



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature  
et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie  
Filière: Sciences biologiques

Référence ..... / 2021

# MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité: Microbiologie Appliquée

---

Présenté et soutenu par:

**DEMMAR Samah et KHELAIFA Meriem.**

Le: dimanche 4 juillet 2021

## **Evaluation de quelques activités biologiques du *curcuma longa L.***

### **Jury :**

Mme. DJOUAMA Manel	MAA	Université de Biskra	Président
Mme. CHOUIA Amel	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. AOUREGH Hayat	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire: 2020 - 2021

## **Remerciement**

Nous remercions ALLAH pour sa grande bonté et sa générosité. Il nous a accordé le succès et nous a donné la force et la volonté de mener à bien cet humble travail.

Nous adressons nos sincères remerciements au professeur vertueuse, chouia Amal, pour son aide et ses conseils qu'elle a nous fournis dans notre cheminement vers l'achèvement de ce mémoire.

Nous remercions également les membres du jury d'avoir relu, évalué et enrichi notre travail ainsi que leurs remarques et suggestions.

Enfin, nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la conduite de cette recherche.

## *Dédicace*

Je dédie ce mémoire

A ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis  
aujourd'hui :

Particulièrement A mes chers parents **Mebarek** et **Boubeguirah zohra**, pour tous leurs  
sacrifices, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

A mes frères et sœurs qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études

A mes amies et mes camarades.

Sans oublier tout les professeurs que se soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de  
l'enseignement supérieur.

DEMMAR Samah.

## *Dédicace*

Je dédie ce modeste travail

À la source de la tendresse, à la source du don et de la générosité, à celle qui a travaillé et lutté  
et a prié ALLAH dans ses prières pour nous ...

A ma mère bien-aimée....

A la source de force et à mon soutien , à ceux qui ont œuvré pour notre confort et à la  
rencontre de nos élèves ...

à mon père....

A toute ma famille , grande et petite . chacun a son nom

A tous ceux avec qui j'ai passé mes années d'université

A mes meilleurs amis **Amira, Amal, Samah, Nihad et Rachida ....**

et à tous mes collègues , tout le monde chacun en son nom

A tous les professeurs . à tous ceux qui ont cherché à hisser la bannière de la science, du  
sérieux et de la lutte

KHELAIFA Meriem.

## Table de matière

Remerciement .....	
Dédicace.....	
Table de matière .....	
Liste des tableaux .....	I
Liste des figures .....	II
Liste des abréviations .....	III
Introduction.....	1

### Partie Bibliographique

#### Chapitre 1 Généralité sur la plante de *curcuma longa L.*

1.1.Historique .....	3
1.2.Description botanique .....	3
1.3.Classification .....	4
1.4.Composition chimique .....	4
1.5.Utilisation de <i>curcuma longa L</i> .....	6

#### Chapitre 2 Activités biologiques du *curcuma longa L.*

2.1.Activité antioxydant .....	7
2.1.1. Radical libre .....	7
2.1.2. Stress oxydant .....	7
2.1.3.Définition les antioxydants.....	7
2.2.Activité antimicrobienne .....	8
2.2.1. Infections microbiennes.....	8
2.2.2. Agents antimicrobiens.....	9
2.2.3. Activité Antibactérienne .....	9
2.2.4. Activité Antifongique.....	10

2.3. Activité Anticoagulant : .....	10
2.3.1. Coagulation.....	10
2.3.2. Facteurs de la coagulation .....	10
2.3.3. Anticoagulants.....	11

Partie Expérimentale

Chapitre 3 Matériel et méthodes

3.1. Préparation de matière végétal.....	12
3.2 .Préparation de l'extrait méthanolique .....	12
3.3. Extraction de curcumine.....	14
3.4. Extraction des huiles essentielles par méthode hydro distillation .....	14
3.5. Dosage des flavonoïdes totaux .....	15
3.6. Dosage des poly phénol totaux .....	15
3.7. Activité biologique.....	16
3.7.1. Activité antioxydante.....	16
3.7.1.1. Mode opératoire.....	16
3.7.1.2. Expression des résultants.....	17
3.7.2. Activité antimicrobienne .....	18
3.7.2.1. Micro-organismes.....	18
3.7.2.2. Préparation de suspension .....	18
3.7.2.3. Testes antimicrobiennes .....	18
3.7.2.3.1. Méthode de diffusion des disques .....	18
3.7.2.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	19
.....	19
3.7.3. Etude de l'activité anticoagulante.....	20
3.7.3.1. Préparation du pool plasmatique (standard) déplaquettés .....	20
3.7.3.2. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène.....	20
.....	20

---

3.7.3.2.1. Principe .....	20
3.7.3.2.2. Mode opératoire .....	20
3.7.3.3. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène.....	21
3.7.3.3.1. Principe.....	21
3.7.3.3.2. Mode opératoire.....	21
Chapitre 4 Résultats et discussion	
4.1.Résultat du rendement.....	22
4.1.1.Rendement des extraits organiques.....	22
4.1.2.Rendement du curcumine .....	22
4.1.3.Rendement de l'huile essentielle .....	23
4.2.Dosage des polyphénols totaux.....	24
4.3.Dosage des flavonoïdes .....	24
4.4.Activités biologique .....	25
4.4.1.Résultats de l'activité antioxydant .....	25
4.4.2.Résultats de l'activité antimicrobienne .....	27
4.4.2.1. Méthode de diffusion des disques .....	27
4.4.2.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	28
4.4.3.Résultats Activité anticoagulante.....	31
4.4.3.1. Activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène.....	31
4.4.3.2. Activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène .....	31
Conclusion .....	36
Bibliographie.....	38
Annexes .....	
Résumé .....	

Liste des tableaux

**Tableau 1. 1.** Systématique du *curcuma longa* L.....4

**Tableau 1. 2.** Valeur nutritionnelle et énergétique de *curcuma longa* L.....5

**Tableau 2. 1.** Facteurs de la coagulation.....11

**Tableau 3. 1.** Mode de préparation des extraits de curcuma longa par l'extraction méthanolique.....12

**Tableau 4. 1.** Activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique et aqueuse du *curcuma longa* L. contre différents micro-organismes .....27

**Tableau 4. 2.** Diamètre des zones d'inhibition de la croissance (mm) créent les extraits de plantes selon le test de diffusion sur disque .....27

**Tableau 4. 3.** Activité antimicrobienne (zone d'inhibition, mm) d'extrait de curcuma contre les agents pathogènes .....28

**Tableau 4. 4.** Activités antibactériennes et antifongiques par méthode CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ).....29



## Liste des figures

<b>Figure 1. 1.</b> <i>Curcuma longa</i> L.. .....	4
<b>Figure 1. 2.</b> La structure chimique des principaux curcuminoides .....	6
<b>Figure 1. 3.</b> Structures de base des flavonides. ....	6
<b>Figure 2. 1.</b> Sites d'action des différentes classes d'antifongiques.....	10

## Liste des abréviations

<b>Abs :</b>	Absorbance
<b>ABTS :</b>	L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)
<b>ADN :</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>APTT :</b>	Temps de thromboplastine partiellement activé
<b>ARNm :</b>	Acide ribonucléique messenger
<b>ARNt :</b>	Acides ribonucléiques de transfert
<b>AVK :</b>	Anti vitamines K
<b><i>B. cereus</i> :</b>	<i>Bacillus cereus</i>
<b><i>B. subtilis</i> :</b>	<i>Bacillus subtilis</i>
<b>C° :</b>	degree Celsius
<b><i>C. albicans</i> :</b>	<i>Candida albicans</i>
<b>CAT :</b>	Catalase
<b><i>C. aromatic</i> :</b>	<i>Curcuma aromatic</i>
<b><i>C. domestica</i>:</b>	<i>Curcuma domestica</i> .
<b><i>C. longa L.</i> :</b>	<i>Curcuma longa Linn</i>
<b>CI50 :</b>	Concentration inhibant 50% de l'activité
<b>CMI :</b>	Concentration Minimale Inhibitrice
<b>CO<sub>2</sub> :</b>	Le dioxyde de carbone
<b>DMSO :</b>	Dimethyl sulfoxyde
<b>DPPH :</b>	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
<b><i>E. coli</i> :</b>	<i>Escherichia coli</i>
<b><i>E. faecalis</i> :</b>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<b>ERO :</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>EtOAc :</b>	Acétate d'éthyle
<b>FRAP :</b>	Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter
<b>FT :</b>	Le facteur tissulaire
<b>FX :</b>	Facteur X
<b>FXa :</b>	Facteur X active
<b>5-FC :</b>	5-fluorocytosine
<b>5-FU :</b>	Fluorouracil
<b>GPx :</b>	Les glutathion peroxydases

<b>GSH :</b>	Glutathion tripeptide
<b>H :</b>	Hydrogène
<b>HBPM :</b>	Les héparines de bas poids moléculaire
<b>HO :</b>	Hydroxyle
<b>H2O2 :</b>	Le peroxyde d'hydrogène
<b>HOCl :</b>	Acide hypochloreux
<b>IC50 :</b>	Concentration inhibitrice à 50%
<b>K<sup>+</sup> :</b>	Potassium
<b>LMWH :</b>	Low-molecular-weight heparin
<b>Na<sup>+</sup> :</b>	Sodium
<b>NaCO<sub>3</sub> :</b>	Le carbonate de sodium
<b>NaNO<sub>2</sub> :</b>	Nitrite de sodium
<b>NaOH :</b>	L'hydroxyde de sodium
<b>NO :</b>	l'oxyde nitrique .
<b>ONOO<sup>-</sup> :</b>	Peroxynitrites
<b>PT :</b>	Le temps de prothrombine
<b>PTT :</b>	Partial thromboplastin time (temps de thromboplastine partiellement)
<b>ROS :</b>	Espèces réactives de l'oxygène.
<b><i>S. aureus</i> :</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> .
<b>SOD :</b>	Le Superoxyde dismutase
<b>TCK :</b>	Temps de Céphaline Kaolin
<b>TP :</b>	Taux de Prothrombine
<b>TQ :</b>	Temps de Quick
<b>VKORC1 :</b>	Vitamin K epOxide Reductase Complex (VKORC) subunit 1

# Introduction

---

## Introduction

La relation entre les plantes et l'homme existe depuis l'Antiquité. Les plantes sont des composants essentiels de la biodiversité, au service avant tout du bien-être de l'homme (Kidik pouka *et al.*, 2015). Depuis l'aube de l'humanité, les plantes ont permis à l'homme non seulement de se nourrir, de se vêtir, de se loger, de se chauffer, de se parfumer... Mais il les utilisait aussi pour maintenir son équilibre, soulager les souffrances, préserver et guérir les maladies qui nuisent à sa santé (Ouis, 2015).

Les plantes ont longtemps été utilisées comme médicament dans le monde entier. Cette plante est considérée comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques. L'industrie pharmaceutique s'intéresse de plus en plus à l'étude de l'ethnobotanique des plantes (Tahri *et al.*, 2012). Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et le développement de médicaments, non seulement lorsque les ingrédients végétaux sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (Etame Loe *et al.*, 2018). Environ 25% des médicaments prescrits par les médecins en Europe et en Amérique du nord proviennent de plantes trouvées dans les forêts du sud (Campbell, 1997).

Des nombreux produits dérivés de plantes tels que les épices, les préparations de fruits, les préparations ou extraits de légumes sont utilisés depuis des siècles pour la conservation et l'extension de la durée de conservation des aliments. Les épices ont été définies comme des substances végétales d'origine indigène ou exotique, aromatiques ou au goût prononcé, utilisées pour rehausser le goût des aliments. Les épices comprennent les feuilles (coriandre, menthe), les fleurs (girofle), les bulbes (ail, oignon), les fruits (piment rouge, poivre noir), la tige (cannelle), les rhizomes (gingembre, curcuma) et d'autres parties de la plante. Ces des épices qui ont conquis les palais du monde entier et qui font partie intégrante de la médecine traditionnelle (Pundir et Pranay, 2010).

Le curcuma (*Curcuma longa* L.) est une plante herbacée vivace rhizomateuse de la famille du gingembre, les Zingibéracées. La poudre jaune orangé foncé connue sous le nom de curcuma est préparée à partir de rhizomes bouillis et séchés de la plante. Il a été

# Introduction

---

couramment utilisé comme épice et médecine (Li *et al.*, 2011). Où elle est considérée comme une plante magique en raison de ses propriétés organoleptiques et de ses effets thérapeutiques et protecteurs incontestables, notamment pour la peau et le foie (Quiles *et al.*, 2002). Notamment en Asie. En médecine ayurvédique, le curcuma est principalement utilisé comme traitement des affections inflammatoires et en médecine traditionnelle chinoise, il est utilisé comme stimulant, aspirant, carminatif, cordial, éménagogue, astringent, détergent, diurétique (Li *et al.*, 2011).

L'objectif principal de notre travail est consacré à l'évaluation de quelques activités biologique de *Curcuma longa L.* notamment, l'activité antioxydant, antimicrobienne et anticoagulant.

D'après le cas spéciale de cette année et a cause de la pandémie de CORONA VIRUS (covid 19), la partie expérimentale de cette étude est représenté par une synthèse d'analyse des articles scientifique qui étudiées le même objectif et pour cela, le présent travail est formé par deux parties :

Première partie : c'est la partie bibliographique, qui comprend un chapitre sur la plante étudiée (*curcuma longa L*) , et un chapitre sur l'importance de quelques activités biologiques.

