elles étaient appelées cellulose car leurs propriétés se rapprochent de celles de la Cellulose. Ce n'est qu'en 1901 que le microbiologiste Sharding isole la souche microbienne *Bacillus macerans*, responsable de la formation de ces dextrines cristallisées qui furent appelées par la suite sucre de Sharding. Au début des années 30, l'équipe de Pringsheim, découvre la capacité de ces dextrines à former des complexes avec divers composés organiques [29].

III.2.2. La période d'exploration :

Les groupes de French et Cramer [28] ont étudié la production des CDs. Le premier groupe postule la présence de CDs ayant un nombre plus important d'unités de glucose alors que le second a été attiré par leur capacité à former des complexes d'inclusion. Freudenberg et

Cramer ont suggéré la présence de forces hydrophobes impliquées dans la formation des complexes.

La révolution dans le monde des CDs reste toujours le brevet de Freudenberg, Cramer, et Plieninger[28]. Ils démontrent la capacité des CDs à protéger les substances oxydables, augmenter la solubilité et réduire la perte des substances volatiles par la formation de complexes d'inclusion. Les travaux sur les CDs ont été ensuite révisés par French. En 1956, Cramer introduit le concept de complexation comme étant un équilibre association-dissociation et aucune liaison covalente existe entre la CD et l'invité (molécule complexée). Les publications et les monographies sur les CDs continuent à augmenter, nonobstant les études erronées menées par French [28] à cette époque, sur l'utilisation des CDs qui présenterait selon lui, un risque de toxicité.

III.2.3. La période d'utilisation : de 1970 à nos jours

A partir des années 70 et après plusieurs études prouvant l'inexistence de toxicité inhérente aux CDs, ces dernières sont produites et utilisées dans l'industrie malgré des difficultés liées à la purification et à la préparation à rendement raisonnable. Dans les années 70 à 80, Szejtli[30] apporte une importante contribution dans le domaine avec une étude poussée sur les complexes d'inclusion formés à partir des CDs et leur développement en chromatographie. En 2007, M. Loftsen[31] dénombra un peu plus de 130000 documents traitants des CDs (publications, brevets...).

III.3. Caractéristiques des cyclodextrines :

III.3.1. Origine et caractéristiques structurales des CDs :

Les cyclodextrines sont des oligosaccharides cycliques de formule brute $(C_6H_{10}O_5)_n$ et comportant de 6 à 12 unités α -D-glucopyranose. Elles sont obtenues par dégradation enzymatique de l'amidon, ou plus précisément de l'amylose. Les principales CDs ainsi obtenues sont l' α -CD, la β -CD, et la γ -CD, constituées respectivement de 6, 7 et 8 unités glucose liées entre elles par des liaisons glucosidiques α 1-4 (Figure III.1). Elles ont été découvertes à la fin du XIX^{ème} siècle par Villiers [32]. Caractérisées et étudiées par Schardinger dans les années 1900-1910, elles sont souvent nommées « dextrines de Schardinger ». Elles font partie de la famille des molécules cages au même titre que les calixarènes, les éthers-couronnes, le cucurbituril, etc.

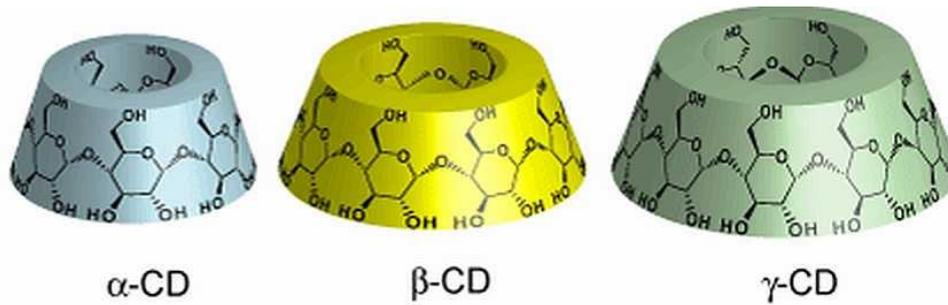


Figure III.1 : Formule développée générale des cyclodextrines (α , β , γ).

III.3.2 Cyclodextrines naturelles :

Les CDs sont souvent schématisés par un tore avec une cavité interne dont les dimensions varient selon le nombre d'unités glucose. Une étude menée par la méthode d'analyse RMN a montré que chaque unité glucose adopte une conformation de type chaise. Tous les groupes polaires (hydroxyles OH) sont localisés à l'extérieur. Les fonctions « alcool primaire » (une par unité glucose en position 6) sont orientées vers la partie la plus étroite du tronc de cône. Les fonctions « alcool secondaire » (en position C2 et C3) sont situées à l'opposé sur la partie large de la couronne (Figure III.2) [33].

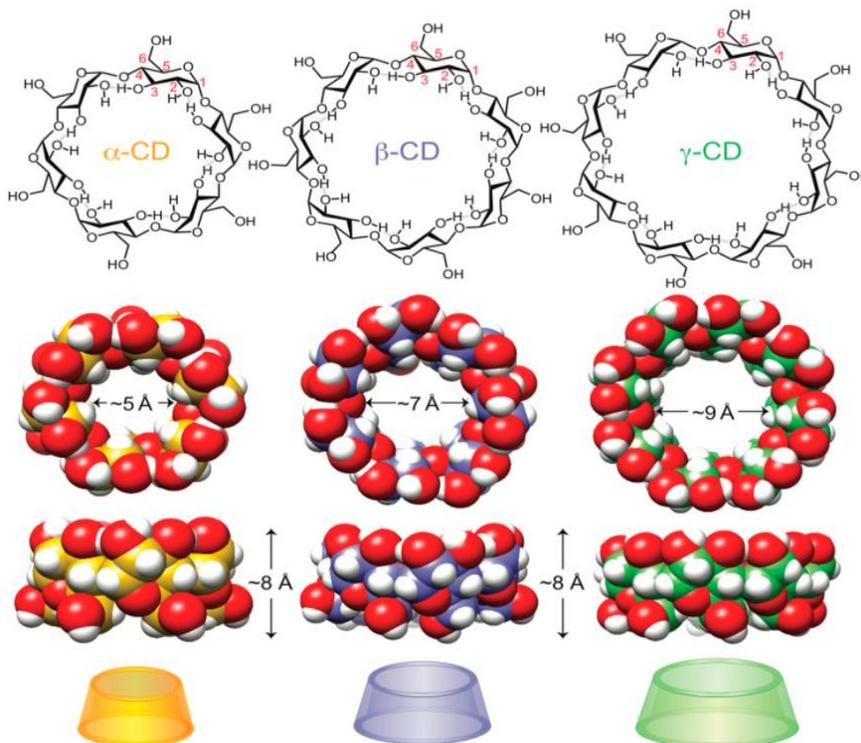


Figure III.2. Forme géométrique des cyclodextrines [33].

Cette organisation moléculaire délimite une cavité rendue relativement apolaire (hydrophobe) par la présence de ponts osidiques (-O-). C'est grâce au caractère amphiphile (hydrophile à l'extérieur, hydrophobe à l'intérieur) que les CDs sont capables d'inclure dans leur cavité apolaire des molécules hydrophobes pour former des complexes d'inclusion solubles dans l'eau. Leurs propriétés structurales sont représentées dans le tableau III.1.

Tableau III.1 : Propriétés structurales des principales cyclodextrines [29] :

Propriétés	α -cyclodextrine	β -cyclodextrine	γ -cyclodextrine
Numéro CAS	10016-20-3	7585-39-9	17465-86-0
Formule brute	C ₃₆ H ₆₀ O ₃₀	C ₄₂ H ₇₀ O ₃₅	C ₄₈ H ₈₀ O ₄₀
Masse molaire (g/mol)	972,8	1135,0	1297,1
Température de transition vitreuse		292 °C ± 2 °C	
Diamètre en nm de la cavité de 0,79 nm de longueur	0,47 à 0,53	0,60 à 0,65	0,75 à 0,83
Solubilité dans l'eau à 25 °C (g/L)	145	18,5	232

III.3.3. Cyclodextrines modifiées :

Parmi les trois cyclodextrines natives les plus courantes (α -, β -, γ -CD), la β -CD est la moins coûteuse. Toutefois, son utilisation est généralement limitée en raison de sa faible solubilité aqueuse [32]. La modification chimique des CDs permet d'obtenir des dérivés possédant des propriétés physico-chimiques différentes de celles des CDs natives et d'élargir ainsi leurs champs d'application. Les objectifs de ces modifications sont :

- L'augmentation de la solubilité aqueuse.
- La modification de la capacité de complexation (constante de stabilité, sélectivité).

Les CDs modifiées les plus étudiées et utilisées sont l'hydroxypropyl- β - cyclodextrine (HP β -CD), la méthyl- β -cyclodextrine (M β -CD) et la carboxyméthyl- β - cyclodextrine (CM β CD). Ces molécules sont obtenues par substitution de certains hydroxyles par des groupements hydroxypropyl (-C₃H₇O), méthyl (-CH₃), et carboxyméthyl (-CH₂COOH). Ces cyclodextrines substituées ont des performances et des coûts sensiblement différents de ceux de la forme

native. Ces molécules chimiquement modifiées ont des masses molaires moyennes qui correspondent à des degrés de substitution moyens (D.S) variables, c'est-à-dire le nombre moyen d'hydroxyles substitués par unité glucopyranose [102] (Tableau III.2).

Tableau III.2 : Caractéristiques des cyclodextrines modifiées [32] :

Cyclodextrine	D.S.	Masse moléculaire	Solubilité aqueuse à 25°C (g/100 ml)
Dimeβ	2	1331	57
Trimeβ	3	1429	31
Rameβ	1,8	1312	>50
Crysméβ	0,57	1191	22
HP-β-CD	0,65	1400	>60
SBE-β-CD	0,9	2163	>50
HP-γ-CD	0,6	1576	>50

III.3.4. Dérivés des cyclodextrines

III.3.4.1. Les dérivés méthylés :

Le greffage de groupements méthyles améliore notablement la solubilité des CDs dans l'eau (>500 mg/ml). Les formes commerciales les plus intéressantes sont la RAMEB (β-CD méthylée), de manière aléatoire, sur l'intégralité des hydroxyles primaires ainsi que sur 7 à 9 hydroxyles secondaires) et la CRYSMEB (méthylée en position 2 de la β-CD). Ces dérivés présentent une meilleure solubilité que la CD native et une bonne capacité d'inclusion pour les produits faiblement solubles dans l'eau. Néanmoins, la RAMEB reste plus attractive pour le domaine pharmaceutique car elle présente une capacité de complexation importante.