Deuxième partie : c'est la partie expérimentale, qui referme un chapitre sur les dispositifs et les méthodes utilisés dans les différents tests étudiés, et un autre chapitre représente les résultats obtenus et leurs discussions avec d'autre étude.

Et en fin une conclusion générale pour clôturer ce travail .

**Partie**

**Bibliographique**

# **Chapitre 1**

**Généralité sur la plante de**

*curcuma longa L.*

### 1.1. Historique

*Curcuma longa* L. qui appartient à la famille des Zingiberaceae, est une plante herbacée vivace qui mesure jusqu'à 1 m de haut avec une tige courte, répartie dans les régions tropicales et subtropicales du monde, étant largement cultivé dans les pays asiatiques, principalement en Inde et en Chine. Ses rhizomes sont oblongs, ovales, pyriformes (Araújo et Leon, 2001)

Son rhizome est largement utilisé pour donner de la couleur et de la saveur aux aliments. Sous forme de poudre, appelée curcuma (Hermann *et al.*, 1991). Le curcuma est utilisé par la médecine traditionnelle indienne actuelle revendiquée actuelle pour traiter les troubles biliaires, l'anorexie, le coryza, la toux, les plaies diabétiques, les troubles hépatiques, les rhumatismes et la sinusite et aussi la médecine traditionnelle en Chine utilise *Curcuma longa* dans les maladies associées aux douleurs abdominales, à l'ictère...etc. (Hermann *et al.*, 1991).

### 1.2. Description botanique

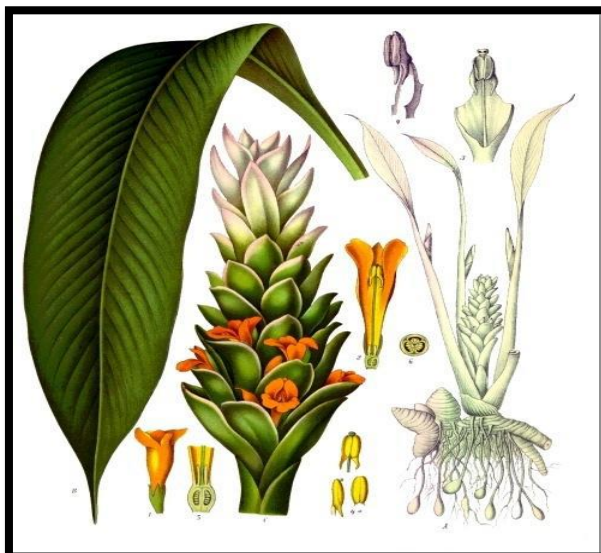
*Curcuma longa* L. est une plante persistante qui peut mesurer de 60 à 100 cm de hauteur (Jourdan, 2015), Le rhizome est épais et annelé à la base de vieilles feuilles ; le curcuma ne se reproduit que via ses rhizomes (Kuete, 2017 )

**Rhizome** : est un complexe charnu comportant un tubercule primaire ellipsoïde d'environ 5 cm x 2,5 cm, couleur jaune orangé, les jeunes pousses blanches (Jansen, 2005)

**Les feuilles** : sont larges et naissent à partir du rhizome. Elles sont alternes et distiques, présentent un pétiole engainant, portant un limbe penninervé, oblong-lancéolé, long d'une cinquantaine de centimètres, glabre sur les deux faces (Ali, 2013)

**Les fleurs** : sont généralement jaunes et assemblées (Jourdan, 2015). Elles possèdent un calice tubulaire, court, présentant 3 dents inégales, une corolle tubulaire à sa base, puis divisée en 3 lobes jaunes inégaux, des étamines dont une seule fertile, bifide, l'anthère présentant un large éperon courbé à la base, un ovaire infère et trilobulaire (Hombourger, 2010).





**Figure 1.1.** *Curcuma longa L.* (Hombourger, 2010)

### 1.3. Classification

la systématique du *curcuma longa L.* est représentée dans le tableau 01.

**Tableau 1. 1.** Systématique du *Curcuma longa L.* (Chattopadhyay et al., 2004).

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Lilopsida
<b>Sous-classe</b>	Zingiberidae
<b>Ordre</b>	Zingiberales
<b>Famille</b>	Zingiberaceae
<b>Genre</b>	<i>Curcuma</i>
<b>Espèce</b>	<i>Curcuma longa L.</i>

**Noms vernaculaires:** curcuma, safran indien, souchet des indes, safran bourbon (Rahmani et Zenasni, 2013)

### 1.4. Composition chimique

Selon Nasri *et al.* (2014), la plante *Curcuma longa L.* est composée de différents constituants : (69,4%) de glucides, (6,3%) de protéines, (5,1%) de matières grasses, (3,5%) de minéraux et (13,1%) humidité, l'huile essentielle (5,8%) et quelque Valeur nutritionnelle et énergétique représenté dans le tableau 1.2 :

**Tableau 1. 2.** Valeur nutritionnelle et énergétique de *curcuma longa L.* (Shahid, 2016).

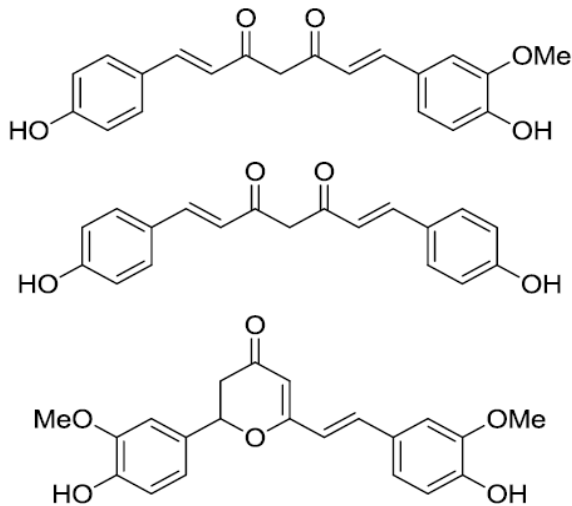
Composition du curcuma (pour 100 grammes)					
Énergie	354 Calories	Minéraux		Vitamines	
Eau	11.36 g	Calcium	183.00 mg	Vitamine A et B12	0.00 µg RAE
Protéine	7.83 g	Cuivre	603.00 µg	Vitamine B1	0.15 mg
Sucre	3.21 g	Fer	41.42 mg	Vitamine B2	0.23 mg
Fibre	21.10 g	Magnésium	193.00 mg	Vitamine B3	5.14 mg
<b>Acides gras</b>		Manganèse	7.83 mg	Vitamine B6	1.80 mg
Total	9.88 g	Phosphore	268.00 mg	Vitamine B9	39.00 µg DFE
Omega 3	0.48 g	Potassium	2525.00 mg	Vitamine C	25.90 mg
Omega 6	1.69 g	<b>Autres</b>		Vitamine D	0.00 µg
Omega 9	1.66 g	Phytostérol	82.00 mg	Vitamine E	3.10 mg
Gras saturés	3.12 g	Curcumine	3888.80 mg	Vitamine k	13.40 µg

**huiles essentielles :** sont responsables de l'odeur caractéristique du curcuma, elles sont composées des dérivés terpéniques (mono terpènes et sesquiterpènes), notamment l' $\alpha$  et la  $\beta$  turmerone, l' $\alpha$ -turmerone, le zingiberene, l' $\alpha$  et le  $\beta$ -curcumene et l'élément (Cadet, 2020) Elle est obtenue par distillation. (Anne et Vaquier, 2010).

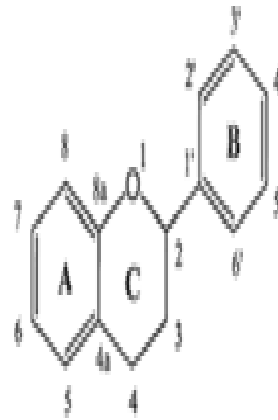
**curcuminoïdes:** Les curcuminoïdes sont des poly phénols ayant une couleur jaune, (Revathy *et al.*, 2011). Il est traditionnellement extrait à partir de la poudre de curcuma par des solvants organiques polaires tels que les alcools, l'acétone, l'acétate d'éthyle,...etc. La formule brute ( $C_{21}H_{20}O_6$ ), de poids moléculaire égal à 368,37 (Ntoutoume, 2015).

Les curcuminoïdes sont des 1,7-diaryl-hepta-1,6-diène-3,5-diones ; Le composant majoritaire est la curcumine. Les autres pigments pondéralement importants sont le monodesméthoxycurcumine et le bisdesméthoxycurcumine (Heymonet, 2013).

**Flavonoïdes:** Les flavonoïdes sont des pigments végétaux, simples ou glycosylés, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Krief, 2003). Ils sont formés d'un squelette à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), correspondant à la structure du diphenylpropane (Collin et Crouzet, 2011)



**Figure 1.1.** La structure chimique des principaux curcuminoïdes (Jourdan, 2015)



**Figure 1. 2.** Structures de base des flavonoides (Collin et Crouzet, 2011)

### 1.5. Utilisation de *curcuma longa L.*

Le curcuma est utilisé en association avec d'autres plantes ou épices pour des raisons variées (Jourdan, 2015).

- Le principal usage du curcuma est alimentaire en tant qu'épice où il est utilisé sous forme de poudre. C'est un ingrédient largement utilisé dans différentes cuisines dans le monde telles que les cuisines asiatiques et créoles (Lamouche, 2011).

- Dans le domaine agro-alimentaire, différentes herbes et épices ont été développées en tant qu'additifs alimentaires dans les élevages d'animaux (Jourdan, 2015).

- Enfin, de manière ancestrale, il fait partie d'un des principaux médicaments de la médecine Âyurvédique, médecine traditionnelle Indienne, et est utilisé de façon récurrente comme composant de masque traditionnel de beauté à travers le monde. Le principe actif qui confère au curcuma toutes ces propriétés bienfaisantes est la curcumine (Lamouche, 2011).

# **Chapitre 2**

## **Activités biologiques du**

*curcuma longa L.*

## 2.1. Activité antioxydant

Les systèmes antioxydants sont complexes et agissent de concert pour diminuer la charge ROS (espèces réactives de l'oxygène) (Kurutas, 2016). Ça aussi aide à détourner les ROS vers d'autres voies de réaction qui forment des produits moins réactifs, pour inactiver sélectivement (en termes redox) les ions de métaux de transition.

### 2.1.1. Radical libre

Un radical libre est un atome ou une molécule qui contient un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et se comble soit en acceptation d'un autre électron, soit par le transfert de cet électron libre à une autre molécule. Ces espèces radicalaires très instables et très réactives sont continuellement produites dans notre organisme, dans le cadre de nombreux phénomènes biologiques (Marfak, 2003).

**Les espèces réactives de l'oxygène :** Parmi les espèces radicalaires les plus intéressantes se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron. les principales espèces réactives de l'oxygène sont: l'anion radical libre superoxyde ( $O_2^-$ ) le peroxyde d'hydrogène ( $H_2 O_2$ ) et les radicaux peroxydes (R-00), l'oxyde nitrique (NO) et les peroxydinitrites (ONOO ), l'oxygène singlet  $O_2$ , l'acide hypochloreux (HOCl) ou encore le radical hydroxyle (HO) (pascal, 2008 et Kurutas, 2016).

### 2.1.2. Stress oxydant

Le stress oxydatif est défini comme une oxydation intracellulaire excessive due à un déséquilibre entre la production d'espèces oxydantes ou formes réactives de l'oxygène et celle des systèmes antioxydants (Pasquier, 1995).

### 2.1.3. Définition les antioxydants

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible (Halliwell & Gutteridge, 2007) sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire (Halvorsen *et al.*, 2006).

#### Mode d'action

Les organismes aérobies sont protégés contre les ROS par des systèmes enzymatiques

et des scavengers chimiques qui sont capables d'éliminer ces radicaux (Stocker *et al.*, 2004). ainsi que les antioxydants secondaires ou préventifs qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres (Rolland, 2004). Donc, ces antioxydants ont deux origines :

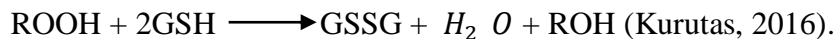
### Antioxydants enzymatiques

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydants qui sont des systèmes de défense très efficaces pour l'élimination des radicaux libres primaires de façon permanente (Tarik, 2014).

- **Superoxyde dismutase (SOD)**: La superoxyde dismutase (EC 1.15.1.1) est l'un des antioxydants enzymatiques intracellulaires les plus puissants et présents dans tous les organismes aérobies et dans tous les compartiments subcellulaires (Marok, 2014) elle catalyse la conversion des anions superoxydes en dioxygène et en peroxyde d'hydrogène: (Stocker *et al.*, 2004):  $O_2^- + O_2^- + 2 H^+ \longrightarrow H_2 O_2 + O_2$

- **Catalase (CAT)**: La Catalase (CAT) La catalase (EC 1.11.1.6) a été la première enzyme antioxydante à être caractérisée et catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène (Kurutas, 2016) La catalase décompose directement le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en eau et en oxygène moléculaire :  $H_2 O \longrightarrow 2H_2 O + O_2$  (Stocker *et al.*, 2004).