III.3.4.2. Les dérivés hydroxypropylés :

Les dérivés hydroxypropylés sont produits par la réaction de la β-CD avec l'oxyde de propylène en milieu alcalin. L'HP-β-CD se caractérise par une très grande solubilité dans

l'eau (> 600 mg/ml) [34] grâce à de son fort caractère hydrophile. Par conséquent, l'HP- β -CD présente un large intérêt dans le domaine pharmaceutique.

III.3.4.3. Les dérivés sulfobutylés :

Les sulfobutyléther- β -CDs (SBE- β -CD) ont de fortes solubilités aqueuses et un pouvoir de solubilisation important. Ce dérivé est produit à l'échelle industrielle sous le nom de Captisol[®]. Ce dernier présente un degré de substitution entre 6 et 7 et porte une charge négative dans les conditions physiologiques. Les chaînes butyles et la répulsion des charges négatives permettent d'allonger la cavité. Par conséquent, cette CD présente une meilleure affinité pour accueillir les invités. La charge négative lui permet aussi de complexer les invités ayant une charge positive. Comme l'HP- β -CD, le captisol[®] est intéressant pour l'utilisation pharmaceutique vu sa faible toxicité et sa solubilité élevée (> 500 mg/ml) [34].

III.3.4.4. Caractéristiques générales des dérivés de cyclodextrines :

Les propriétés physicochimiques des dérivés de CDs et leur capacité de complexation dépendent à la fois du type et du nombre de substituant par unité de CD [35], donc un dérivé de CD est caractérisé par les paramètres suivants :

- a) le degré de substitution moyen (DS) qui est le nombre moyen de groupements hydroxyles substitués par molécule entière de CD (le DS varie de 0 (aucune substitution) à $3n$ (3 et n étant le nombre d'hydroxyles par unité d' α -D-glucopyranose et le nombre de glucose de la CD, respectivement)) ;
- b) le degré de substitution molaire moyen (MS) qui est le nombre moyen de substituant par unité d' α -D-glucopyranose (généralement, le MS varie de 0 à 3). Parfois, le groupement hydroxypropyle peut lui-même être substitué par un second groupement qui réagit avec son groupement hydroxyle. Dans ce cas, la valeur du MS peut dépasser 3.

III.4. Propriétés physico-chimique :

III.4.1. Amphiphilité :

La structure des CDs, alliée à l'orientation particulière adoptée par les diverses fonctions hydroxyles des unités glucopyranose, leurs donnent un caractère amphiphile dû à un extérieur relativement hydrophile (surface de contact avec le solvant) et à un cœur relativement hydrophobe (surface de contact avec la molécule invitée) [29].

III.4.2. Basicité :

Les paires d'électrons non liés des ponts glucosidiques de l'oxygène sont orientées sur l'intérieur de la cavité, produisant une densité électronique élevée ce qui permet aux cyclodextrines d'avoir des propriétés basiques [36].

III.4.3. Énantiosélectivité :

La chiralité des CD est due à leurs unités D glucopyranose. Chaque unité de glucose contient 5 centres chiraux. La combinaison entre le pouvoir complexant des CD et ces centres chiraux fournit l'énantiosélectivité [37].

III.4.4. Solubilité :

Grâce à sa structure amphiphile, la CD est soluble dans l'eau, néanmoins, le comportement de la solubilité est très différent d'une cyclodextrine à une autre (Tableau III.3)

Tableau III.3 : Propriétés physicochimique des CD natives [38] :

Propriétés	α CD	β CD	γ CD
pKa 25 °C	12,332	12,202	12,081
ΔH° (ionisation), Kcal. mol ⁻¹	8,36	9,98	11,22
ΔS° (ionisation), cal. mol ⁻¹ . K ⁻¹	-28,3	-22,4	-17,6
Solubilité (eau, 25°C), mol l ⁻¹	0,1211	0,0163	0,168
Solubilité (eau, 25°C), g/100ml	14,5	1,83	23,2
Nombre de molécules d'eau dans la cavité	6 – 7,6	11 - 12	13,3 - 17

Bien que toutes les cyclodextrines soient solubles en milieu aqueux, leurs solubilité dans l'eau augmente dans le sens : $\beta < \alpha < \gamma$ CD.

La faible solubilité de la β CD en comparaison avec celle de l' α et de la γ CD, semble être due au réseau de liaisons hydrogène particulièrement fort dans le cas de la CD à 7 unités. Dans le cas de l' α CD cette ceinture de liaisons H est incomplète, l'une des unités étant dans

une position distordue, il ne reste donc que 4 liaisons formées (au lieu des 6 prévues), favorisant ainsi les liaisons hydrogènes avec le solvant et augmentant leur solubilité aqueuse.

Les termes thermodynamiques en solution montrent que la solubilité relativement faible de la β CD est associée à un ΔH° et un ΔS° moins favorables.

III.4.5. Stabilité :

Les cyclodextrines sont stables en milieu alcalin mais peuvent subir une hydrolyse partielle à un pH inférieur à 3,5 et à une température supérieure à 60°C avec production du glucose et une série de maltosaccharides acycliques détruisant ainsi leur structure [39].

III.4.6. Biodégradabilité :

La biodégradation des cyclodextrines natives (α -CD, β -CD, γ -CD) est rapide et complète tandis que celle des cyclodextrines ramifiées est plus faible et dépend du degré de substitution [32]. Dans des conditions expérimentales idéales, le pourcentage de biodégradation des CDs natives atteint 90% après 15 jours d'incubation tandis que seulement 5,6 % de dégradation des CDs acétylées a été observé après 45 jours. La substitution par des groupements méthyl ou hydroxypropyl affecte aussi la biodégradation de la β -CD. Seulement 20 % de HPCD sont dégradés après 100 jours indiquant que ce type de CD est tout de même partiellement dégradable dans ces conditions. Fava et al. [32] ont observé que la dégradation de la β -CD méthylée de façon aléatoire dite « Randomly-méthyl β cyclodextrine » (Rame β) par les bactéries en conditions aérobies est relativement faible.

III.4.7. Toxicité des CDs :

De façon générale, les cyclodextrines sont considérées comme relativement peu toxiques par administration par voie orale. Ces molécules ne diffusent quasiment pas au travers des membranes biologiques et ne sont pas absorbées lors du transit intestinal. Par contre, elles se révèlent toxiques par injections intraveineuses ou intramusculaires. En effet, l'administration parentérale de ces CDs présente des effets secondaires hémolytiques, liés à la chélation du cholestérol et des acides biliaires, et une néphrotoxicité [32].

III.5. Complexes d'inclusion :

III.5.1. Définition :

Un complexe d'inclusion est une espèce chimique constituée par l'association de deux ou plusieurs molécules (figure III.3). La molécule hôte est capable d'inclure la molécule invitée dans sa cavité, ce qui donne une encapsulation stable sans formation de liaison covalente. Cette caractéristique est exploitée pour l'amélioration de la solubilité, de la stabilité ou de la biodisponibilité des molécules invitées [33].

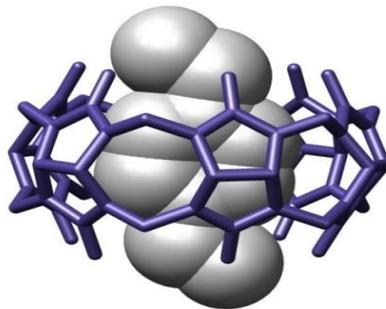


Figure III.3 : Schéma d'inclusion d'une molécule dans la cavité d'une cyclodextrine [33].

La formation des complexes d'inclusion (Figure III.4) peut se produire aussi bien en solution qu'à l'état solide. Un complexe d'inclusion est la résultante d'une multitude d'interactions mettant en jeu la CD, l'invité et le solvant visant à acquérir l'état thermodynamique le plus stable [33].

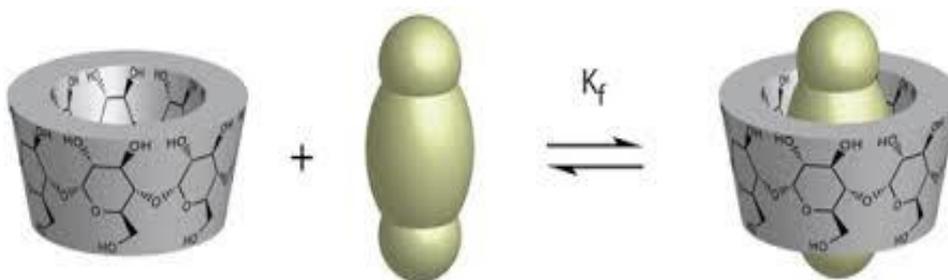


Figure III.4. Schéma général de la formation d'un complexe d'inclusion entre une molécule hôte de cyclodextrine et une molécule invitée.

En solution, la cavité de CD est occupée par des molécules d'eau. Cela crée un état énergétique défavorable du fait des interactions polaire-apolaire. Les molécules d'eau sont donc facilement remplacées par des molécules moins polaires. De plus, l'invité hydrophobe

dissout au préalable dans l'eau a une préférence pour la cavité des CDs. La formation d'un complexe d'inclusion CD/invité peut être décrite en 5 étapes [28].

- Les molécules d'eau sont libérées de la cavité de la CD suite au rapprochement de l'invité de la CD. En conséquence, le degré de liberté des molécules d'eau expulsées augmente du fait de la diminution des interactions et du nombre de liaisons hydrogène avec la cavité.
- L'invité hydrophobe se débarrasse de la couche d'hydratation qui l'enveloppe.
- L'invité pénètre et occupe la cavité de CD formant ainsi un complexe d'inclusion stabilisé par des interactions de Van der Waals, interactions hydrophobes et/ou par des liaisons hydrogène.
- Les molécules d'eau libres se réarrangent et forment des liaisons hydrogène entre elles.
- La structure de l'eau est restaurée autour de l'invité non complexé. L'exemple le plus simple et le plus fréquent est l'obtention d'un complexe hôte/invité de stœchiométrie 1:1. Des complexes de structure et stœchiométrie plus compliqués (2:1, 1:2, 2:2) peuvent également être obtenus [28] (Figure III.5).