- **glutathion peroxydases GPx** : Les glutathion peroxydases catalysent l'oxydation du glutathion en direction d'un hydroperoxyde, qui peut être du peroxyde d'hydrogène ou une autre espèce telle qu'un hydroperoxyde lipidique:



### Antioxydants non enzymatiques

Cette deuxième ligne de défense complémentaire, consiste en un ensemble de composés susceptibles de ralentir considérablement les effets des radicaux libres qui n'ont pas été piégés par les systèmes de défense précédents. Ce sont des molécules exogènes, qu'elles sont apportées par l'alimentation comme par exemple les vitamines, les minéraux et les poly phénols (Tarik, 2014).

## 2.2. Activité antimicrobienne

### 2.2.1. Infections microbiennes

Les microorganismes incriminés dans les infections microbiennes sont rarement des protozoaires, quelques fois des champignons (*Aspergillus*, *Cryptococcus*), des levures (*Candida*) et parfois des virus (hépatites, herpès, grippe). On retrouve très souvent des bactéries ou leurs formes altérées (Belkhiri, 2009).

**2.2.2. Agents antimicrobiens**

Un agent antimicrobien est une substance qui va avoir une action néfaste pour les microorganismes (paillot, 2016); défini par son pouvoir de tuer des populations microbiennes (Belkhiri, 2009). Ces actifs peuvent agir de deux manières différentes, soit ils vont détruire les microorganismes, c'est l'effet bactéricide, soit ils vont empêcher leur croissance, c'est l'effet bactériostatique (paillot, 2016).

**2.2.3. Activité Antibactérienne****Antibiotiques**

Les antibiotiques sont parmi les médicaments les plus souvent utilisés. Ils sont des composés naturels produits principalement par des micro-organismes végétaux. Leur activité biologique marquée et sélective contre les micro-organismes, ainsi que leur faible toxicité, rend possible l'utilisation de certains des antibiotiques pour détruire les microbes in vivo (Paryski, 1967).

**Mode d'action**

La plupart des agents antimicrobiens utilisés pour le traitement des bactéries. les infections peuvent être classées selon leur principale mécanisme d'action. Il existe 4 modes d'action majeurs :

1- interférence avec la synthèse de la paroi cellulaire,

- $\beta$ -lactames: pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes, monobactames
- Glycopeptides: vancomycine, teicoplanine

2- inhibition de la prosynthèse des protéines,

- Se lier à la sous-unité ribosomique 50S : macrolides, chloramphénicol, clindamycine, quinupristine-dalfopristine, linézolide

- Se lier à la sous-unité ribosomique 30S : aminosides, Tétracyclines

- Se lier à l'isoleucyl-ARNt synthétase bactérienne : mupirocine

3- interférence avec la synthèse d'acide nucléique

- Inhiber la synthèse d'ADN : fluoroquinolones

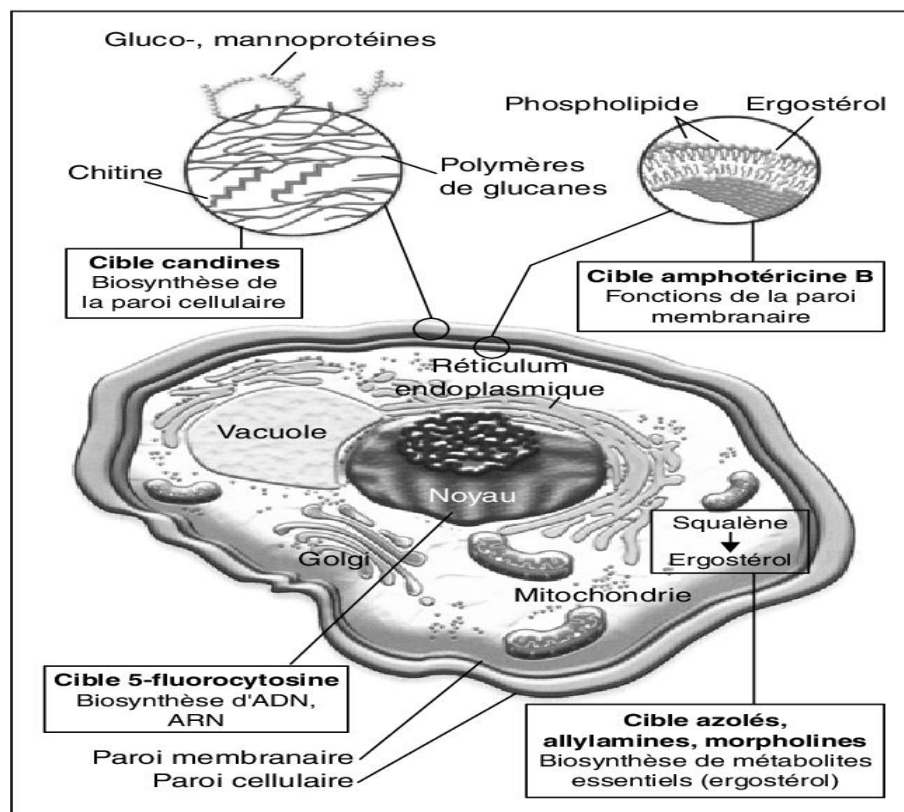
- Inhiber la synthèse d'ARN : rifampine

4- inhibition d'une voie métabolique: sulfamides, acide folique analogues (Fred et Tenover, 2006).

### 2.2.4. Activité Antifongique

Les principaux antifongiques sont : les polyènes (amphotéricine B et amphotéricine B liposomale) ; les triazolés (fluconazole, voriconazole et isavuconazole) ; les échinocandines (caspofungine, micafungine et anidulafungine); la flucytosine. Les mécanismes d'action cellulaire de ces différents antifongiques sont exposés dans la figure 2.1. Ces antifongiques sont fongicides (polyènes, échinocandines) ou fongistatiques (azolés) (Pierre et Dupont, 2018).

#### Mode d'action



**Figure2. 1.** Sites d'action des différentes classes d'antifongiques (Hulin *et al.*, 2005).

### 2.3. Activité Anticoagulant

#### 2.3.1. Coagulation

C'est le processus essentiellement caractérisé par la formation de la fibrine nécessaire à la consolidation du clou plaquettaire. Il s'agit d'une séquence de réaction enzymatique permettant l'activation des facteurs plasmatiques inactifs en protéases actives (Plaziat-Decourcelle, 2009) (Arthus).

#### 2.3.2. Facteurs de la coagulation

La plupart des facteurs de la coagulation sont des protéines synthétisées dans le foie sous forme monocaténaire, excepté le facteur XI qui est bicaténaire. Les facteurs II, VII, IX et



X sont vitamines K dépendants ; ils subissent dans l'hépatocyte une gamma-carboxylation sous l'action d'une carboxylase ayant la vitamine K pour cofacteur (Plaziat-Decourcelle, 2009).

**Tableau 2. 1.** Facteurs de la coagulation (Boutgourine, 2019)

<b>Facteurs de la coagulation</b>			
I	Fibrinogène	IX	Facteur anti hémophilique B
II	Prothrombine	X	Facteur Stuart
III	Thromboplastine tissulaire ou facteur tissulaire	XI	Plasma thromboplastine antécédent (PTA)
IV	Calcium	XII	Facteur Hageman
V	Proaccélélerine	XIII	Facteur stabilisant la fibrine (FSF)
VII	Proconvertine	PK	Prékallikréine
VIII	Facteur antihémophilique A	KHPM	Kininogène de haut poids moléculaire

Cofacteurs : facteurs V et VIII Les facteurs V et VIII sont dépourvus d'activité enzymatique mais accélèrent les réactions entre une enzyme et son substrat, d'où leur nom de cofacteurs (de Revel et Doghmi, 2004).

### 2.3.3. Anticoagulants

Les médicaments intervenants au niveau de la cascade de la coagulation sont appelés « anticoagulants ». Ils agissent à différents niveaux mais empêchent tous la formation du caillot de fibrine (Plaziat-Decourcelle, 2009).

- L'activité anticoagulante des AVK repose sur l'inhibition d'une enzyme du cycle de la vitamine K et ils ont une action anticoagulation indirecte en diminuant la synthèse hépatique des facteurs procoagulation vitamine K dépendant (facteurs II, VII, IX et X). La sous-unité 1 du complexe vitamine K époxyde réductase (VKORC1) (Loriota et Beaune, 2006).
- L'héparine, sous forme d'héparine non fractionnée ou de bas poids moléculaire (HBPM), L'héparine non fractionnée et l'HBPM forment un complexe avec l'antithrombine-III, potentialisant fortement son effet sur l'inactivation de divers facteurs de coagulation (Batty et Smith, 2010).
- Les inhibiteurs directs du facteur Xa, nouvelle classe médicamenteuse, représentée par le rivaroxaban (XAREL TO®) (Plaziat-Decourcelle, 2009).

# **Partie**

# **Expérimentale**

# **Chapitre 3**

## **Matériel et méthodes**

Ce travail s'appuie sur plusieurs articles scientifiques qui se concentrent spécifiquement sur l'étude et l'évaluation de quelques activités biologiques de *curcuma longa L.* selon l'extraction par des différentes méthodes, aussi les dosages des certains composés phénoliques. Enfin, l'évaluation de leur potentiel antioxydant, antimicrobienne et anticoagulant.

### 3.1. Préparation de matière végétal

Les rhizomes de curcuma ont été séchés au four à 105 °C pendant 3 h (Sahne *et al.*, 2016)

Les rhizomes du *Curcuma longa L.* ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre (Boukeria *et al.*, 2019) Les tissus ont été pulvérisés par un homogénéisateur dans un protocole réalisé par (Parveen et Jehan, 2015), cette dernière est récupérée après tamisage et conservée dans des flacons en verre fermés hermétiquement et stockés à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation (Boukeria *et al.*, 2019).

### 3.2. Préparation de l'extrait méthanolique

Une quantité de matière végétal broyé est macérée dans une solution de méthanol/eau sous agitation à une température ambiante pendant un certain temps, le macérât a été ensuite filtré. Le filtrat obtenu est soumis à une évaporation par rotavapeur (Tableau 3.1)

**Tableau 3. 1.** Mode de préparation des extraits de curcuma longa par l'extraction méthanolique

<b>Extraction méthanolique</b>				
	(Okombe et Nzuzi, 2019)	(Boukeria <i>et al.</i> , 2019)	(Mobasher <i>et al.</i> , 2014)	(Bougandoura et Bendimerad, 2013)
Masse	32 g	10g	100 g	2.5
Solvants	200 mL ( un mélange méthanol–eau 80 %)	une solution de méthanol/eau (70: 30, V/V)	500 ml de méthanol	25ml de méthanol
Durée de l'incubation	Les extraits ont été obtenus par macération (24 heures)	agitation mécanique à une température	agité à température ambiante avec un	sous agitation magnétique pendant 30min.

		ambiante pendant 2 à 3 jours,	agitateur électrique pendant une heure	
Type de la filtration	Une filtration sur papier Whatman n°1 du macérât est ensuite réalisée. . Le filtrat est alors évaporé à sec à l'aide d'un rotavapor.	le macérât a été ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre de type Whatman. Le filtrat obtenu est soumis à une évaporation par rotavapeur	L'extrait a été filtré et évaporé en utilisant un évaporateur rotatif à une température inférieure à 40°C.	filtré et le solvant évaporé à sec sous pression réduite à 50°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R- 200)
Evaporation	évaporé à sec à l'aide d'un rotavapor.	évaporation par rotavapeur	évaporé en utilisant un évaporateur rotatif à une température inférieure à 40°C.	évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R- 200)

D'autres solutions d'extraction ont été utilisées par Al-Daihan *et al.* (2013) et Tanvir *et al.*(2017) et Sumreen et Anjum ( 2016) y compris ce qui suit: éthanol ,hexane , Chloroforme ,aqueux , acétate d'éthyle.

**Rendement :** Le rendement de l'extrait obtenu est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait et la masse du matériel végétale traité. Ce rendement est calculé par l'équation suivante (Abudunia, 2018):

$$R (\%) = (Me /Mv) \times 100$$

R (%) : Rendement exprimé en %.

Me : Masse de l'extrait en gramme.

Mv : Masse du matériel végétal en gramme

### 3.3. Extraction de curcumine :

Obtenue par extraction de solvant des rhizomes broyés et purification de l'extrait par cristallisation. Les solvants appropriés comprennent l'acétone le dioxyde de carbone, l'éthanol, l'acétate d'éthyle, l'hexane, le méthanol (Li *et al.*, 2011).

Le L'extraction de Soxhlet, en tant que méthode de référence, a été formé comme suit : 15 g de poudre de curcuma moulu étaient pesé et encastré dans un dé à coudre et mis dans le Appareil Soxhlet qui a été progressivement rempli de l'acétone comme solvant d'extraction. L'extraction l'expérience a été réalisée à 60 °C en 8 h. Sur fin de l'extraction, l'acétone a été séparée à partir de l'extrait à l'évaporateur rotatif (Stuart RE300) sous vide à 35 °C (Sahne *et al.*, 2016).

### 3.4. Extraction des huiles essentielles par méthode hydro distillation :

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydro distillation (Fatiha Amarti *et al.*, 2010). ont été versés 5 dm<sup>3</sup> d'eau distillée dans le corps de l'alambic jusqu'à ce que le niveau d'eau soit presque atteint en dessous de la base de la grille et un cône perforé a été placé dessus ont été placés 600 g de l'échantillon coupé sur le cône perforé de l'alambic. Il a été chauffé à l'aide d'une plaque chauffante. Après chauffage pendant deux heures, la vapeur qui contient l'huile essentielle est passée dans un condenseur pour condenser la vapeur, qui forme un liquide et est recueillie dans la bouteille en verre. L'huile de curcuma et l'eau ont été séparées en utilisant une ampoule à décanter L'huile essentielle a été stockée à 4 °C dans l'obscurité en présence de sulfate de sodium anhydre (Khaing *et al.*, 2020).

**Rendement des huiles essentielles (Rmt)** est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse végétale sèche traitée.

$$\mathbf{Rmt} = P1 * 100 / P0$$

**Rmt:** rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage (% p/p).

**P1:** poids en (g) d'HE.

**P0:** poids en (g) de la matière végétale sèche traitée (Hanane, 2020).

### 3.5. Dosage des flavonoïdes totaux :

Le dosage est effectué selon les méthodes de Gouegoui Bohui *et al.* (2018) . Estimation de la teneur en flavonoïdes totaux ont été mesurés par un dosage colorimétrique au chlorure d'aluminium. Dans une fiole de 25 ml, 0,75 ml de nitrite de sodium (NaNO<sub>2</sub>) à 5% (m/v) a été ajouté à 2,5 ml d'extrait. Le mélange a été additionné de 0,75 ml de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 10% (m/v), puis incubé pendant 6 minutes à l'obscurité. Après 5 min de l'incubation, 5 ml de soude (NaOH, 1N) ont été ajoutés puis le volume a été complété à 25 ml. Le mélange a été agité vigoureusement avant d'être dosé au spectrophotomètre Jasco V-530 (JASCO, Japon). La lecture a été faite à 510 nm. Les essais ont été réalisés en triple. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme par litre d'extrait équivalent quercétine (mg EQ /ml).

D'autres études réalisées par Ksouri *et al.* (2009) et Marinova *et al.* (2005) ont utilisé la même méthode.

### 3.6. Dosage des poly phénol totaux :

La teneur en poly phénol totaux des extraits a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu (Bougandoura et Bendimerad, 2013). Elle est basée sur la réduction de l'acide phosphomolybdique et tungstique en milieu alcalin, en présence de poly phénols pour donner une coloration bleue dont l'intensité est mesurée à 670 nm.

#### Mode opératoire :

Selon la méthode citée par Boukeria *et al.* (2019), un volume de 500 µl de l'extrait à différentes concentrations (extrait diluée ½ et l'extrait brut) est ajouté à 2,5ml de réactif de Folin-Ciocalteu (1/10) (1ml de réactif de Folin-Ciocalteu et 9ml d'eau distillé). Après 15min, on ajoute 2ml de NaCO<sub>3</sub> (7,5%) ; puis on agite le mélange. Après une incubation à une température ambiante pendant 2 heures l'absorbance est mesurée à 760nm contre un blanc qui constitué de réactif Folin-Ciocalteu et NaCO<sub>3</sub> (7,5%).

D'autre part, le protocole expérimental utilisé par Ksouri *et al.* (2009), une aliquote de 125 µl d'extrait dilué a été ajoutée à 500 µl d'eau distillée et 125 µl de réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange a été secoué, avant d'ajouter 1250 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7%), ajusté avec de l'eau distillée à un volume final de 3 ml, et mélangé soigneusement. Après incubation pendant 90 min à 23 °C dans l'obscurité, l'absorbance par rapport au blanc préparé a été lue à 760 nm.

Et pour l'étude Bougandoura et Bendimerad, 2013 la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par 1g du poids sec de la plante en poudre (Boukeria *et al.*, 2019).

### **3.7. Activité biologique**

#### **3.7.1. Activité antioxydant**

L'activité antioxydant a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode de Brand-Williams et al (Samba *et al.*, 2015). Ce teste a été réalisé avec la méthode au DPPH (Bougandoura et Bendimerad, 2013); utilisant le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) comme radical libre (Samba *et al.*, 2015), est un radical libre stable soluble dans le méthanol (ou éthanol). D'une couleur violette intense, il présente un maximum d'absorbance à 517 nm. Lorsqu'une molécule antioxydant réduit le radical DPPH, la couleur violette disparaît rapidement pour donner une couleur jaune pâle.

##### **3.7.1.1. Mode opératoire**

###### **Préparation de la solution de DPPH**

Dans 100 ml de méthanol analytique 99,8% ont été dissous 25 mg de la poudre de DPPH. La solution obtenue a été conservée à l'abri de la lumière. A partir de cette solution mère, une gamme d'étalonnage a été préparée, à des concentrations comprises entre 12,5 et 50 µg/ml, puis la lecture de l'absorbance effectuée à 505 nm contre un blanc méthanol. La solution de DPPH sélectionnée avait une valeur d'absorbance de 0,456 (Dieng *et al.*, 2015).

###### **Préparation des solutions à tester et celle de la référence**

De l'extrait sec (500 mg) et de l'acide ascorbique (250 mg), ont été dissous séparément dans 20 ml d'un mélange éthanol/eau (70/30, v/v). Ainsi, des solutions à tester aux concentrations comprises entre 500 et 2500 µg/ml ont été préparées, et pour la référence nous avons des solutions à des concentrations allant de 4 à 20 µg/ml (Dieng *et al.*, 2015).

Selon la méthode de Dieng et al. (2015) 3,9 ml de solution de DPPH ont été prélevés et 0,1 ml de solution d'essai ont été ajoutés. Ce mélange réactionnel a été agité vigoureusement pendant 10 s pendant Transférer ensuite dans un tube à essai de 4 ml. Les lectures d'absorbance ont été prises à 505 nm par rapport au blanc de méthanol à intervalles de temps réguliers. La concentration correspondant à une baisse de 50% de l'absorption de la



solution de DPPH choisie A été choisi. La valeur obtenue à partir de la solution à tester est comparée à la valeur de référence.

D'autre étude réalisée par Bougandoura et Bendimerad (2013) 50µl de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations (de 0,0125 à 5mg/ml) sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50µl de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration le test est répété 3fois.

Le protocole expérimental utilisé par Ksouri *et al.* (2009) Un millilitre de l'extrait à des concentrations connues a été ajouté à 0,25 ml d'une solution méthanolique de DPPH. Le mélange a été agité vigoureusement et laissé au repos à température ambiante pendant 30 minutes dans l'obscurité.

### 3.7.1.2. Expression des résultats :

#### Calcul des pourcentages d'inhibition :

Les résultats sont exprimés en activité anti radicalaire ou inhibition des radicaux libres en pourcentage (% I) selon la formule suivante :

$$I\% = [1 - (\text{Échantillon Abs} - \text{Abs contrôle négatif})] \times 100$$

Où : I% : pourcentage d'activité anti-radicalaire (AAR%)

Échantillon Abs : Absorbance de l'échantillon

Contrôle négatif abs : Absorbance du contrôle négatif (Samba *et al.*, 2015).

#### Calcul des concentrations efficaces «IC50 »

IC50 peut être définie comme étant la quantité de produits nécessaire pour faire diminuer la coloration de réactif (DPPH) de moitié 50% (Dieng *et al.*, 2015). Une valeur IC50 inférieure correspond à une activité antioxydant plus élevée de l'extrait de plante. La capacité de piéger le radical DPPH a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Effet de balayage DPPH (\%)} = [(A_0 - A_1)/A_0]$$

Où A0 est l'absorbance du contrôle à 30 min, et A1 est l'absorbance de l'échantillon à 30 min. Tous les échantillons ont été analysés en triple (Ksouri *et al.*, 2009).

### 3.7.2. Activité antimicrobienne

#### 3.7.2.1. Micro-organismes

Différents micro-organismes testés pour les activités étaient (Parveen et Jehan, 2015) *E. feacalis* ATCC 11700 *S. pyogenes* *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922, *C. albicans* ATCC 10231 (Çikrikçi *et al.*, 2008).

#### 3.7.2.2. Préparation de suspension

Des colonies bien isolées ont été transférées (Athamena *et al.*, 2010) à l'aide d'une anse stérile dans les tubes contenant de l'eau distillée stérile afin d'avoir des suspensions microbiennes ayant une turbidité voisine à celle de McFarland 0.5 (106 UFC/ml) ce qui correspond à  $1-2 \times 10^8$  UFC/ml pour les bactéries (D.O = 0,08 à 0,1/ $\lambda$  = 625 nm),  $1-5 \times 10^6$  UFC/ml pour *C. albicans* (D.O = 0,12 à 0,15 /  $\lambda$  = 530 nm) (Haddouchi *et al.*, 2016).

#### 3.7.2.3. Tests antimicrobiennes

Deux méthodes différentes ont été utilisées pour la détermination de l'activité antimicrobienne, *in vitro*: une méthode de diffusion en disque dans un milieu gélosé et les méthodes de dilution (méthode de micro-dilution en bouillon pour les bactéries et *C. albicans*, la méthode de dilution en milieu gélosé pour les champignons) (Haddouchi *et al.*, 2016).

##### 3.7.2.3.1. Méthode de diffusion des disques

L'activité antibactérienne a été testée par la méthode de diffusion sur disque. Pour toutes les souches bactériennes. Des disques de papier filtre stérile (5 mm de diamètre) imprégnés de 100 ul de différents extraits d'essai (40 mg/disque). Ces disques ont été placés à l'aide de pinces stériles, de manière aseptique, sur des plaques de gélose nutritive cultivées avec des micro-organismes pour les tests. La kanamycine (30 lg/disque) a été utilisée comme contrôle positif. Les plaques ont ensuite été incubées à 37 C pendant 24 h pour les bactéries, après quoi la croissance microbienne a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (mm) à l'aide d'une échelle transparente. Chaque extrait a été analysé en triple, les valeurs moyennes sont présentées. Un disque de kanamycine (30 lg/disque) a été utilisé pour comparer le bioessai (Al-Daihan *et al.*, 2013).

D'autre étude réalisée par Athamena *et al.* (2010), les disques stériles imprégnés de concentrations croissantes d'extraits repris avec le Dimethyl sulfoxyde (DMSO) à raison de 10 µl par disque, ont été déposés stérilement sur la surface de la gélose. Les boîtes ont été incubées 24 h à 37 °C en atmosphère normale pour les bactéries non exigeantes, et dans une atmosphère contenant 5% de CO<sub>2</sub> pour les bactéries exigeantes. Les levures ont été incubées pendant 48 h à 37 °C, tandis que le champignon a été incubé 10 jours à 27 °C en atmosphère normale.

Par contre, le protocole expérimental utilisé par Haddouchi *et al.* (2016), les milieux Mueller-Hinton et Sabouraud gélosés, stériles et refroidis jusqu'à 45-50 °C ont été distribués dans des boîtes de Pétri stériles. Les disques ont été individuellement imprégnés avec 5 µl de l'extrait (500 µg/disque) et ensuite placés sur la surface des milieux gélosés déjà inoculés avec les microorganismes testés. Les boîtes de Pétri ont été conservés à 4 °C pendant 2 h et ont été ensuite incubées en même condition.

L'activité antimicrobienne a été déterminée à l'aide d'une règle mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (Athamena *et al.*, 2010). Les diamètres des zones d'inhibition (mm) ont été mesurés, y compris le diamètre des disques (Haddouchi *et al.*, 2016).

#### 3.7.2.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Pour les bactéries et *C. albicans*, la méthode de micro-dilution en bouillon a été utilisée pour déterminer la CMI (Haddouchi *et al.*, 2016). Les composés ont été dissous dans 10 ml d'éthanol et les solutions ont été transférées dans 5 ml de Mueller Hinton Broth pour donner une concentration finale de 200-25 µg/ml dans des tubes à essai. (Çıkrıkçı *et al.*, 2008). Par contre ont été dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) à 1 % par Haddouchi *et al.* (2016).

Des dilutions en série ont été préparées dans une microplaque de microtitration de 96 puits dans la gamme de concentrations choisie. Les souches, dont la concentration finale a été ajusté à 100 µl de 10<sup>6</sup> unités formant colonie (cfu/mL) par Çıkrıkçı *et al.* (2008) et 5 × 10<sup>5</sup> UFC/ml pour les bactéries et à 2,5 × 10<sup>6</sup> UFC/ml pour *C. albicans*, par Haddouchi *et al.*, (2016) sont ajoutées dans chaque puits. Les bactéries et *C. albicans* ont été respectivement incubées, à 37 °C et à 30 °C, pendant 24 h.

La CMI est définie comme la plus faible concentration de l'extrait à laquelle le micro-organisme ne montre pas une croissance visible. La croissance des microorganismes a été

indiquée par la turbidité. La gentamicine a été utilisée comme composé de référence (Haddouchi *et al.*, 2016).

### 3.7.3. Etude de l'activité anticoagulante

L'activité anticoagulante des deux extraits des rhizomes de *curcuma longa* a été évalué *in vitro* vis-à-vis des deux voies de la coagulation (la voie endogène et la voie exogène) et ceci sur un pool des plasmas normaux déplaquetés et à l'aide de deux tests chronométriques globaux, le temps de Quick (TQ) ou nommé également Taux de Prothrombine (TP), et le temps de Céphaline Kaolin (TCK) (Boukeria *et al.*, 2019).