Figure III.5 : Représentation des différentes stœchiométries des complexes d'inclusion [28].

En 1978, Komiyama et Bender furent les premiers à observer et interpréter que l'inclusion d'un invité dans une molécule hôte s'accompagnait d'un gain d'enthalpie et d'une perte d'entropie. Plus l'invité pénètre dans la cavité de la CD, plus la stabilité du complexe est importante ainsi que la variation d'enthalpie. Ce phénomène est d'autant plus vrai que l'invité est apolaire [28].

Le gain d'enthalpie a été expliqué comme suit [33, 28] :

- La formation de liaisons faibles de type Van der Waals entre l'hôte et l'invité.

- La formation de liaisons hydrogène entre l'invité encapsulé et la CD.
- La libération des molécules d'eau ayant une énergie élevée lors de la complexation.
- La libération de l'énergie de tension du macrocycle de la CD lors de la formation du complexe.

En 1982, Szejtli explique le gain d'enthalpie par l'arrivée spontanée de l'invité dans la cavité de la CD, expulsant ainsi les molécules d'eau hors de la cavité. En outre, il considère que bien que les liaisons de Van der Waals et hydrogène jouent un rôle majeur dans la complexation, ces liaisons restent faibles pour conférer à elles seules une stabilité suffisante au complexe. Il a donc rapporté la présence d'interactions stériques entre la CD et l'invité [28].

III.5.2. Les techniques de préparation des complexes d'inclusion CD/invité :

Il existe différents procédés pour réaliser des complexes d'inclusion. Pour toutes ces techniques et pour chaque molécule invitée, les quantités d'eaux, la vitesse et le temps d'agitation, la température et le temps de chauffage doivent être optimisés.

III.5.2.1. L'inclusion par cristallisation de la solution (co-précipitation) :

La méthode de co-précipitation est l'une des plus anciennes méthodes d'inclusion, mais reste encore, souvent utilisée. Elle consiste à agiter à une température entre 40 et 60°C une solution ou suspension de CD à laquelle l'invité (dissout dans l'eau ou un autre solvant) sera ajouté. Un chauffage peut s'appliquer, si l'invité le tolère. Ensuite, le refroidissement lent permet la co-précipitation du complexe formé. Le précipité est collecté par décantation, centrifugation ou filtration puis lavé dans le but d'éliminer l'excès d'invité non encapsulé. Les principaux inconvénients de cette technique sont liés surtout au lavage, la large quantité d'eau utilisée (vu la faible solubilité de la β -CD par exemple), le coût élevé des diverses étapes de préparation, ainsi que le faible rendement. Un additif (solvant organique, sel, polymère hydrosoluble) peut être ajouté au milieu de préparation pour optimiser le rendement de préparation [34].

III.5.2.2. La complexation en phase solide :

La complexation peut être envisagée en phase solide par broyage (co-grounding). L'avantage principal de cette technique est l'absence de solvant. Néanmoins des phénomènes non désirés peuvent apparaître comme un changement polymorphique et/ou une diminution de la stabilité du complexe.

III.5.2.3. L'inclusion en suspension (slurry) :

Une solution aqueuse sursaturée en CD est préparée, la quantité de CD non dissoute peut atteindre 50 à 60 %. A cette suspension et sous agitation est ajouté l'invité, ce dernier va former avec la CD en solution des complexes d'inclusion. Comme la solution est saturée en CD, les complexes vont précipiter au fur et à mesure de leur formation, et les cristaux de CD vont se dissoudre et complexer davantage de molécules invitées. Le précipité (complexe d'inclusion) peut être collecté par précipitation, décantation ou filtration. L'optimisation du taux de complexation est possible par chauffage mais cela peut déstabiliser le complexe. La quantité d'eau et le temps indispensables à la complexation doivent être optimisés pour chaque invité [28].

III.5.2.4. Méthode de pétrissage (Kneading) :

La méthode kneading consiste en la trituration de la cyclodextrine dans un mortier avec une petite quantité d'eau pour obtenir une pâte homogène. La molécule invitée est alors ajoutée. Préalablement, une petite quantité de solvant (méthanol, éthanol) peut être ajoutée pour faciliter la dissolution de la molécule invitée [28].

III.5.2.5. L'inclusion en méthode humide (damp) :

La CD est mélangée avec l'invité en présence d'une faible quantité d'eau. Le mélange est ensuite placé dans un récipient hermétiquement scellé et chauffé jusqu'à 100°C. L'humidité provenant de l'eau d'hydratation de la CD et de l'invité peut arriver jusqu'à 20 à 25 % de la masse de la matière sèche. Selon la nature de l'invité et la quantité d'eau, la durée du mélange et du chauffage doivent être optimisées. Cette méthode nécessite un apport très important d'énergie et n'est conseillée qu'avec les invités stables à température élevée [28].

III.5.2.6. L'inclusion par extrusion :

C'est une variante de l'inclusion par pétrissage du fait qu'elle se fait en mode continu. La CD, l'invité et l'eau sont mélangés et placés dans une extrudeuse sous chauffage. Le degré de mélange, la température et le temps de chauffage sont contrôlés dans la cuve de l'extrudeuse. Le complexe peut être séché par chauffage ou simple refroidissement. Du fait de la température générée, certains invités thermolabiles sont dégradés durant ce processus. L'intérêt de cette technique réside dans le fait que c'est un processus continu qui n'utilise qu'une faible quantité d'eau [28].

III.5.2.7. Lyophilisation :

La lyophilisation, appelée autrefois cryodessiccation, est une opération de déshydratation à basse température qui consiste à éliminer la majeure partie de l'eau contenue dans le produit par sublimation. La molécule invitée est ajoutée à la solution aqueuse de CDs, après mélange sous agitation, la substance obtenue est congelée puis lyophilisée dans un lyophilisateur [33].

III.5.2.8. Inclusion par neutralisation :

La technique d'inclusion par neutralisation est souvent utilisée dans le cas d'invités ionisables. Un invité acide est ainsi dissout dans un milieu aqueux alcalin contenant la CD et vice versa. Le changement de pH induit la diminution de la solubilité de l'invité et la formation de complexes solides [28].

III.5.2.9. Inclusion par co-évaporation :

Cette inclusion consiste à mélanger la CD et l'invité pendant un certain temps nécessaire pour avoir une complexation en présence d'un autre solvant à la même température. Puis le complexe solide est récupéré par co-évaporation des solvants présents [28].

III.5.2.10. Séchage par atomisation/ pulvérisation (spray drying) :

Les différents composants (CD, invité et solvant) sont mélangés puis les complexes sont pulvérisés. Une précipitation peut être provoquée et contrôlée pour éviter que de grandes particules bloquent la buse du pulvérisateur. Ce processus n'est pas conseillé pour les invités volatils et thermolabiles du fait que la température peut atteindre 50-70°C durant le séchage [28].

III.5.2.11. Complexation par CO₂ à l'état supercritique :

Lorsqu'un fluide est placé dans des conditions de température et de pression supérieures à son point critique, il passe dans un état de matière appelé supercritique, ce dernier est caractérisé par un état intermédiaire entre le liquide et le gaz (avec une viscosité proche de celle d'un gaz, une densité proche de celle du liquide et un pouvoir de diffusivité très élevé par rapport au fluide liquide). Le dioxyde de carbone à l'état supercritique a été proposé pour réaliser l'inclusion de substances actives diverses dans des cyclodextrines en

1990. L'avantage de l'utilisation du CO₂ est qu'il reste non toxique, facilement disponible et son point critique facile à atteindre (T_c = 31,1 °C ; P_c = 73,8 bar). Grâce à sa faible température critique, le CO₂ supercritique permet de développer des procédés à basse température pour des produits thermosensibles.

A la fin de l'encapsulation, une phase de détente est réalisée. Elle consiste à abaisser la pression ce qui provoque le passage du gaz carbonique de l'état supercritique à l'état gazeux et permet de récupérer le complexe à l'état solide exempt de tout résidu de solvant d'extraction. Ce procédé présente de nombreux avantages dont celui de réaliser une réaction d'inclusion simple, reproductible en une seule étape. L'absence de solvant permet de supprimer l'étape d'élimination de ce dernier et par conséquent de réduire l'investissement, la pollution et le coût [40].

III.5.2.12. Inclusion par microondes :

Cette méthode permet d'atteindre rapidement la température nécessaire pour la formation du complexe d'inclusion tout en gardant une bonne uniformité des propriétés du complexe. Le temps de réaction ne dépasse généralement pas 90 s et une température de 60°C (à 150 W). Des valeurs plus importantes peuvent être utilisées pour des invités moins labiles [28].

III.5.3. Facteur influençant le phénomène d'inclusion :

La formation des complexes d'inclusion dépend de plusieurs facteurs [33] :

- La taille de la molécule hôte ;
- Les propriétés de la molécule hôte (composition des fonctions chimiques, solubilité...) ;
- Les structures des CDs (ioniques, ramifiées...) ;
- Les propriétés du solvant (polarité, pH) ;
- Le déroulement de la synthèse organique.

III.5.4. Conséquences de l'inclusion :

La formation d'un complexe d'inclusion entre une CD et une molécule invitée confère à ce complexe des propriétés physico-chimiques et biologiques différentes de celles de la CD et de la molécule incluse prises séparément, cette différence se traduit au niveau [29, 30] :

- Des propriétés de la molécule complexée ;
- Augmentation de la solubilité de la molécule invitée dans l'eau ;
- Augmentation de la stabilité de la molécule invitée ;
- Diminution de la diffusion et de la volatilité de la molécule invitée ;
- Modification des propriétés biologiques ;
- Protection de la substance complexée ;
- Du comportement lors des différentes études analytiques ;
- Modification des propriétés spectrales ;
- Modification de déplacement chimique en RMN du fait de ce changement d'environnement anisotropique ;
- Modification de la fluorescence ;
- Modification de la mobilité en chromatographie : la molécule invitée initialement hydrophobe devient un complexe hydrophile.
- Ces différences de comportement permettent de mettre en évidence ces complexes et de les étudier.