#### 3.7.3.1. Préparation du pool plasmatique (standard) déplaquetés

Le pool plasmatique déplaquetés est un mélange de plasmas déplaquetés des volontaires sains adultes non traités, âgés de 25 à 30 ans, dont les TQ et TCK sont normaux et comparables. Le sang de chaque volontaire est prélevé par ponction veineuse dans un tube en plastique sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3,1% et à raison de 1 volume pour 9 volumes du sang. Le sang est ensuite centrifugé pendant 10 minutes à 3000 rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes (Bourahima *et al.*, 2021).

#### 3.7.3.2. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène

##### 3.7.3.2.1. Principe

L'activité anticoagulante contre la voie de coagulation exogène a été évaluée à l'aide d'un test de coagulation appelé temps de prothrombine (TP) ou taux de prothrombine (TP), qui permet une exploration globale des facteurs de la voie de coagulation exogène. Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37C° d'un plasma pauvre en plaquettes en présence d'un mélange de facteur tissulaire, de phospholipides (thromboplastine) et de calcium (Bourahima *et al.*, 2021).

Les facteurs de la voie exogène sont donc activés et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot mesuré (Boukeria *et al.*, 2019).

##### 3.7.3.2.2. Mode opératoire

L'effet des extraits sur la voie exogène de la coagulation a été évalué selon le protocole décrit par Boukeria *et al.* (2019), 100 µl de plasma pauvre en plaquettes préchauffé durant 2 min à 37C° est mélangé avec différents volumes des extraits et de certains de leurs composés

(10, 20, 30  $\mu$ l), préparées à une concentration donnée. Et Après 15 min d'incubation à 37°C, 200  $\mu$ l de thromboplastine calcique (préchauffée au moins 15 minutes à 37°C) est additionné au mélange et le temps de la coagulation est alors enregistré à l'aide d'un coagulomètre. Et même protocole expérimental utilisé par Gueboudji *et al.*(2021) mais il y a une différence dans les volumes des extraits phénoliques (10et 90  $\mu$ l).

### **3.7.3.3. Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène**

#### **3.7.3.3.1. Principe**

L'évaluation de l'activité anticoagulante des extraits vis-à-vis de la voie endogène de la coagulation a été réalisée en utilisant le test du temps de céphaline-Kaolin (TCK), un test qui permet d'explorer l'activité des facteurs plasmatiques de la voie endogène (intrinsèque) de la coagulation (Caen *et al.*, 1975). Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37 °C d'un plasma déplaquetés et citraté mis en présence de phospholipides (la céphaline) (Bourahima *et al.*, 2021) substitut du facteur 3 plaquettaire (F3P) d'un activateur du système contact (Prékalikriène, Kininogène de haut poids moléculaire et le facteur XII) qui est généralement le Kaolin et de calcium comme un facteur déclenchant (Caquet, 2004).

#### **3.7.3.3.2. Mode opératoire**

L'activité des extraits et de certains de leurs composés est établie sur 100  $\mu$ l de ce plasma qui est mélangé avec différents volumes de ces solutions (10, 20, 30  $\mu$ l) préparées à une concentration donnée. Après 15 min. d'incubation à 37°C, 100  $\mu$ l de céphaline-kaolin est additionné au mélange qui est réincubé durant exactement 3 min sous agitation à 37°C. Le temps de coagulation est alors déterminé à l'aide d'un coagulomètre par ajout de 100  $\mu$ l de chlorure de calcium (0,025M) préchauffé (Boukeria *et al.*, 2019). D'autre étude réalisée par Bourahima *et al.* (2021) utilisait la même méthode mais utilisait des extraits préparés dans du DMSO (25 mg/ml) et ajoutés à 90 litres de plasma pauvre en plaquettes puis incubés à 37°C pendant 15 minutes.

# **Chapitre 4**

## **Résultats et discussion**

#### 4.1. Résultat du rendement

##### 4.1.1. Rendement des extraits organiques

D'après les études traitant sur *Curcuma longa L.* (Boukeria *et al.*, 2019), ont trouvés des rendements de 3,12 et 2,99 % pour les deux extraits méthanolique et aqueux, respectivement.

Selon Gayatri et Rajani (2011), qui a fait l'extraction en appliquant différents solvants (eau, méthanol et éthanol). Où les quantités d'extraits étaient de 1,90 g, 2,45 g et 3,35 g, respectivement.

Alors que Panpatil *et al.* (2013) a utilise un solvant mixte (250ml d'eau+250 ml de l'éthanol) avec un rendement de 8 %.

L'étude de Kim *et al.* (2011) sur *Curcuma Longa L.* cultivé en Corée, les résultats en solution (d'eau) étaient légèrement supérieurs (12,34 %) par rapport aux résultats dans d'autres solvants (Ether : 3.43 ; Ethanol : 2.01.....)

Cette différence s'explique d'une part par la méthode de filtration utilisée, et d'autre part par certains facteurs peuvent influencer la variation du rendement de l'extraction, notamment l'espèce végétale (variété), l'organe utilisé, les conditions de séchage de la plante, le contenu en métabolites et la nature du solvant utilisé et la durée et les conditions de stockage de la poudre végétale (Telli *et al.* 2010 et Okombe et Nzuzi 2019).

##### 4.1.2. Rendement de la curcumine

Le rendement total en curcumine et oléorésine extraites a été déterminé par analyse HPLC qui était de 6,9 et 8,29 %, respectivement (Sahne *et al.*, 2016). D'autre étude réalisée par Kiamahalleh *et al.* (2016) qu'il utilise la même analyse pour déterminer les quantités exactes (% en poids) de curcumine. Mais à des températures différentes, où le % en poids de curcumine extraite a atteint un maximum de 1,2 %.

Sahne *et al.*( 2017), utilisent le solvant (DPCARB) avec des valeurs différentes, pour extrait une grande quantité de 1 g de la curcumine, Les résultats obtenus indiquent qu'à 30 g/g de rapport solvant/solide, le rendement en extrait de curcumine atteint 3,48 %. Et de là nous concluons que l'augmentation du rapport solvant/solide a conduit à une amélioration du rendement d'extraction de la curcumine qui pourrait s'expliquer par l'augmentation de la capacité d'extraction de la solution.

On rapporte que la teneur en curcumine varie d'une espèce à l'autre. Dans l'étude par Gayatri et Rajani (2011) nous avons trouvé que la teneur en curcumine de *C. longa* L. est très élevée (8,22 mg/100 mg) par rapport à *C. aromatica* qui est de 6,07 (mg/100 mg). Plusieurs études ont montré que les facteurs du sol, y compris les nutriments et le niveau d'acidité ainsi que la diversité des genres peuvent affecter la teneur en curcumine dans les plantes (Gayatri et Rajani, 2011).

D'autres résultats sont obtenus dans une étude de la variation des constituants actifs des rhizomes de *C. domestica* collectés à Nakhon Pathom, dans le centre de la Thaïlande, où ils ont trouvé que la teneur en curcumine la plus élevée était de 10,12 % p/p. Aussi, un échantillon du Sud contenait la curcumine totale la plus élevée (8,99±0,83 % w/w), tandis que la plus faible était trouvée dans le Nord (4,80 ± 1,83 % w/w) où le climat est plus frais et la période sèche plus long et plus prononcé.

La différence de rendement en curcumine peut être due à quelque facteurs: la température, le temps d'extraction et le volume de solvant (Sahne *et al.*, 2016 et Kiamahalleh *et al.*, 2016).

#### 4.1.3. Rendement de l'huile essentielle

L'huile de rhizomes séchés de *Curcuma longa* Linn (curcuma) a été extraite par la méthode de distillation à la vapeur. Le pourcentage moyen de la teneur en huile de curcuma était de 0,184 % (Khaing *et al.*, 2020)

L'étude était menée à Ayos (Cameroun) par Nkouandou *et al.* (2020) : Les rendements d'extraction des huiles essentielles des feuilles de *C. longa* (0,97%) et la même valeur a été trouvée lors de son extraction des rhizomes de curcuma, estimée à environ 0,96 % (Tefiani, 2015).

Singh *et al.* (2010), ont obtenu un rendement de 2.9% (P/P) pour les rhizomes secs et de 1.4% pour les rhizomes frais.

Dans une étude de Naz *et al.* (2010) de trois variétés de *curcuma Longa* (Kasur, Faisalabad et Bano) obtenues auprès de l'Institut de recherche agricole Ayub Faisalabad, Pakistan. Le rendement en pourcentage des extraits de l'huile essentielle des cultivars de *C. longa* était de : Kasur (0,477%), Faisalabad (0,431%) et Banu (0,695%) respectivement.

Ces observations indiquent que les différences de teneurs en huiles essentielles de curcuma sont dues à plusieurs facteurs comme : la méthode d'extraction, des conditions



climatiques, de la situation géographique du site de récolte, espèce et/ou type de plante et même de la période de récolte et de l'état physiopathologique de la plante au moment de la récolte (Nkouandou *et al.*, 2020).

D'autre part, la méthode utilisée pour sécher les racines de curcuma a des effets importants sur la qualité et la quantité des huiles essentielles (Tefiani, 2015).

#### 4.2. Dosage des poly phénols totaux

Les résultats de dosage des phénols totaux obtenus sont exprimés en  $\mu\text{g}$  équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait de *Curcuma longa L.* en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (Boukeria *et al.*, 2019).

D'après les résultats de Sumreen et Anjum (2016) on a remarqué qu'il y a une petite différence de la teneur des poly phénols entre les deux extraits du *Curcuma longa L.* (Méthanol 60.635 (mg EAG/g) Ethanol 61.669 (mg EAG/g). Le même résultat trouvé par (Boukeria *et al.*, 2019), qui a montré que le *C. longa* possède un contenu en poly phénols de l'extrait méthanolique et ça fait environ 58.9(mg EAG/g) par rapport à l'extrait aqueux qui a donné de faibles teneurs en poly phénols (7,3 mg EAG/g).

Etude de Trinidad *et al.* (2012) ont également obtenu une teneur inférieure que notre résultat (1.74 mg EAG/g) à partir d'une poudre du *Curcuma longa L.*

#### 4.3. Dosage des flavonoïdes :

La teneur en flavonoïdes est déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium pour chaque extrait sont exprimé en mg équivalent de quercétine par g d'extrait de plante (mg quer /gES).

A partir des résultats obtenus Latreche et Temame (2020), la quantité des flavonoïdes la plus élevée est obtenue dans l'extrait méthanolique (473.63mg eq qr /g d'E.S), alors que la faible quantité est celle obtenue par l'extraction à éthanol (71,78 63mg eq qr /g d'E.S).

D'après les résultats de Sumreen et Anjum (2016) où ils ont montré que l'extrait méthanolique contient un pourcentage plus élevé de flavonoïdes que les autres en termes de : méthanol > éthanol > hexane > Chloroforme > aqueux > acétate d'éthyle. Il a également été noté que dans certains cas, les extraits de curcuma présentaient des différences significatives ( $p < 0,05$ ) dans la teneur en flavonoïdes par rapport aux autres.

L'étude réalisé par Trinidad *et al.* (2012) sur la même espèce originaire de philippines, des résultats sont plus faible aux résultats de l'étude précédente qui ont estimé un taux de 1.25 mg EQ/g de matière sèche de *Curcuma longa L.*, tandis que Tanvir *et al.* (2017), qui ont étudié les extraits aqueux et éthanoliques de différentes variétés de *curcuma longa L.* des province de Khulna et Chittagong au Bangladesh où ils ont rapporté la présence de 0.43 (mg/g) en extrait aqueux et 4.28 (mg/g) en extrait éthanolique de la variété Mura et presque les mêmes résultats pour les autres variétés.

La différence de la teneur en polyphénols et les flavonoïdes peut être s'expliquer par un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique: les variétés et l'origine d'espèces) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage sécheresse, salinité), le contenu en métabolites et la nature du solvant utilisé (Okombe et Nzuzi, 2019, Marfak, 2003 et Boukeria *et al.*, 2019).

#### 4.4. Activités biologiques

##### 4.4.1. Résultats de l'activité antioxydant

###### Test de piégeage du radical libre DPPH:

Le DPPH est un radical libre et accepte un électron ou un radical hydrogène pour devenir une molécule diamagnétique stable (Ksouri *et al.*, 2009).

Du radical DPPH a été évalué à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires (Bougandoura et Bendimerad, 2013). Plus la CI50 est faible, plus l'activité antioxydant du composé est élevée.

Selon Tanvir *et al.* (2017) où ils ont étudié l'activité antioxydant *in vitro* de *C. longa L.* à partir de variétés de curcuma différentes (Mura et Chora) ont été recueillies dans la district de Khulna au Bangladesh via l'analyse du test de piégeage des radicaux DPPH et du pouvoir antioxydant réducteur ferrique. Parmi ces variétés, l'extrait éthanolique de la variété *C. longa* de mura de Khulna a présenté la plus forte activité de piégeage des radicaux DPPH avec la valeur IC50 la plus faible de 1,08 µg/ml.