III.5.5. Techniques de caractérisation des complexes d'inclusions :

Les structures des complexes d'inclusion peuvent être caractérisées en employant diverses techniques d'analyse physico-chimiques parmi lesquelles on distingue :

III.5.5.1. Méthode spectrophotométrie UV-visible :

La spectrophotométrie UV-visible est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution [33]. Elle est particulièrement intéressante pour la mise en évidence de la formation des complexes d'inclusion. Mais, il faut que la molécule étudiée absorbe à des longueurs d'onde différentes de celle des CDs [33].

III.5.5.2. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) :

La spectrométrie RMN est une méthode importante qui permet d'expliquer la structure des composés organiques, particulièrement à l'état liquide. Le principe de l'étude des complexes d'inclusion repose sur le fait que si la molécule invitée pénètre dans la cavité des CDs, les atomes d'hydrogène situés à l'intérieur de la cavité (H-3 et H-5) seront

considérablement perturbés, tandis que ceux qui se trouvent sur la surface externe (H-2, H-4 et H-6) ne seront pas influencés [33].

III.5.5.3. Spectroscopie infrarouge (IR) :

La spectroscopie infrarouge (IR) est une méthode d'analyse qui permet d'étudier l'arrangement des atomes et les distances interatomiques. Ces mesures sont généralement réalisées avec un échantillon à l'état solide [33]. Dans ce cas, elle est utilisée pour estimer l'interaction entre les cyclodextrines et les molécules invitées. L'application de la spectroscopie infrarouge est limitée aux invités ayant certaines bandes caractéristiques [33].

III.5.5.4. Diffraction des rayons X (DRX) :

La Diffraction des rayons X (DRX) est une méthode qui permet de prouver l'inclusion et d'obtenir des informations sur la structure du complexe formé [28], nécessitant de faibles quantités de composés. Elle repose sur l'observation des différences entre le mélange physique simple des deux composés et le complexe d'inclusion potentiel. La formation d'un complexe CD-PA altère les modèles de diffraction et change la nature cristalline de la molécule invitée.

III.5.5.5. Analyse thermogravimétrique (ATG) :

L'analyse thermogravimétrique (ATG) consiste à suivre la perte en masse d'un composé en fonction de la température de chauffe. Par conséquent le spectre obtenu fournit des informations sur : l'ébullition et la sublimation. Quand le complexe est formé, on observe un déplacement de ces points vers des températures supérieures pour la molécule invitée ou alors une disparition dans l'intervalle de température où la CD est décomposée. Toute modification structurale de la molécule invitée avant le début de la dégradation thermique et l'oxydation des CDs peuvent être évaluées par cette technique [39].

III.5.5.6. Analyse calorimétrique différentielle (DSC) :

La méthode d'Analyse Calorimétrique Différentielle(DSC) permet de vérifier la formation des complexes d'inclusion, et d'étudier l'effet thermodynamique résultant de la présence de la molécule invitée. On utilise cette méthode pour des composés ayant une température de fusion et d'ébullition en dessus de celle de dégradation de la CD. Il a été observé que la formation des complexes CD-invitée provoque la diminution du pic

endothermique de fusion de la molécule invitée (cas d'un mélange physique), et sa disparition dans le cas d'une complexation complète [33].

III.5.5.7. Test de dissolution :

La dissolution est l'un des plus importants tests biopharmaceutiques, il simule le comportement (dissolution) du médicament (complexe) in vitro (dissolutest), afin d'améliorer la solubilité du PA et l'augmentation de la vitesse de passage en solution. Les conditions de travail sont fixées par la pharmacopée ou la monographie [36].

III.6. Application des cyclodextrines :

Dans le tableau III.4 sont regroupés quelques exemples d'application des cyclodextrines.

Tableau III.4 : Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrines dans différents domaines d'applications [28] :

Propriété Produit concerné	
Applications pharmaceutiques	
Amélioration de la biodisponibilité	Indométacine
Diminution des effets secondaires	Phénylbutazone
Augmentation de la solubilité	Prostaglandines, vitamines A, D, E, K
Augmentation de la stabilité	Vitamines A, E, acide acétylsalicylique
Applications agroalimentaires et agrochimiques	
Stabilité de produits volatils	Menthol, moutarde, confiseries
Résistance à l'oxydation	Framboise, miel
Masquage d'odeurs indésirables	Café, thé, limonène
Applications cosmétiques	
Diminution de l'effet irritant	Acide rétinoïque
Amélioration du pouvoir moussant	Savons, mousses
Augmentation de la solubilité	Vitamine A, E
Stabilité des parfums	Essence de citron

III.6.1. Domaine pharmaceutique :

Le domaine pharmaceutique est extrêmement concerné par l'utilisation des CDs. Plus de 90% des PAs en cours de développement souffrent d'une faible solubilité dans les phases aqueuses et en conséquence d'une faible biodisponibilité [35]. La biodisponibilité est la quantité de PA qui arrive à sa cible et la vitesse avec laquelle il y parvient. Elle est régie par la vitesse de dissolution et d'absorption intestinale et par la solubilité du PA. Concernant les complexes de CDs, le taux et la vitesse de dissolution du PA dépendent de ses caractéristiques physicochimiques (hydrophobicité) et celles du complexe (stœchiométrie, stabilité). L'utilisation des CDs en pharmacie permet [28]:

- l'élaboration de produits plus faciles à doser et à utiliser ; l'augmentation de la stabilité des PAs, l'amélioration de leur dissolution et solubilité ;
- l'augmentation de leur biodisponibilité et leur effet thérapeutique ; la diminution des effets secondaires et la protection de l'estomac.
- la réduction de l'amertume du PA, le relargage contrôlé du PA et le transport du PA vers sa cible (le ciblage moléculaire) ;
- l'intervention dans le stockage, la protection des médicaments sensibles à la lumière, à la chaleur ou à l'air ;
- l'utilisation comme vecteurs pour cibler et contrôler la libération du principe actif et pour maintenir les distributions homogènes.

L'exemple le plus connu de l'utilisation des CDs dans la pharmacie est celui de la sugammadex (BRIDION[®]). C'est une γ -CD modifiée utilisée depuis 2008 comme antidote de certains curarisants. L'administration intraveineuse de la γ -CD neutralise les curarisants stéroïdiens (rocuronium, vécuronium) en formant un complexe inactif dans le plasma qui sera éliminé dans l'urine. Un autre exemple concerne les vaccins DAPTACEL[®] (Groupe Sanofi, Pasteur) contre la diphtérie, le tétanos et la coqueluche (avec la diméthyl- β -CD) [28]. L'utilisation des CDs dans la pharmacie a permis de spectaculaires progrès, à tel point que l'industrie pharmaceutique est devenue la première utilisatrice de CDs.

De nombreux ouvrages, publications et revues décrivent les avantages de l'utilisation des CDs dans ce domaine [34, 28]. Des produits pharmaceutiques à base de CDs ont été mis sur le marché. Les principales CDs utilisées à l'heure actuelle par l'industrie pharmaceutique sont les β -CD natives ou modifiées. La plupart des médicaments à base de CDs sont administrés par voie orale (comprimés, sirops,...).

III.6.2. Industrie alimentaire :

Dans l'industrie alimentaire, les cyclodextrines sont utilisés pour stabiliser les arômes et pour améliorer le goût et masquer les odeurs désagréables, et aussi pour améliorer les caractéristiques nutritionnelles de quelques produits laitiers [28].

III.6.3. Cosmétique :

Les principaux avantages de l'utilisation des CDs dans le secteur du cosmétique, sont la stabilisation, le relargage, la protection et la distribution des parfums [36, 31].

III.6.5. Agriculture :

L'inclusion des insecticides, fongicides, herbicides dans les CDs, peut protéger ces substances de la décomposition rapide par la lumière et l'oxygène, ce qui permet la prolongation des effets de ces produits et/ou leurs utilisations à plus faibles doses [31].

III.6.6. Textile :

- Eliminer ou masquer l'odeur indésirable ;
- Renforcer la prise des colorants par le tissu et par la suite réduire la quantité des colorants perdus lors du lavage [31].

III.6.7. En chimie catalytique et analytique :

- Catalyseurs chimiques efficaces (augmentation du taux de conversion) ;
- Modèles d'enzymes artificielles ;
- En raison de leurs effets stériques, les CDs jouent un rôle significatif dans des processus biocatalytiques en augmentant l'énantio-sélectivité ;
- En chromatographie les CDs ont démontré un potentiel élevé pour la séparation chirale (HPLC, électrophorèse capillaire).

III.6.8. Domaine biologique :

En biologie, les cyclodextrines sont utilisées comme agents cryoprotecteurs, ces derniers sont des composés organiques qui pénètrent dans la cellule spermatique pour assurer sa bonne conservation.

III.7. Amélioration de la biodisponibilité de la curcumine par utilisation des cyclodextrines :

La solubilité de la curcumine dans l'eau est très faible (environ 11ng/ ml) [41], et elle est facilement dégradée par la lumière. Le développement d'un transporteur pour cette molécule, est une méthode efficace pour résoudre ces problèmes. Un grand nombre de matériaux tels que les polysaccharides et les lipides sont utilisés comme matériaux de bases pour concevoir ces vecteurs, y compris les cyclodextrines. La β -cyclodextrine a de bonnes performances d'incorporation, de digestion et d'absorption dans les corps. C'est un matériau inoffensif pour le corps humain, et est donc considéré comme étant idéal pour préparer le transporteur à intégrer la curcumine grâce à son inclusion.

Comme représenté dans la Figure I.5, la curcumine contient deux anneaux de benzène et une chaîne de carbone ce qui rend la polarité moléculaire de curcumine basse et hydrophobe, et comme les β -cyclodextrines ont une structure de cavité hydrophile externe et hydrophobe interne, les molécules de curcumine pourraient migrer dans les cavités des β -cyclodextrines par interaction hydrophobe, puis s'auto-assembler pour former un système d'administration.

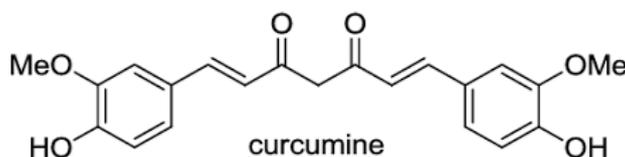


Figure I.5 : Structure de la curcumine.

III.7.1. Inclusion de β -cyclodextrines chargées de curcumine de type liquide :

Le transporteur de curcumine β -cyclodextrines de type liquide est l'un des types les plus utilisés dans l'industrie alimentaire. Par l'incorporation de β -cyclodextrines, la curcumine et d'autres substances insolubles peuvent être dissoutes dans une phase aqueuse, ce qui la rend plus pratique à utiliser dans les boissons, les liquides oraux et autres produits. Le processus de préparation peut être résumé comme suit : tout d'abord, préparez la solution aqueuse de β -cyclodextrines, puis ajoutez directement la curcumine ou la solution de solvant organique de curcumine en proportion, et mélangez complètement. Afin d'obtenir un meilleur effet d'enrobage et de solubilisation, un ajustement approprié du solvant, de la température et du pH et une méthode assistée par ultrasons sont généralement sélectionnés [42]. Un composé

d'inclusion cyclodextrine-curcumine a été préparé par la méthode de la solution aqueuse saturée, et le composé d'inclusion a pu être bien dispersé dans l'eau.

Les dérivés des β -cyclodextrines permettent de mieux enrober la curcumine et d'améliorer sa solubilité. Par exemple, le vecteur d'administration préparé par l'hydroxypropyl- β -cyclodextrines a un meilleur effet de solubilisation sur la curcumine que celui de la β -cyclodextrines. Le vecteur d'hydroxypropyl- β -cyclodextrines curcumine préparée par une solution aqueuse saturée a augmenté la solubilité de la curcumine dans l'eau de 276 fois et la biodisponibilité de la curcumine orale de 3 fois [42].

III.7.2. Inclusion de β -cyclodextrines de types solides chargés de curcumine :

Le support de livraison de particules solides en β -cyclodextrines peut être transformé en poudre, ce qui est pratique pour le transport et le stockage, et a une plus large gamme d'application. Il existe deux voies technologiques pour préparer des particules solides. Un procédé consiste à mélanger directement les β -cyclodextrines et la substance enterrée, à broyer et à mélanger avec un broyeur à boulets ou dans un mortier, afin que la substance enterrée puisse se combiner pleinement avec les β -cyclodextrines [42].

Sur la base du support solide de livraison de curcumine/ β -cyclodextrines de type solide, la charge maximale de curcumine peut atteindre la moitié du poids total. Les β -cyclodextrines préparées par broyage, la solubilité de la curcumine dans l'eau est environ 100 fois plus élevée que sans CDs. Les particules solides de la curcumine/ β -cyclodextrines préparées par la méthode d'évaporation de solvant, peuvent augmenter la solubilité de la curcumine d'environ 1026 fois. Pour les complexes préparés par la méthode de lyophilisation, la solubilité de la curcumine peut augmenter de 1052 fois. De plus, le vecteur transporteur de curcumine de granules solides à base de β -cyclodextrines a une très bonne stabilité au stockage, et le taux de rétention de la curcumine est de 90% après trois mois de stockage à 25°C [42].

III.7.3. Inclusion de β -cyclodextrines chargées de curcumine de type gel :

Le gel est une sorte de matrice semi-solide remplie de liquide dans une structure de réseau tridimensionnelle [42]. Dans ce cas, les β -cyclodextrines sont dispersées dans le solvant, puis la température de la solution est augmentée par chauffage. Pendant ce temps, les β -cyclodextrines formeraient des dimères tête-bêche, un grand nombre de dimères s'assemblent pour former des amas de fibres de gel, et de nombreux amas de fibres se lient les

uns aux autres pour créer une structure de réseau tridimensionnelle du gel. Les gels de β -cyclodextrines peuvent être utilisés comme matériau chimique, ainsi que comme support pour des médicaments et des substances naturelles liposolubles. Les β -cyclodextrines peuvent former des hydrogels par réticulation directe, copolymérisation avec d'autres monomères, fixation dans la matrice d'hydrogel et auto-assemblage turbomoléculaire. Les hydrogels de β -cyclodextrines ont de bonnes perspectives de développement dans la délivrance et des facteurs fonctionnels en raison de leur réactivité à des stimuli tels que la température et le thixotropisme et une bonne biocompatibilité. Des dispersions de nanoparticules de β -cyclodextrines-curcumine ont été préparées au moyen d'une méthode de solution saturée, puis des particules solides ont été obtenues par lyophilisation, puis des particules solides ont été mélangées uniformément dans la solution aqueuse de polymère acrylique (facteur de gel), et la solution mélange a été gélifiée en ajustant la valeur de pH pour obtenir l'hydrogel de β -cyclodextrines-curcumine. Des β -cyclodextrines préparées par la méthode de broyage des particules solides de la curcumine, puis mélange avec une solution de chitosane, ont permis l'obtention d'un hydrogel thermosensible par refroidissement [42].

Les β -cyclodextrines-curcumine hydrogels ont une très bonne perméabilité, peuvent être utilisées comme adjuvant au traitement d'arthrite et peuvent également être ajoutés dans la matrice alimentaire avec apport oral. Ces hydrogels ont un rôle à libération lente dans la digestion gastro-intestinale [42].

III.7.4. Encapsulation de la curcumine par des nanoémulsion avec SMEDDS (Self Emulsifying Drug Delivery System) :

Les émulsions sont des mélanges de deux ou plusieurs liquides non miscibles. Les nanoémulsions, en tant que formulation médicamenteuse solubilisée à base de lipides, peuvent améliorer la solubilisation du médicament dans le tractus gastro-intestinal en évitant les limitations à l'état solide et l'augmentation de la capacité de sécrétion accrue des voies biliaires [42].

Récemment, de différents systèmes d'administration à base d'émulsion ont été utilisés pour la curcumine. Ces systèmes peuvent produire des nanoémulsions avec des tailles de gouttelettes de 50-200 nm, ce qui leur confère une stabilité cinétique élevée [42].

Un SMEDDS est un mélange homogène d'huile, de surfactant, de co-surfactant et de la substance à solubiliser, qui peut former une microémulsion « huile dans eau » dans les

conditions gastro-intestinales après administration orale. Cette technique aide à l'absorption des substances peu solubles dans l'eau, via l'apport de lipides. Cui et al [43] ont comparé la dissolution d'un SMEDDS contenant 20 mg de curcumine dans 500 ml d'un milieu aqueux à 37 °C. Alors que l'on ne parvient à dissoudre que moins de 2 % de curcumine pure dans des solutions tampon à pH 1,2 ou 6,8, la curcumine sous forme de SMEDDS est dissoute dans le milieu à plus de 96 % dès 20 minutes, indépendamment du pH. La solubilité de la curcumine sous forme de SMEDDS telle que formulée dans cette étude atteint 21 mg/g. D'après une expérience sur intestin de rat, l'absorption de la curcumine sous forme de SMEDDS semble avoir lieu par diffusion passive à travers les membranes lipidiques.

III.8. Conclusion :

La capacité des cyclodextrines à former des complexes d'inclusion avec de nombreuses molécules invitées, en prenant tout ou une partie de celle-ci dans la cavité, aide à modifier la solubilité du composé. Ces propriétés ont entraîné une importance croissante dans le domaine pharmaceutique.

Chapitre IV :

Cas d'étude de l'amélioration de la biodisponibilité de la curcumine.

IV.1. Introduction :

Les essais de phase I évaluent la toxicité d'un produit. Ils ont démontré que la curcumine n'est pas toxique même à des doses très élevées, mais sa biodisponibilité médiocre la rend faiblement efficace. De ce fait, la co-administration avec d'autres principes actifs ou l'adoption de stratégies d'encapsulation peuvent améliorer sa biodisponibilité ainsi que ses actions thérapeutiques. Dans ce chapitre, nous allons exposer quelques cas d'études dédiées à ces stratégies.

IV.2. Présentation de cas d'étude de l'amélioration de la biodisponibilité de la curcumine :

IV.2.1. Co-administration avec la pipérine :

Lorsque la curcumine est administrée seule à la dose de 2 g / kg à des rats, des concentrations sériques modérées ont été atteintes sur une période de 4 h. L'administration concomitante de 20 mg de pipérine / kg a augmenté la concentration sérique de la curcumine pendant une courte période d'administration allant de 1 à 2 h. Le temps d'absorption jusqu'au maximum a été significativement augmenté ($P < 0,02$) tandis que la demi-vie d'élimination et la clairance ont significativement diminué ($P < 0,02$), et la biodisponibilité a augmentée de 154%. En revanche, chez l'homme après administration d'une dose de 2 g de curcumine seule, les taux sériques étaient soit indétectables, soit très faibles. L'administration concomitante de 20 mg pipérine/Kg, a produit des concentrations beaucoup plus élevées après une durée de traitement de 0,25 à 1 h ($P < 0,01$ à 0,25 et 0,5 h ; $P < 0,001$ à 1 h), l'augmentation de la biodisponibilité était de 2000% [43]. Sur la figure IV.1 sont représentés les résultats de cette étude.