Les différentes fractions d'extrait méthanolique de *C. longa L.* ont été étudiées comme antioxydant *in vitro*. La fraction d'acétate d'éthyle (EtOAc) a montré le DPPH IC50 le plus

élevé de 9,86 mg/ml. La fraction EtOAc a également révélé les valeurs de piégeage des radicaux ABTS et de FRAP les plus élevées. Ces activités étaient dépendantes de la concentration et fortement corrélées avec les contenus phénoliques présents dans cette fraction (Rohman *et al.*, 2020).

Selon les valeurs IC50 dérivées, les extraits éthanoliques présentaient des activités de piégeage plus élevées que les extraits aqueux correspondants, indiquant l'influence du solvant sur la mesure des propriétés antioxydants. 16.55 µg/ml (les extraits aqueux) et 1.19µg/ml (les extraits éthanoliques) de la variété chora (Tanvir *et al.*, 2017).

Gayatri et Rajani (2011) Ont comparé l'activité DPPH d'extrait éthanolique de *C. longa L.* et *C. aromatica*. Les résultats de l'activité DPPH d'une gamme de concentration (20µg/ml-200µg/ml) indiquent que l'extrait à l'éthanol de *C. longa* était le piègeur de radicaux le plus puissant  $74,61 \pm 0,02\%$  par rapport à tous les extraits au solvant de *C. aromatica*.

Il a été rapporté que l'extrait au méthanol de *Curcuma longa L.* présentait une activité de piégeage contre les radicaux DPPH et que ses extraits à l'éthanol et à l'eau présentaient une activité antioxydant. Cependant, il existe peu d'études sur les effets antioxydants de diverses fractions de ses extraits (Choi, 2009).

L'activité antioxydant du *Curcuma longa L.* varie d'une façon remarquable en changeant les solvants utilisés pour préparer les extraits. L'analyse de résultats permet de mettre en évidence une corrélation positive entre la teneur d'extraits en poly phénols totaux et activités antioxydants. Pour l'extrait méthanolique, une teneur importante en polyphénols est probablement responsable de leurs pouvoir antioxydants modérés, en raison de leur capacité de réduire et décolorer le DPPH.

Plusieurs études ont montré que les facteurs du sol, y compris les nutriments et le niveau d'acidité ainsi que la diversité des genres, peuvent affecter la teneur en curcumine des plantes (Gayatri et Rajani, 2011).

De nombreuses études ont indiqué que les herbes et les épices présentait des activités antioxydants importantes en grande partie présentent un grand nombre de composés phénoliques. Ce résultat est en accord avec les études précédentes selon lesquelles une relation très positive existait entre les teneurs totales en phénol et l'antioxydant dans de nombreuses plantes (Choi, 2009). Le curcuma contient de nombreux composés phénoliques,

dont le plus important est la curcumine. Il a été démontré que la curcumine est un puissant piègeur de radicaux libres d'oxygène. Son activité antioxydant est comparable aux vitamines C et E. Il peut protéger les lipides ou l'hémoglobine de l'oxydation. En plus, il peut inhiber de manière significative la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Nasri *et al.*, 2014). La curcumine est capable de piéger les radicaux libres d'oxygène tels que les anions superoxydes et les radicaux hydroxyle qui sont importants pour l'initiation de la peroxydation lipidique (Araújo et Leon, 2001). Le curcuma contient également des flavonoïdes ayant un effet antioxydants contre radicaux libre, cette activité a été donner de l'hydrogène. En effet les groupes phénoliques des flavonoïdes servent de source d'atomes "H" facilement disponibles de sorte que les radicaux subséquents produits peuvent être délocalisés sur la structure flavonoïde (Sandhar *et al.*, 2011).

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

##### 4.4.2.1. Méthode de diffusion des disques

L'activité antimicrobienne des extraits du *Curcuma longa L.* contre différents micro-organismes sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

**Tableau4. 1.** Activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique et aqueuse du *curcuma longa L.* contre différents micro-organismes (Al-Daihan *et al.*, 2013).

Micro-organisme	Zone d'inhibition		
	méthanol	Aqueuse	Kanamycin (30µg/dis)
<i>S. pyogenes</i>	19± 0.20	11± 0.80	28 ± 0.57
<i>S. aureus</i>	15± 0.10	11 ±0.80	26.5± 0.33
<i>E. coli</i>	12 ± 0.65	11± 0.55	20 ±0.33
<i>P. aeruginosa</i>	12± 0.30	14 ±0.55	25 ± 0.10

**Tableau4. 2.** Diamètre des zones d'inhibition de la croissance (mm) créent les extraits de plantes selon le test de diffusion sur disque (Şinasi et Deveboynu, 2018).

Extrait de plante (6,24 mg/disc)	Zone d'inhibition (mm)				
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeuroginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>
<i>Curcuma longa L.</i>	R	R	R	8± 0.47	R

<b>Gentamycine (10 µg/dis)</b>	18± 1.69	19± 0.47	17± 0.81	20 ±1.24	17 ±1.63
------------------------------------	----------	----------	----------	----------	----------

**Tableau4. 3.** Activité antimicrobienne (zone d'inhibition, mm) d'extrait de curcuma contre les agents pathogènes (Ikpeama *et al.*, 2014)

Microorganismes (1mg/ml)	Extrait de curcuma (mm)	Ampicilline (mm)
<i>Bacillus subtilis</i>	14.00 ± 0.70	21.00±0.90
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15.00 ± 0.80	15.00± 0.80
<i>Staphylococcus aureus</i>	7.00 ± 1.41	18.00± 0.70
<i>E.coli</i>	9.00±0.14	24.00± 0.28
<i>Streptococcus faecalis</i>	12.00 ±0.14	26.00± 0.70

D'après les résultats des tableaux, nous avons observées une activité antimicrobienne variable vis-à-vis les souches testées, à partir de ces résultats on note que :

Selon Al-Daihan *et al.* (2013) une forte activité pour les disques témoins positif, dont la Kanamycin donne une zone d'inhibition contre les souches testées entre [20 mm- 28 mm].

Selon la taille du diamètre de la zone d'inhibition, toutes les bactéries sont sensibles à l'extrait méthanolique et aqueuse de *Curcuma longa L.*, mais l'extrait de méthanol est plus efficace et les mêmes résultats obtenus par (Ikpeama *et al.*, 2014) qui ont utilisé l'ampicilline comme témoin positive. Par contre l'étude réalisée par Şinasi et Deveboynu (2018) a montré que l'extrait de *Curcuma longa L.* n'a une activité antibactérienne que sur les bactéries *S. aureus*. BLSE *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et *E. faecalis*, ces derniers se sont avérés résistants à la dose appliquée au disque (6,24 mg/disque).

Les études de Khaing *et al.* (2020) ont déterminé les activités antimicrobiennes de l'huile du curcuma, de la curcumine et de l'extrait à l'éthanol *in vitro* par la méthode de diffusion dans les puits d'agar où ils ont trouvés que la curcumine a inhibé quatre microorganismes, à savoir *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus pumilus* et *Candida albicans*, tandis que l'extrait d'éthanol n'a entravé que *Bacillus pumilus* dans la plage de 15 mm à 19 mm. L'huile de curcuma a peu de pouvoir pour empêcher tous les microorganismes.

#### 4.4.2.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Après l'analyse de quelques articles, les résultats de la concentration minimale inhibitrice des extraits de *Curcuma longa L.* sur quelques microorganismes sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 4. 4. Activités antibactériennes et antifongiques par méthode CMI ( $\mu\text{g/ml}$ )

Échantillons	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. auroginosa</i>	<i>C. albicans</i>	Référence
Curcuma 1	NA	256	512	NA	512	(Çıkrikçı <i>et al.</i> , 2008)
Curcuma 2	NA	256	512	NA	512	
Curcuma 3	NA	128	512	NA	512	
Curcuma 4	NA	128	1024	NA	512	
Curcumine	NA	128	1024	NA	512	
Gentamicine	4.0	0.48	3.2	1.0	-	
Fluconazole	-	-	-	-	18	
<i>C. longa</i>	78	4.87	78	19.5	/	(Şinasi et Deveboynu, 2018)
Gentamicine (40 $\mu\text{g/ml}$ )	0.0025	0.005	0.005	0.005	/	

D'après les résultats du tableau 4.4, Çıkrikçı *et al.* (2008) ont déterminé l'activité antibactérienne et antifongique pour les extraits de curcuma et la curcumine pure. Aucuns des extraits et de la curcumine n'a montré une activité contre les bactéries à Gram négatif, *E. coli* et *P. auroginosa*. Alors qu'il est apparu sur *S. aureus* et *E. faecalis* dont la valeur varie entre (128-1024  $\mu\text{g/ml}$ ). L'extrait de curcuma 4 et le curcumine ont la valeur la plus élevée de CMI sur *E. faecalis* (1024  $\mu\text{g/ml}$ ) et pour *C. albicans* (512  $\mu\text{g/ml}$ ). Ce qu'il est constant pour tous les extraits. Concernant l'extrait aqueux du *C. longa* de l'étude antibactérienne sur extrait de rhizome de *C. longa* contre les bactéries (*E. coli*, *S. aureus*), il a montré la valeur de la CMI de 4 à 6 g/L (Niamsa et Sittiwet, 2009).

Şinasi et Deveboynu (2018), ont déterminé que la valeur MIC d'extrait de plante de *C. longa* était de 4,87 - 78 mg/ml. L'extrait de plante de *C. longa L.* a eu la plus faible valeur de CMI sur le SARM et s'est avérée être la plus élevée Valeur CMI sur *E. coli*, *K. pneumoniae* et *E. faecalis*.

Selon Murugesh *et al.*, 2019, l'activité antifongique de l'extrait éthanolique de curcuma a été testée pour *C. albicans* en utilisant la méthode de dilution en gélose. L'évaluation des plaques a montré qu'il n'y a aucun effet antifongique à faible concentration et il y a un effet de la concentration élevée a l'extrait alcoolique de curcuma. Dans une autre étude de Ungphaiboon *et al.* (2005), l'extrait au méthanol de curcuma a révélé des valeurs de CMI de 128 et 256 $\mu\text{g/ml}$  contre *Cryptococcus neoformans* and *Candida albicans* respectivement.

Dans une étude menée par Lawhavinit *et al.* (2010), l'efficacité des extraits d'éthanol, d'hexane et de curcuminoïdes a été évaluée pour leur effet inhibiteur sur les bactéries

pathogènes isolées de crevettes et de poulet. La minimum concentration inhibitrice de l'extrait éthanolique de curcuma, de curcuminoïdes et d'extrait de curcuma avec de l'hexane se situaient entre 3,91-125, 3,91-500 et 125-1000 ppm, respectivement. L'extrait éthanolique de curcuma a une plus grande capacité à inhiber certaines bactéries pathogènes dans les crevettes et le poulet à un degré plus élevé que de l'extrait de curcuma à l'hexane et de curcuminoïdes.

Les résultats de l'étude sont cohérents avec l'activité antibactérienne des épices et des huiles essentielles rapportées par d'autres chercheurs où l'huile de curcuma possède une activité antibactérienne contre un certain nombre des bactéries (*Bacillus cereus*, *B. coagulans*, *B. subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Staphylococcus aureus*) (Negi *et al.*, 1999).

Dans étude réalisée par Gul et Bakht (2015), des extraits aqueux, n-hexane, chloroforme et méthanolique de curcuma présentaient différentes gammes d'activité contre *Candida albicans*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Il a été observé qu'*Escherichia coli* est sensible à tous les extraits. Les résultats indiquent en outre que la zone d'inhibition maximale (13,5 mm) a été observée pour *Staphylococcus aureus* par les échantillons extraits au méthanol. Aucune zone d'inhibition a été observée pour *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus* dans des échantillons extraits d'eau appliquée à des concentrations de 6 et 12 g. De même, les échantillons prélevés dans l'eau (121 °C) ont obtenu un score de 0 mM contre *Candida albicans* appliqué aux deux concentrations (Gul et Bakht, 2015). Les extraits d'éther et de chloroforme et l'huile de *C. longa* ont des effets antifongiques. L'extrait d'éthanol brut possède également une activité antifongique (Chattopadhyay *et al.*, 2004).

Les propriétés médicinales et thérapeutiques des herbes sont étroitement liées à leurs composants chimiques et les composants les plus importants du curcuma sont les polyphénols et les flavonoïdes, qui peuvent être obtenus par extraction à l'aide de nombreux solvants tels que le méthanol, l'eau et l'éthanol (Al-Daihan *et al.*, 2013).

Plusieurs études ont signalé l'activité antimicrobienne à large spectre pour la curcumine comprenant des activités antibactériennes, antivirales, antifongiques et antimalarriales (Artico *et al.*, 1998). Les flavonoïdes sont également des substances phénoliques hydroxylés. Ils sont connus pour être synthétisés par des plantes en réponse à une infection microbienne. Il ne devrait pas être surprenant qu'ils se soient avérés *in vitro* être des substances antimicrobiennes

efficaces contre un large éventail de micro-organismes. Leur activité est probablement due à leur capacité à se complexer avec des protéines extracellulaires et solubles et à se complexer avec des parois cellulaires bactériennes (Cowan, 1999).

À travers ce qui précède, nous notons que l'extrait de méthanol de tous les échantillons montre de meilleures activités antibactériennes que les autres extraits, ce qui pourrait être dû à la nature organique du méthanol, ainsi qu'à sa grande capacité à dissoudre plus d'éléments organiques et à son activité antibactérienne (Al-Daihan *et al.*, 2013).