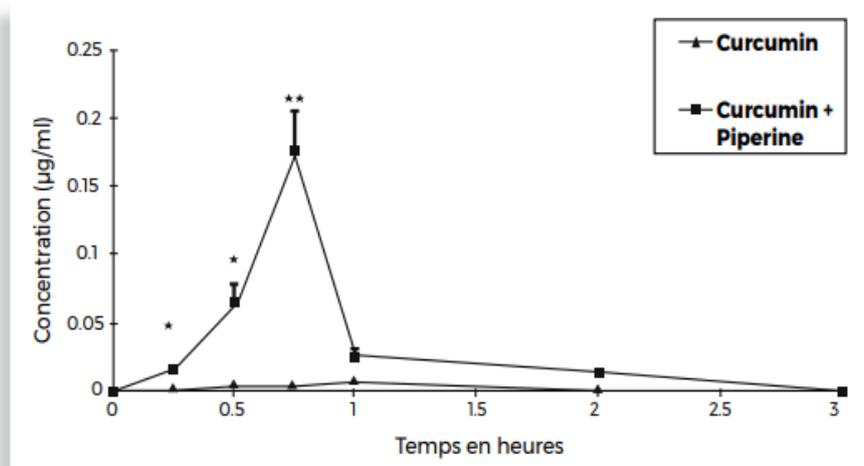


Figure IV. 1 : Evolution de la concentration sérique moyenne en µg/ml (moyenne +/- SEM) de curcumine après absorption de 2 g de curcumine orale seule et en association avec 20 mg de pipérine chez l'homme [43].

Dans une étude de conception croisée, un groupe de six mâles adultes en bonne santé ont pris 2 g de curcumine avec ou sans 5 mg de pipérine (sous forme de biopérine). Trois personnes ont été randomisées pour recevoir uniquement de la curcumine, tandis que les 3 autres ont reçu le mélange curcumine + pipérine. Une semaine après l'administration initiale du substrat, les volontaires ont été passés aux thérapies opposées et des échantillons de sang ont de nouveau été prélevés pour évaluation. Une amélioration de l'absorption de la curcumine a été constatée chez les sujets qui ont consommé le mélange curcumine-pipérine. L'absorption cérébrale de la curcumine après 2 min a été augmentée de 48%, cependant, l'absorption dans d'autres organes n'était pas significativement améliorée. Les auteurs de cette étude, attribuent cette amélioration limitée à la faible solubilité de la pipérine dans une solution saline éthanolique à 10% qu'ils ont utilisés comme milieu d'injection [44].

Selon Anand et al. [44], l'inhibition de la glucuronidation par la pipérine peut être le principal mécanisme par lequel se produit l'augmentation de la biodisponibilité de la curcumine. Les résultats de cette étude sont représentés sur la figure IV.2.

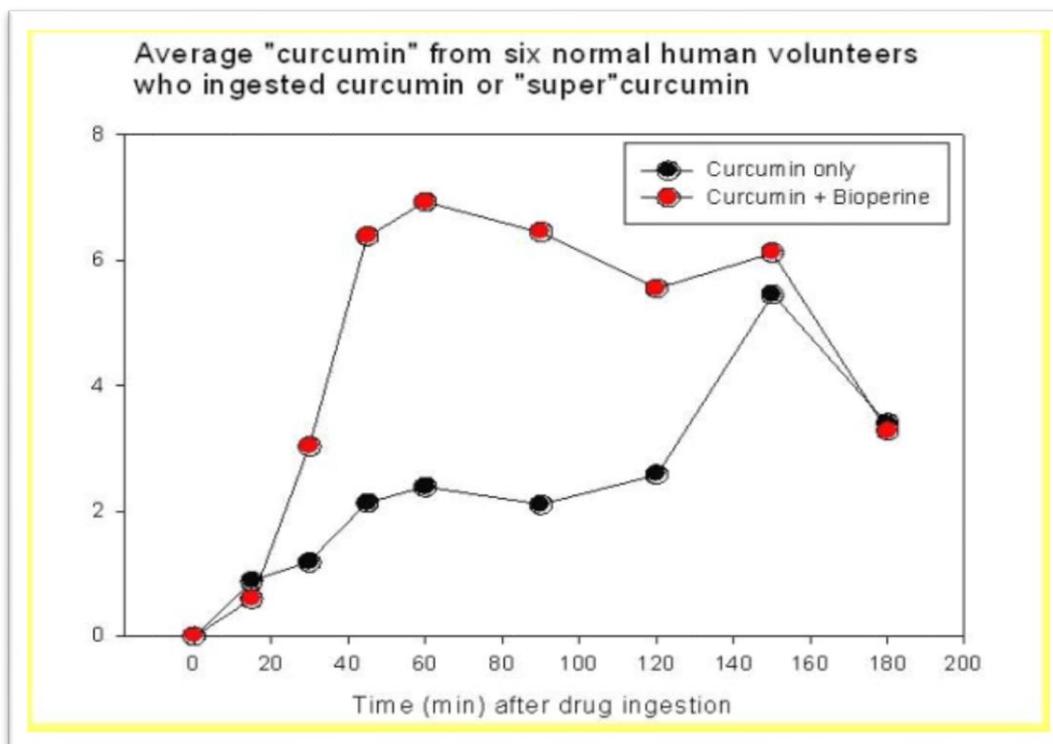


Figure IV.2 : Variation de l'absorption de la curcumine et du mélange curcumine+ biopérine en fonction de temps.

IV.2.2. Les nanoparticules :

Shaikh et al. [45] ont préparé des nanoparticules encapsulées de curcumine, par la technique d'émulsion. Les nanoparticules formulées sont de forme sphérique avec une taille de particule de 264 nm (indice de polydispersité 0,31) et 76,9% de piégeage à 15% de charge. Les nanoparticules encapsulées de curcumine ont montré une résistance aux conditions de test de stabilité accélérée de la Conférence internationale sur l'harmonisation (ICH). L'analyse par diffraction des rayons X a révélé la nature amorphe de la curcumine encapsulée. La libération *in vitro* était principalement due à un phénomène de diffusion et suivait le modèle de libération de Higuchi. La pharmacocinétique *in vivo* a révélé que les nanoparticules piégées par la curcumine montraient une augmentation d'au moins 9 fois la biodisponibilité orale par rapport à la curcumine administrée avec de la pipérine comme stimulateur d'absorption. En somme, les résultats indiquent clairement la prédiction des nanoparticules pour l'administration orale de molécules peu biodisponibles comme la curcumine.

IV.2.3. Encapsulation avec des liposomes :

Étant donné qu'un rôle du facteur nucléaire kappaB (NF-kappaB) a été impliqué dans la pathogenèse du carcinome pancréatique, ce facteur de transcription est une cible potentielle

pour le traitement de cette maladie dévastatrice. La curcumine (diferuloylméthane) est connue comme un phytochimique avec une puissante activité inhibitrice de NF-kappaB. Li et al. [46] ont encapsulé la curcumine dans un système d'administration liposomique (formé par des bicouches lipidiques concentrique emprisonnant entre elles de la curcumine) qui permettrait une administration intraveineuse. Ils ont étudié les effets *in vitro* et *in vivo* de ce composé sur la prolifération, l'apoptose, la signalisation et l'angiogenèse en utilisant des cellules de carcinome pancréatique humain. NF-kappaB était constitutivement actif dans toutes les lignées cellulaires de carcinome pancréatique humain évaluées et la curcumine liposomale a systématiquement supprimé la liaison de NF-kappaB (test de mobilité électrophorétique sur gel) et diminué l'expression des produits géniques régulés par NF-kappaB, y compris la cyclooxygénase-2 (immunoblots) et l'interleukine-8 (dosage immunoenzymatique).

Cette étude a montré que la curcumine liposomale régule à la baisse la machinerie NF-kappaB, supprime la croissance et induit l'apoptose des cellules pancréatiques humaines *in vitro*. Des effets anti-tumoraux et anti-angiogéniques ont été observés *in vivo*. Les expériences de la présente étude fournissent une justification biologique pour le traitement des patients souffrant de carcinome pancréatique avec ce phytochimique non toxique encapsulé dans des liposomes pour une administration systémique.

Dans une autre étude [47] et afin d'améliorer l'absorption de la curcumine par administration orale, la curcumine encapsulée dans des liposomes (LEC) a été préparée à partir de lécithines disponibles dans le commerce (SLP-WHITE et SLP-PC70) et examinée pour ses propriétés interfaciales et biochimiques. Une LEC préparée à partir de 5% en poids de SLP-PC70 et 2,5% en poids de curcumine a donné une bonne dispersibilité avec une efficacité d'encapsulation de 68% pour la curcumine, contrairement à celles de SLP-WHITE. De plus, il a été confirmé que la LEC résultante utilisant SLP-PC70 était composée de petites vésicules unilamellaires d'un diamètre d'environ 263 nm. La LEC résultante a ensuite été examinée pour son effet sur la biodisponibilité chez les rats Sprague-Dawley (SD). Trois formes de curcumine (curcumine seule, un mélange de curcumine - SLP-PC70 (lécithine), et [LEC] ont ensuite, été administrées par voie orale à des rats SD à une dose de 100 mg de curcumine / kg de poids corporel. Les paramètres pharmacocinétiques après administration de curcumine ont été déterminés sous chaque forme.

Après administration orale de LEC, les paramètres pharmacocinétiques ont été comparés à ceux de la curcumine et d'un mélange de curcumine et de lécithine. Une biodisponibilité

élevée de la curcumine était enregistrée dans le cas de la LEC orale ; une vitesse plus rapide et une meilleure absorption de la curcumine ont été observées par rapport aux autres formes.

Les résultats indiquent une amélioration de l'absorption gastro-intestinale de la curcumine par l'encapsulation des liposomes. Fait intéressant, l'activité antioxydante plasmatique après une LEC orale était significativement plus élevée que celle des autres traitements.

IV.2.4. Encapsulation avec les cyclodextrines

Les cyclodextrines peuvent se complexer avec des molécules naturelles, la forme β -cyclodextrine interagit notamment avec le cholestérol. Cette forme peut ainsi influencer la stabilité physique des membranes cellulaires, en revanche, la γ -cyclodextrine est celle qui interagit le plus faiblement avec celles-ci. De plus, cette dernière n'a aucun effet significatif sur l'intégrité membranaire des liposomes unilamellaires [48]. C'est pour cela que le choix s'est porté sur la γ -cyclodextrine pour l'encapsulation de la molécule de curcumine. Un complexe breveté, "CAVACURMIN[®]", est une association de CAVAMAX[®] W8 γ -cyclodextrine et d'extrait de curcuma [48].

Une étude clinique évaluant la toxicité de la γ -cyclodextrine dans l'alimentation humaine a mis en évidence qu'elle était tolérée jusqu'à une consommation de 0,11 g/kg de poids corporel, sans provoquer de symptôme ou d'inconfort gastro-intestinal.