#### 4.4.3. Résultats de l'activité anticoagulante

Le pouvoir anticoagulant du *Curcuma longa L.* et de leurs principaux constituants a été évalué de la voie endogène et la voie exogène de la coagulation à l'aide de deux tests chronométrique globaux, le test de temps de céphalin-kaolin (TCK) et le test de temps de Quick (TQ) (Boukeria *et al.*, 2019).

##### 4.4.3.1. Activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène

Les résultats d'activité anticoagulante obtenus par Boukeria *et al.* (2019) montrent que les extraits méthanoliques et aqueux de racines de *Curcuma longa L.* possèdent une activité anticoagulante.

Temps de coagulation prolongé (TCK) par rapport au TCK témoin de 39 sec, le TCK normal variait entre 30 et 40 sec selon le réactif. Les résultats montrent que les extraits aqueux exercent relativement plus de TCK que les extraits méthanoliques.

Les différents volumes (10, 20,30 µl) des extraits méthanolique et aqueux de *C. longa* montrent qu'un volume de 30 µl a un pouvoir anticoagulant important estimé par le TCK de 53sec avec extension 14sec pour extrait aqueux et TCK pour 48sec avec extension 9sec pour l'extrait de méthanol (Boukeria *et al.*, 2019).

##### 4.4.3.2. Activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène

Le temps de coagulation mesuré est exprimé par rapport au temps d'un plasma témoin, dont la valeur moyenne varie entre 11 et 13 secondes pour la plupart des réactifs. Le TQ est allongé lorsqu'il dépasse de plus de 2 secondes le temps du témoin (Boutgourine, 2019).

Selon Boukeria *et al.* (2019) les extraits méthanoliques et aqueux ont été incubés avec différents volumes (10, 20, 30 µl) de *C. longa L.* dans le plasma pendant certaines périodes (15 minutes).



En volume 10 µl d'extraits aqueux et méthanoliques de *C. longa L.*, on a pu prolonger le temps rapide par des valeurs d'environ (2,7sec et 5,8sec) avec des TQ respectivement 15,2sec et 18,3sec. Alors que dans un volume de 20 µl d'extraits aqueux et méthanoliques de *C. longa L.*, il a une activité anticoagulante estimée de TQ de 15,6 sec avec un étirement de 3,1 sec et un TQ de 20,1 sec avec un étirement de 7,6 sec, respectivement. Enfin, un volume de 30 µl a un effet anticoagulant vis-à-vis de la voie exogène avec des QT de 15,8sec avec un allongement de 3,3 sec pour l'extrait aqueux et un QT de 27 sec avec un allongement de 14,5 sec pour l'extrait méthanolique.

Ces résultats sont cohérents avec ceux (Kim et Bae, 2012), qui présentaient la curcumine comme un anticoagulant efficace en inhibant la thrombine et le FXa. L'activité anticoagulante de la curcumine a été démontrée par la prolongation du temps de coagulation dans les tests plasmatiques pour le PT et l'APTT. On a découvert que le curcuma inhibe l'agrégation plaquettaire et la formation de caillots, ce qui aide et stimule la circulation sanguine et a également signalé que la curcumine (le principal composé de polyphénols) prolonge le PTT (temps de thromboplastine partiellement activé) et le PT et inhibe les activités de la thrombine et du facteur FX (Kim et Bae, 2012).

Le curcuma possède de nombreuses propriétés antioxydants, anti-inflammatoires et anticoagulantes merveilleuses car il contient de la curcumine. Des études ont montré que l'action anticoagulante de la curcumine pour prolonger le temps de coagulation, comme dans les tests TT, PT et APTT pourrait être due à la présence de groupes hydrophobes présents dans la curcumine. L'activité anticoagulante de la curcumine est démontrée par l'allongement du temps de coagulation dans les tests plasmatiques pour le TP et l'APTT. On pense que cela se produit par l'inhibition de la thrombine ou FXa. Les effets inhibiteurs de la curcumine sur la génération de FXa et la génération subséquente de thrombine fournissent une preuve supplémentaire de l'activité anticoagulante de la curcumine. Selon ces résultats, l'activité anticoagulante de la curcumine résulte de l'inhibition de l'avant dernière et dernière enzyme de la cascade de la coagulation (Keihanian *et al.*, 2017).

La curcumine montre une activité anticoagulante en inhibant l'agrégation plaquettaire induite par le collagène et l'adrénaline *in vitro* ainsi qu'*in vivo* dans l'aorte thoracique du rat (Chattopadhyay *et al.*, 2004). Ces résultats sont cohérents avec une étude menée par Yakub *et al.* (2016).

# **Conclusion**

## Conclusion

---

L'objectif du présent travail a porté sur l'évaluation de quelques activités biologiques de différents extraits préparés à partir de la poudre de *Curcuma longa L.*

A partir de divers articles scientifiques, on a évalué la quantité de polyphénols et de flavonoïdes, ainsi que l'estimation des quelques activités biologiques de ce épice.

D'après l'analyse quantitative, l'évaluation du contenu des polyphénols et flavonoïdes totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu et la méthode d'AlCl<sub>3</sub>, respectivement, nous a permis de trouver que l'extrait du *curcuma longa L.* est plus riche en flavonoïdes que les polyphénols. La différence de la teneur en polyphénols et les flavonoïdes peut être s'expliquer par un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique : les variétés et l'origine d'espèces) et extrinsèques (conditions climatiques, température élevée, les conditions de stockage sécheresse, salinité) la nature du solvant utilisé.

D'après l'évaluation de l'activité antioxydant par le test DPPH, les résultats montrent que curcuma a une activité antioxydant importante, mais cette dernière est variable selon le solvant d'extraction. L'activité antioxydant du *Curcuma longa L.* varie d'une façon remarquable en changeant les solvants utilisés pour préparer les extraits et la diversité des genres.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé a été faite à partir d'analyse de quelques résultats que les extraits de curcuma ont révélé des effets antibactérienne et antifongique. Donc on peut dire que cet épice a une activité antimicrobienne importante et qui pourraient représenter une source potentielle de molécules bioactives en thérapeutique.

L'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène et de la voie endogène de la coagulation par deux tests généraux (Temps de Quick (TQ) et temps de céphaline kaolin (TCK) respectivement) a été réalisée. Les temps de coagulation obtenus sur un plasma en présence de l'extrait de la plante indiquent qu'ils exercent une activité anticoagulante sur les deux voies de la coagulation.

Enfin nous pouvons dire que cette étude est l'une des très rares études sur l'évaluation de certaines activités biologiques de la plante étudié et ces résultats sont encore préliminaires et nécessitent des études future plus approfondies à différents niveaux. Il est conseillé de réaliser une étude *in vivo*, pour obtenir une vue plus approfondir sur les différentes activités

## **Conclusion**

---

de cette plante. Cela nous ouvrira le chemin pour trouver une nouvelle voie dans le traitement de nombreuses maladies, telles que: les maladies inflammatoires chroniques (ostéoporose et compagnie), les maladies cardiovasculaires et le cancer.

**Références**

**Bibliographiques**

- Abudunia A.M. (2018). *ETUDE PHYTOCHIMIQUE, SCREENING BIOLOGIQUE ET PHARMACOLOGIQUE DES FLEURS DE CALENDULA ARVENSIS*. THESE DE DOCTORAT: UNIVERSITE MOHAMMED V - RABAT, 179 P.
- Al-Daihan S., Al-Faham M., Al-shawi N., Almayman R., Brnawi A., zargar S., Bhat R. s. (2013). Antibacterial activity and phytochemical screening of some medicinal plants commonly used in Saudi Arabia against selected pathogenic microorganisms. *Journal of King Saud University\_ Science* 25: 115–120.
- Ali Z. C. (2013). *Études chimiques et biologiques d'Aframomum sceptrum (Zingiberaceae) et de la curcumine*. Thèse du doctorat : UNIVERSITÉ PARIS-SUD , 154 P.
- Alioua M. A. (2015). *Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de Staphylococcus aureus Résistant à la Méricilline*. Thèse de Doctorat : Universite Badji Mokhtar – Annaba, 228 P.
- Anne R., Vaquier L. (2010). *INTERET D'UN NOUVEAU NUTRICAMENT A VISEE ANTI-INFLAMMATOIRE DANS LA GESTION DE TROUBLES LOCOMOTEURS CHEZ LE CHEVAL.ASPECTS BIBLIOGRAPHIQUES ET ETUDE CLINIQUE*. DOCTORAT VETERINAIRE: ÉCOLE NATIONALE VETERINAIRE D'ALFORT, 167 P.
- Araújo C., Leon L. (2001). Biological Activities of Curcuma longa L. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 96(5): 723-728.
- Arthus M. *Coagulation du sang*. GAUTHIER-VILLARS, IMPRIMEUR-LIBRAIRE DU BUREAU DES LONGITUDES. paris.
- Artico M., Santo R. D., Costi R., Novellino E., Greco G., Massa S., Tramontano E., Marongiu E. M., De Montis A., La Colla P. (1998). Geometrically and Conformationally Restrained Cinnamoyl Compounds as Inhibitors of HIV-1 Integrase: Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Modeling. *Journal of Medicinal Chemistry* (41): 3948-3960.
- Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui S., Khebri S. (2010). ACTIVITE ANTI-OXYDANTE ET ANTIMICROBIENNE D'EXTRAITS DE CUMINUM CYMINUM L. *Lebanese Science Journal* 11(1): 69-80.
- Avire N. J., Whiley H., Ross K. (2021). A Review of Streptococcus pyogenes: Public Health Risk Factors, Prevention and Control. *Pathogens* 10(248) : 2-17.
- Batty P., Smith G. (2010). Anticoagulation. 243-247.

## Références Bibliographique

---

- Belkhadir A. (2006). Traitement antifongiques des candidoses systémiques en réanimation. *Journal De Mycologie Medicale (16)* : 16-25.
- Belkhiri F. (2009). *ctivité antimicrobienne et antioxydante des extraits du Tamus communis L. et Carthamus caeruleus L.* Mém: Magistér: Universite Farhat Abbes Setif, 189 P.
- Bougandoura N., Bendimerad N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de Satureja calamintha ssp.Nepeta (L.) Briq. *Nature & Technologie*, 14-19.
- Boukeria S., Benbott A., Kadi K., Debbache K., Gueniche A. (2019). ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE ET ÉVALUATION DE L'ACTIVITE ANTICOAGULANTE DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES DU Curcuma longa L. *Revue des BioRessources* 9(2): 45-55.
- Bourahima B., Donatien B. C., Noël D. D., Herman W. B., Leslie T. D., Romual D. S., Karamoko O. (2021). Comparative study of the anticoagulant powers of the aqueous macerate, ethanolic macerate and aqueous decoction of the leaves of Uvaria chamae P. Beauv. (Annonaceae). *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 11(2-s): 82-88.
- Boutgourine M. (2019). *Guide d'hémostase à l'usage de l'étudiant en médecine.* Thèse du doctorat : Faculté de Médecine et de Pharmacie, Marrakech, p 360.
- Cadet A. (2020). *Étude de l'effet de la curcumine sur des bactéries impliquées dans la maladie parodontale.* Thèse du doctorat : université de Bordeaux, P61.
- Caen J., Lrrieu M. J., Samama M. (1975). L'hémostase: méthodes d'exploration et diagnostic pratique (2<sup>ème</sup> éd). Expansion Scientifique Française . PARIS.
- Campbell F. (1997, Juin 6). Le CRDI Explore. *La pharmacie populaire : TRAMIL, un réseau des Caraïbes pour valider les plantes médicinales.*
- Caquet. (2004). 250 examens de laboratoire: prescription et interprétation (9<sup>ème</sup> ed). Paris: Masson.
- Chattopadhyay I., Biswas K., Bandyopadhyay U., Banerjee R. K. (2004). Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *CURRENT SCIENCE* 87(1) : 44-53.
- Choi H.-Y. (2009). Antioxidant activity-of Curcuma longa L., novel foodstuff. *Molecular & Cellular Toxicology* 5(3) : 237-242.
- Çıkrıkçı S., Mozioglu E., Yılmaz H. (2008). Biological Activity of Curcuminoids Isolated from Curcuma longa. *records of natural production* .2(1):19-24.
- Collin S., Crouzet J. (2011). *Polyphénols et procédés.* Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire , Paris, 320 P.