Le CAVACURMIN[®] était jusqu'à 5 fois plus efficacement dissous et l'absorption était jusqu'à 10 fois plus importante par rapport aux formulations commerciales ou encore comparé à un extrait standard. Ces résultats soulignent clairement l'augmentation significative de la biodisponibilité de la curcumine dans une formulation à base de γ -cyclodextrine confirmés cliniquement sur 12 individus sains en comparant la biodisponibilité de 4 extraits de curcumine : un extrait standard de curcumine, 2 formulations commerciales et le complexe CAVACURMIN[®]. Le suivi de la concentration plasmatique pendant 12 heures a permis de mettre en évidence une augmentation relative de la biodisponibilité de 39 fois plus comparé à un extrait de curcumine standard (Figure IV.3) [49].

Après consommation de CAVACURMIN[®] par voie orale, celui-ci arrive intact au niveau du tractus intestinal supérieur, les molécules de curcumine sont dissociées du complexe et seules celles-ci sont absorbées au niveau des cellules épithéliales. Contrairement aux formes α et β , la γ -cyclodextrine est complètement digérée par la salive et l'amylase pancréatique. Son hydrolyse conduit principalement à la formation de maltose, du maltotriose et des quantités plus faibles de glucose.

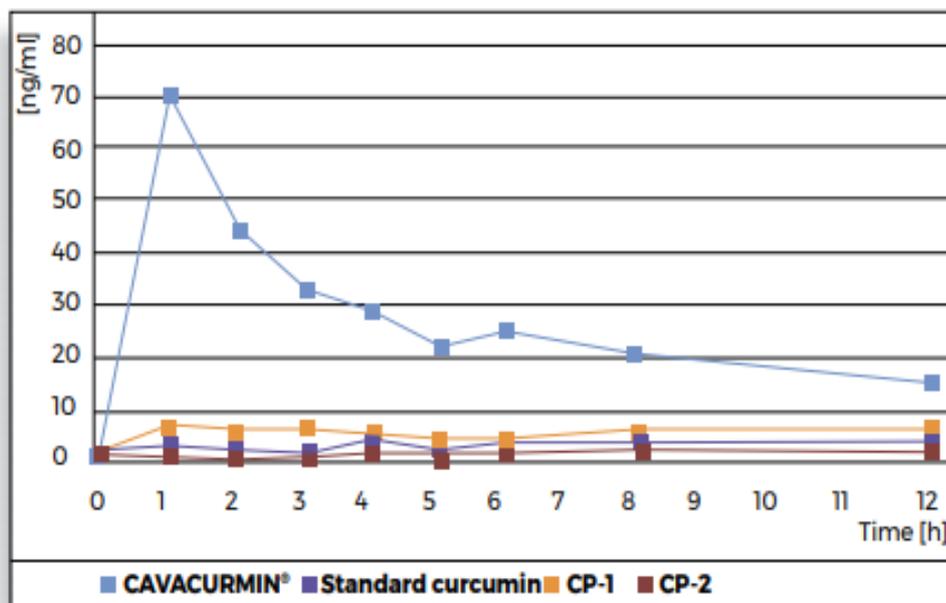


Figure IV.3 : Comparaison de l'évolution de la concentration plasmatique en curcumine après absorption de 4 formulations de curcumine pendant 12 heures (CP-1 et CP-2 : 2 formulations de curcumine commercialisées ; standard curcumine : un extrait standard de curcumine non formulé et le CAVACURMIN®) [49].

Tableau IV.1 : Synthèse des résultats de travaux de recherche dédiés aux méthodes utilisées pour l'amélioration de la biodisponibilité de la curcumine :

Méthodes utilisées	Produits utilisés pour la formulation	Conditions de formulation	Mode d'administration	Résultats obtenus	Réf
Co-administration avec la pipérine	Biopérine + Curcumine.	*2mg de curcumine et 5mg de piperin.	Administration intraveineuse.	L'absorption cérébrale de la curcumine après 2 min a augmenté de 48%.	[44]
Nanoparticules	Nanoparticules+ curcumine. Un polymère est utilisé pour la formulation des nanoparticules	*taille de particule 264 nm (indice de polydispersité 0,31). *76,9% de piégeage à 15% de charge.	Administration orale.	Une augmentation d'au moins 9 fois la biodisponibilité	[45]

		*durée d'étude : 3 mois.			
Encapsulation avec des liposomes	Curcumine + lécithine SLP-PC70	*5% en poids de SLP-PC70 composée de petites vésicules unilamellaires d'un diamètre d'environ 263 nm. *2,5% en poids de curcumine	Administration intraveineuse.	Une bonne dispersibilité avec une efficacité d'encapsulation de 68% pour la curcumine.	[46]
Encapsulation avec les cyclodextrines	CAVACURMIN (CAVAMAX [®] W8 γ -cyclodextrine + l'extrait de curcuma)	*Le CAVACURMIN [®] était jusqu'à 5 fois plus efficacement dissous et l'absorption était jusqu'à 10 fois plus importante par rapport aux formulations commerciales *durée d'études 12 heures	Administration par voie orale.	Une augmentation relative de la biodisponibilité de 39 fois plus comparé à un extrait de curcumine standard. La concentration plasmatique en curcumine après 1h est de 70 ng/ml	[48]

IV.3. Discussion des résultats :

Selon Anand et Shoba, l'administration de la curcumine en co-administration avec la pipérine améliore son absorption et fait augmenter sa biodisponibilité ainsi que son effet thérapeutique.

En comparant aux études de Shaikh [45], on constate que l'utilisation des nanoparticules dans l'encapsulation de la curcumine a fait augmenter d'au moins 9 fois sa biodisponibilité orale par rapport à la curcumine administré avec la pipérine.

L'encapsulation liposomale de la curcumine dans des liposomes (LEC) a montré une biodisponibilité élevée de la curcumine, les résultats indiquent une amélioration de l'absorption gastro-intestinale de la curcumine. L'encapsulation de la curcumine peut aussi être réalisée avec les cyclodextrines.

Après avoir comparé les résultats des études précédentes, on vote pour la méthode d'encapsulation de la curcumine dans les γ -cyclodextrines. Selon les informations qu'on a

recueillies, la β -cyclodextrine interagit avec le cholestérol, comme elle peut influencer sur la stabilité physique des membranes cellulaires. En revanche, la γ -cyclodextrine interagit le plus faiblement avec celle-ci. La γ -cyclodextrine est tolérée jusqu'à une consommation de 0,11 g/Kg de poids corporelle sans provoquer d'effets indésirables.

Après consommation de la γ -cyclodextrine par voie orale, les molécules de curcumine sont absorbées seuls au niveau des cellules épithéliales, contrairement aux formes α et β , la γ -cyclodextrine est complètement digérée par la salive et l'amylase pancréatique.

Conclusion générale

A l'issue de cette étude, il en résulte que le *Curcuma longa* fait partie des plantes qui suscitent un intérêt grandissant. La curcumine isolée des rhizomes, constitue le principe actif majoritaire du point de vue thérapeutique qui est à l'origine de la plupart des propriétés pharmacologiques et du pouvoir colorant.

La curcumine fait preuve de magie, selon un grand nombre d'auteurs, elle est d'un pouvoir thérapeutique extrême qui peut convertir presque toutes les maladies (anti-inflammatoire, anti-oxydante, activité antibactérienne, activité antiviral, activité antifongique, activité anti VIH, activité anti diabétique, activité anti Alzheimer, cancérologie...).

Cependant, la curcumine souffre d'une biodisponibilité médiocre une fois administré dans le corps. Les études sont donc actuellement orientées vers l'amélioration de cette biodisponibilité par diverses méthodes que nous avons exposées dans notre travail. Nous avons comparé essentiellement les résultats des études qui ont concerné la co-administration avec la pipérine, l'encapsulation de la curcumine avec des nanoparticules, des liposomes et avec des cyclodextrines, qui paraissent être parmi les méthodes les plus attrayantes.

Par références aux études récentes sur l'amélioration de la biodisponibilité de la curcumine à des modèles *in vitro* ou *in vivo* soit chez le rongeur ou chez l'humain, les auteurs ont pu tirer des résultats satisfaisants qui encouragent de plus en plus la recherche de solutions toujours plus innovante pour la rendre plus efficace.

Références

- [1] Beghdad N, Beghdad L. *Extraction de la curcumine du curcuma, étude de ses propriétés par DFT et évaluation de ses activités antibactérienne, antioxydante et anti inflammatoire*. Mémoire de fin d'étude 2018. Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana.
- [2] Wang YJ, Pan MH, Cheng AL, Lin LI, Ho YS, Hsieh CY, Lin JK. *Stability of Curcumin in Buffer Solutions and Characterization of Its Degradation Products*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 1997, 15 (12) : 1867–76.
- [3] Jourdan JP. *Curcuma et curcumine, de l'histoire aux intérêts thérapeutiques*. Thèse de doctorat 2015. Université de Caen.
- [4] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Curcuma#Constituants>
- [5] Jansen PCM, Grubben GJH, Cardon D. *Ressources végétales de l'Afrique tropicale 3. Colorants et tanins*. Wageningen. Pays-Bas 2005. PROTA : 238.
- [6] Lassus SM, Guehenne J. *Huile essentielle de curcuma*. December 2017.
- [7] Tyagi P, Singh M, Kumari H, Kumari A, Mukhopadhyay K. *Bactericidal Activity of curcumin I is Associated with damaging of bacterial membrane* . Plos ONE Mar 26 (2015), 10(3): e0121313.
- [8] Ronita D, Kundu P, Swarnakar S, T Ramamurthy, Chowdhury A, Balakrish GN, Mukhopadhyay AK. *Activité antimicrobienne de la curcumine contre les isolats d'Helicobacter pylori d'Inde et lors d'infections chez les souris*. PubMed 2009 Avr, 53(4):1592-7.
- [9] Zorofchian SM, Habsag AK, Pouya H, Tadhik H, Sazaly A, Zandi K. *Un examen de l'activité antibactérienne, antivirale et antifongique de la curcumine*. BioMed Research International 2014, vol 2014, no. 186864.
- [10] Sajithlal GB, Chithra P, Chandrakasan G. *Effet de la curcumine sur la glycation avancée et la reticulation du collagène chez les rats diabétiques*. Biochemical pharmacology 1998, 56 (12): 1607-14.
- [11] Lekshmi PC, Arimboor R, Indulekha PS, Menon AN. *Turmeric (Curcuma longa L.) volatile oil inhibits key enzymes linked to type 2 diabetes*. International journal of food sciences and nutrition. Nov 2012; 63(7):832-4.

- [12] Shrikant M, Kalpana P. *The effect of curcumin (turmeric) on Alzheimer's disease: An overview*. Annals of Indian Academy of Neurology. Jan-Mar 2008, 11(1): 13–19.
- [13] Franck A. *Curcuma curcumine curcuminoides*. Health & Medicine Apr 16, 2014.
- [14] Vogel, Pelletier J. *Examen Chimique de La Racine de Curcuma*. Journal de Pharmacie et des Sciences Accessoires 1815, 289–300.
- [15] Revathy S, Elumalai S, Benny M, Antony B. *Isolation , Purification and Identification of Curcuminoids from Turmeric (Curcuma Longa L .) by Column Chromatography*. Journal of Experimental Sciences 2011, 2(7) : 21–25.
- [16] Roughley P J, Whiting DA. *Experiments in the Biosynthesis of Curcumin*. Journal of the Chemical Society 1973, Perkin Transaction 1, 2379–2388.
- [17] Kita T, Imai S, Sawada H, Kumagai H, Seto H. *The Biosynthetic Pathway of Curcuminoid in Turmeric (Curcuma Longa) as Revealed by 13C-Labeled Precursors*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 2008 Jul, 72(7) : 1789–98.
- [18] Patil M, Shivaprakash BV. *Pharmacology and Clinical Use of Dimethyl Sulfoxide (DMSO) : A Review*. International Journal of Molecular Veterinary Research 2013, Vol. 3, no. 6 23- 33.
- [19] Grugeau C. *CURCUMA LONGA L. (Zingibéracées)*. universite de Limoges 1995.
- [20] Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. *Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises*. Molecular Pharmaceutics 2007, 4(6) : 807–18.
- [21] Cheikh Ali Z. *Études chimiques et biologiques d'Aframomum sceptrum (Zingiberaceae) et de la curcumine*. Université paris-sud 2012.
- [22] Hombourger C. *Le curcuma, de l'épice au médicament*. These doctorat 2010. Université HENRI POINCAR. Nancy 1.
- [23] Ching WY, Yusadli BY, Wan A, Nurdiyana WB. *Extraction of Essential Oil from Curcuma Longa*. Journal of Food Chemistry and Nutrition 2014, 02 (01), 01–10.
- [24] Leybros J, Frémeaux P. *Extraction solide-liquide. Aspects théoriques* .Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés 1990.
- [25] Luque de Castro MD, Priego-Capote F. *Soxhlet extraction : Past and present panacea*. Journal of chromatography A 2010, vol 1217, no (16).
- [26] Ranveer RC, *Ultrasound assisted extraction of curcumin*. Journal of dairying, foods & home sciences, August 2018.

- [27] Anne-Marie Bassil AM, Brunet P, Dybal E, Georges C. *TPE-Huiles essentielles*. Institution Stanislas Nice.
- [28] Kfoury M. *Préparation, caractérisation physicochimique et évaluation des propriétés biologiques de complexes d'inclusion à base de cyclodextrines: applications à des principes actifs de type phénylpropanoïdes*. Biotechnologies. Université du Littoral Côte d'Opale, 2015.
- [29] P. Bonnet. *Etude par modélisation moléculaire de dimères de cyclodextrine et de leurs complexes d'inclusion*. Thèse de doctorat 2001. Université d'Orléans, France.
- [30] Szejtli, J. *Cyclodextrin technology*. Springer Science+Business Media Dordrecht. 1988.
- [31] Fatmi S. *Formulation et caractérisation d'un anticancéreux à base de polymère hydrophile et de cyclodextrines*. Thèse doctorat 2015. Université A.Mira-Bejaia.
- [32] Lachi N. *Etude des Complexes d'inclusion par la méthode ONIOM*. 2015, 5-10.
- [33] Meznad M, M'hamdi I. *Optimisation et caractérisation des complexes d'inclusion vitamine E/cyclodextrine et cholestérol/cyclodextrine*. 2016, 3-16.
- [34] Loftsson T, Duchene D. *Cyclodextrins and their pharmaceutical applications*. International Journal of Pharmaceutiquis 2007, 329(1-2): 1–11.
- [35] Loftsson T, Brewster ME. *Pharmaceutical applications of cyclodextrins: basic science and product development*. Journal of Pharmacy and Pharmacology 2010, vol 62, no (11).
- [36] Bakkour Y. *Etude par RMN des complexes d'inclusion avec des cyclodextrines natives et polymérisées*. Thèse de doctorat 2005. Université des Sciences et Technologies de Lille, France.
- [37] Benhadi S. *Greffage de cyclodextrines modifiées par traitement corona sur matériaux celluloseux*, thèse de doctorat 2010, Université de Nancy I, France.
- [38] Moutard S. *Relation entre la structure et les propriétés d'organisation de nouvelles cyclodextrines amphiphiles*. Thèse de doctorat 2000, Université de Picardie, France.
- [39] Gross J. *Caractérisation de surfaces bio fonctionnalisées pour l'étude de protéines de la chaîne respiratoire par spectroscopie infrarouge couplée à l'électrochimie*. Thèse de doctorat 2011. Université de Strasbourg, France.

- [40] Sauceau M, Rodier E, Fages J. *Preparation of inclusion complex of piroxicam with cyclodextrin by using supercritical carbon dioxide*. Journal of Supercritical Fluids, Elsevier, 2008, vol. 47(2).
- [41] Siqi G. *Encapsulation of curcumin into β -cyclodextrins inclusions*. College of food science and Technologie 2019, 131, 01100. China.
- [42] Kashif A. *Encapsulation of Curcumin in O/w Nanoemulsions and Its Bioaccessibility After In Vitro Digestion*. University of Massachusetts Amherst 2010.
- [43] Shoba G, Joy D, Joseph T, Majeed M, Rajendran R, Srinivas PS. *Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers*. Planta Medica 1998, 64(4) : 353-6.
- [44] Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. *Bioavailability of curcumin: problems and promises*. Mol Pharmaceutics, 2007, 4(6), 807-18.
- [45] Shaikh J, Ankola DD, Beniwal V, Singh D, Ravi Kumar MNV. *Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as adsorption enhancer*. European Journal of Pharmaceutical Sciences 2009, 37 (3-4) : 223-230.
- [46] Li L, Braithe FS, Kurzrock R. *Liposome-encapsulated curcumin : in vitro and in vivo effects on proliferation, apoptosis, signaling, and angiogenesis*. Cancer 2005, 104 (6) : 1322-31.
- [47] Makoto T, Shuntoku U, Kensaku T, Yonathan A, Koji W. *Evaluation of an oral carrier system in rats: bioavailability and antioxidant properties of liposome-encapsulated curcumin*. Journal of agricultural and food chemistry 2009, 14 ; 57(19) : 9141-6.
- [48] Hatzi P, Mourtas S, Klepeptsanis PG, Antimisiaris SG. *Integrity of liposomes in presence of cyclodextrins : Effect of liposome type and lipid composition*. International Journal of Pharmaceutics 2006, 333(1-2) : 167-176.
- [49] Purpura M, Lowery RP, Wilson JM, Mannan H, Munch G, Razmovski NV. *Analysis of different innovative formulations of curcumin for improved relative oral bioavailability in human subjects*. European Journal of Nutrition 2018, 57(3) : 929-938.

Résumé

Le *Curcuma Longa L* une plante vivace par des rhizomes appartenant à la famille des *Zingiberaceae*. La poudre des rhizomes est très utilisée, pour sa couleur orangé et pour ses intérêts thérapeutiques, dans plusieurs domaines. La curcumine le principe actif chef du curcuma, présente un grand nombre de propriétés pharmacologiques remarquables (anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antifongique, antivirale, etc.), mais cette substance souffre d'une faible biodisponibilité une fois administré dans le corps. L'objectif de ce travail est d'établir les propriétés physico-chimiques de la curcumine permettant d'expliquer ses propriétés pharmacologiques, notamment les moyens mis en œuvre pour améliorer sa biodisponibilité. Ce manuscrit englobe en premier lieu, la description de la plante *Curcuma Longa L*. et les propriétés physico-chimiques de la curcumine ainsi que les méthodes utilisées pour l'amélioration de sa biodisponibilité. Le deuxième volet est consacré aux procédés d'extraction de la curcumine. L'étude a aussi concerné quelques méthodes d'encapsulation de la curcumine (la co-administration avec la pipérine, encapsulation avec des nanoparticules, des liposomes et avec des γ -cyclodextrines). La sécurité d'utilisation de ces ingrédients, combinée à une meilleure biodisponibilité semble offrir d'excellentes alternatives thérapeutiques naturelles.

Absrtact

Curcuma Longa L a perennial plant with rhizomes belonging to the *Zingiberaceae* family. The powder of rizophomes is widely used for its orange color in several fields and for its therapeutic interests. Curcumin, the main active ingredient in turmeric, exhibits a number of remarkable pharmacological properties (anti-oxidant, anti-inflammatory, antifungal, antiviral, etc.), but this substance suffers from poor bioavailability when administered to the body. The objective of this work is to establish the physicochemical properties of curcumin making it possible to explain its pharmacological properties, in particular the means implemented to improve its bioavailability. This manuscript includes first, the description of the *Curcuma Longa L*. plant and the physicochemical properties of curcumin and the methods used to improve its bioavailability, the second part is devoted to the extraction processes of the latter. The study of some methods of encapsulation of curcumin (co-administration with piperine, encapsulation with nanoparticles, liposomes and with γ -cyclodextrins), the safety of use of these ingredients, combined with a better bioavailability appears to offer excellent natural therapeutic alternatives.

Mots clés: *Curcuma Longa L*, curcumine, absorption, biodisponibilité, encapsulation.