## Références Bibliographique

---

- Cowan M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Revue de microbiologie clinique* 12(4) : 564-582.
- de Revel T., Doghmi K. (2004). Physiologie de l'hémostase The Normal Haemostatic Process. *EMC-DENTISTERIE*, 71-81.
- Dieng M., Fall A. D., Diatta K., Diatta W., Bassene E. (2015). Dosage des polyphénols et activité anti-oxydante de feuilles et d'inflorescences mâles de *Borassus aethiopum*, Mart. (Arecaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 9(1) : 1067-1071.
- Etame Loe G., Ngaba G. P., Kamdom M., Mpondo Mpondo E., DIBONG S. D. (2018). Evaluation des activités anti-inflammatoire et antiradicalaire de l'extrait au vin de palme des feuilles de *Phragmanthera capitata* (Sprengel) S. Balle (Loranthaceae) récoltées sur *Psidium guajava* au Cameroun. *International Journal of Biological Sciences* 12(1): 233-243.
- Fatiha Amarti, B. S., Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Chaouch, A. (2010). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 14(1): 141-148.
- Fred C., Tenover P. (2006). Mechanisms of antimicrobial Resistance in Bacterie. *The American journal of medicine* 119 (6A) : 3-10.
- Gayatri N., Rajani K. S. (2011). Evaluation in comparative antioxidant activity of *Curcuma longa* & *Curcuma aromatica*. *Natural Products en Indian Journal* 7(2) : 57-60.
- Gouegoui Bohui P. S., Adima A. A., Niamké F. B., N'Guessan J. D. (2018). Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 50 - 58.
- Grugeau C. (1995). *CURCUMA LONGA L. (Zingibéracées)*. La Rache foucauld (Charente): Université de Limoges Faculté de Pharmacie, 116 P.
- Gueboudji Z., Kadi K., Nagaz K., Addad D., Secra M., Ben Yahya L., Lachehib B. (2021). Phenolic compounds and biological activities of phenolic extract of olive oil mill wastewater issue from the cold extraction of olive oil from Khenchela (Algeria). *Research Square*, 1-19.
- Gul P., Bakht J. (2015). Antimicrobial activity of turmeric extract and its potential use in food industry. *Journal of Food Science and Technology* 52(4) : 2272-2279.
- Haddouchi F., Zerhouni K., SIDI-Yekhelef A., Chaouche T. M. (2016). Evaluation of antimicrobial activity of different extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* 85 : 152 - 159.



## Références Bibliographique

---

- Halliwell B., Gutteridge J. M. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press: Oxford (fourth edition).
- Halvorsen B. L., Carlsen M., Bohen S., Holte K., Jacobs D., Blomhoff J. (2006). Content of redox-active compounds (antioxidants) in foods consumed in the United States *Am J Clin Nutr* 84: 95-135.
- Hanane M. S. (2020). *Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de Ammoides verticillata, en combinaison avec les huiles essentielles de Curcuma longa et Allium sativum et Micro-encapsulation de l'HE de Ammoides verticillata en vue d'une lutte biologique*. Thèse de Doctorat: Université Aboubakr Belk Aïd – Tlemcen.
- Hermann P., Ammon T., A Wah M. (1991). Pharmacology of Curcuma longa. *Planta Medica* 57(1): 1-7.
- Heymonet C. (2013). *Les plantes à visée anti-inflammatoire utilisées en phytothérapie*. Thèse du doctorat : UNIVERSITE DE LORRAINE, France, 188 P.
- Hombourger C. (2010). *Le curcuma, Del'épiceaumédicament*. Thèse du doctorat en Pharmacie: Université Henri Poincaré - NANCY 1, 182 P.
- Hulin A., Deguillaume A., BRETAGNE S., Bézie Y. (2005). Bon usage des antifongiques dans le traitement des candidoses et aspergilloses invasives. *J Pharm Clin* 24(3) : 125-138.
- Ikpeama Ahamefula, Onwuka G. I., Nwankwo Chibuzo. (2014). Nutritional Composition of Turmeric (Curcuma longa) and its Antimicrobial Properties. *International Journal of Scientific & Engineering Research* 5(10): 2229-5518.
- Jansen P. C. (2005). *Ressources végétales de l'Afrique tropicale 3 Colorants et tanins*. Wageningen: Fondation PROTA / Backhuys Publishers / CTA, 238 P.
- Jourdan J.-P. (2015). *Curcuma et curcumine: del'histoireaux intérêts thérapeutiques*. Thèse du doctorat en Pharmacie: UNIVERSITE DE CAEN, 115 P.
- Kabi M. A., Hussain M. A., Zulfiqar A. (2012). Candida albicans: A Model Organism for Studying Fungal Pathogens. *ISRN Microbiology*, 1-15.
- Keihanian F., Saeidinia A., Bagheri R. K., Johnston T. P., Sahebkar A. (2017). Curcumin, hemostasis, thrombosis, and coagulation. *Journal of cellular physiology*, 1-15.
- Khaing Y. K., Htoo K., Win K. H. (2020). DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF TURMERIC OIL, CURCUMIN AND ETHANOL EXTRACT FROM CURCUMA LONGA LINN. (TURMERIC). *Technological University Lashio Journal of Research & Innovation* 1(3): 70-131.

## Références Bibliographique

---

- Kiamahalleh M. V., Najafpour-Darzi G., Rahimnejad M., Moghadamnia A. A., Kiamahalleh M. V. (2016). High performance curcumin subcritical water extraction from turmeric (*Curcuma longa* L.). *Journal of Chromatography B*, 191–198.
- Kidik pouka M.C., Ngene J.-P., Ngoule C. C., Mvogo Ottou P. B., NDJIB C., Dibong S. D., Mpondo Mpondo E. (2015). Caractérisation des plantes médicinales à flavonoïdes des marchés de Douala (Cameroun). *International Journal of Biological Sciences* 9(3): 1494-1516.
- Kim D.-C., Bae J.-S. (2012). Anticoagulant activities of curcumin and its derivative. *BMB Reports* 45(4) :221-226.
- Kim H.J., Lee J.-W., Kim Y.-D. (2011). Antimicrobial activity and antioxidant effect of *Curcuma longa*, *Curcuma romatica*, *Curcuma zedoria*. *Korean J Food Preserv* 18 (2): 219-225.
- Krief S. (2003). *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées*. Museum national d'histoire naturelle: Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées, Paris.
- Ksouri R., Falleh H., Megdiche W., Trabelsi N., Mhamdi B., Chaieb K., Abdelly C. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. *Elsevier*, 2083–2091.
- Kuete V. (2017). *MEDICINAL SPICES AND VEGETABLES FROM AFRICA*. Cameroon: ACADEMIC PRESS .
- Kurutas E. B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition Journal* 15:1475-2891.
- Lagane C. (2007). *ROLE DE L'IL-13 ET DES LIGANDS DE PPAR- $\gamma$  DANS LA REPONSE ANTI-INFECTIEUSE DES MACROPHAGES MURINS ET DES MONOCYTES HUMAINS VIS-A-VIS DE CANDIDA ALBICANS. IMPLICATION DE PPAR- $\gamma$* . Thèse du doctorat: UNIVERSITE TOULOUSE III – PAUL SABATIER , 131 P .
- Lamouche C. (2011). *ETUDE DES CONDITIONS DE MISE EN ŒUVRE D'UNE INDICATION GEOGRAPHIQUE SUR LE CURCUMA D'ANIVORANO-EST - MADAGASCAR-*. Ecole supérieure d'Agro-Développement International.
- Latreche A., Temame H. (2020). *Optimisation de l'extraction de l'huile des extraits de l'huile de curcuma et évaluation de son activité antioxydante*. Mém:Master: Université Mohamed El Bachir El Ibrahim B.B.A, 32 P.

## Références Bibliographique

---

- Lawhavinit O.-a., Kongkathip N., Kongkathip B. (2010). Antimicrobial Activity of Curcuminoids from *Curcuma longa* L.on Pathogenic Bacteria of Shrimp and Chicken. *Agriculture and Natural Resources* 44(3):364 - 371.
- Li S., Yuan W., Deng G., Wang P., Yang P., Aggarwal B. (2011). Chemical composition and product quality control of turmeric (*Curcuma longa* L.). *Pharmaceutical Crops* 2: 28-54.
- Lorient M., Beaune P. (2006). La vitamine K époxyde réductase:du sang neuf dans les traitements anticoagulants oraux Vitamine K epoxide reductase: fresh blood for oral anticoagulant therapies. *revue de médecine interne* 27: 979–982.
- Marfak A. (2003). *Radiolyse Gamma des Flavonoïdes Etude De Leur Réactivité Avec les Radicaux Issus Des Alcools: formation De Depsides*. Thèse du Doctorat: De L'Université de Limoges , 187 P.
- Marinova D., Ribarova F., Atanassova M. (2005). TOTAL PHENOLIC AND TOTAL FLAVONOIDS IN BULGARIAN FRUITS AND VEGETABLES. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* 40(3): 255-260.
- Marok M. A. (2014). *Implication des mécanismes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques dans la tolérance au stress hydrique chez deux variétés d'orge, Saïda et Express*. ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE ENSA, Alger.
- Miszczycha S. D. (2013). *Croissance et survie des Escherichia Coli producteurs de Shiga Toxines (STEC) en fonction des technologies fromagères mettant en oeuvre du lait cru*. Thèse du doctorat : Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 316 P.
- Mobasher A., Sairah K. H., Mobasher A. (2014). Protective effect of crude *Curcuma longa* and its methanolic extract in alloxanized rabbits. *Article in Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 27(1) : 121-128.
- Muruges J., Annigeri R. G., Mangala G. K., Mythily P. H., Chandrakala J. (2019). Evaluation of the antifungal efficacy of different concentrations of *Curcuma longa* on *Candida albicans*: An in vitro study. *Journal Oral Maxillofac Pathology* 23(2) : 305.
- Nasri H., Sahinfard N., Rafieian M., Rafieian S., Shirzad M., Rafieian-kopaei M. (2014). Turmeric: A spice with multifunctional medicinal properties. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 5-8.
- Naz S., Jabeen S., Ilyas S., Manzoor F., Aslam F., Ali A. (2010). ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CURCUMA LONGA VARIETIES AGAINST DIFFERENT STRAINS OF BACTERIA. *Pakistan Journal of Botany* 42(1) : 455-462.
- Negi P. S., Jayaprakasha G. K., Mohan Rao L. J., Sakariah K. K. (1999). Antibacterial Activity of Turmeric Oil: A Byproduct from Curcumin Manufacture. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 47(10) : 4297-4300.

## Références Bibliographique

---

- Niamsa N., Sittiwet C. (2009). Antimicrobial Activity of Curcuma longa Aqueous Extract. *Journal of Pharmacology and toxicology* 4(4): 173-177.
- Nkouandou P. M., Ntonga P. A., Djeukam C. A., Dongmo P. M., Menut C. (2020). Evaluation des propriétés insecticides des huiles essentielles de quelques Zingiberaceae contre les larves d'Anopheles gambiae s. l. collectées à Ayos (sud-Cameroun). *ournal of Animal & Plant Sciences* 43 (3): 7469-7482.
- Ntoutoume G. M. (2015). *Elaboration des nanocristaux de cellulose fonctionnalisés pour la vectorisation d'agents anticancéreux et pour la transfection de gènes*. Thèse du doctorat: Université de Limoges, Français.
- Okombe Embeya V., Nzuzi Mavungu G. (2019). Etude de l'activité antibactérienne (in vitro) des extraits aqueux et méthanoliques de l'ail (*Allium sativum* L.) . *Journal of Applied Biosciences* 141: 14419 - 14425.
- Ouis N. (2015). *ETUDE CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE CORIANDRE, DE FENOUIL ET DE PERSIL*. Thèse de Doctorat : Université d'Oran I, 198 P.
- paillot P. (2016). *Modification chimique, greffage et dispersion d'agents fonctionnels pour des applications antimicrobiennes* . Université de Lyon , français.
- Panpatil V. V., Tattari S., Kota N., Nimgulkar C., Polasa K. (2013). In vitro evaluation on antioxidant and antimicrobial activity of spice extracts of ginger, turmeric and garlic. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry* 2 (3): 143-148.
- Parveen B., Jehan G. (2015). Antimicrobial activity of turmeric extract and its potential use in food industry. *J Food Sci Technol*, 2272–2279.
- Paryski E. (1967). *ANTIBIOTICS*. LONDON: English Library of Congress Catalog Card No.64-21220.
- pascal G. (2008). *Aliments fonctionnels*. Paris: 2ème édition.
- Pasquier C. (1995). stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires* 1995(276): 87-92.
- Pierre H., Dupont h. (2018). *Indication DES traitements antifongiques (hors hématologie). Que montrent les données?* France: Sfar société française d'anesthésie et de réanimation.
- Plaziat-Decourcelle A. (2009). *Les anticoagulants : mise au point en 2009*. Thèse de Doctorat en Pharmacie: UNIVERSITE HENRI POINCARÉ- NANCY 1, 122 P.
- Pundir R. K., Pranay J. (2010). COMPARATIVE STUDIES ON THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF BLACK PEPPER (*PIPER NIGRUM*) AND TURMERIC (*CURCUMA LONGA*) EXTRACTS. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* I(2): 492-501.

## Références Bibliographique

---

- Quiles J. L., Mesa M. D., Ramirez-Tortosa C. L., Battino M., Gil, Á., ... Ramírez-Tortosa M. C. (2002). Curcuma longa Extract Supplementation Reduces Oxidative Stress and Attenuates Aortic Fatty Streak. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 22(7) :1225–1231.
- Rahmani F. Z., Zenasni R. (2013). *Curcuma longa* L. Universite Abou Bekr Belkaïd Faculte De Medecine ,Tlemcen.
- Revathy S., Elumalai S., Benny M., Antony, B. (2011). Isolation, Purification and Identification of Curcuminoids from Turmeric (*Curcuma longa* L.) by Column Chromatography. *Experimental Sciences*, 21-25.
- Rohman A., Widodo H., Lukitaningsih E., Rafi M., Nurrulhidayah A., Windarsih A. (2020). Review on in vitro antioxidant activities of Curcuma species commonly used as herbal components in Indonesia. *Food Research* 4 (2) : 286 - 293.
- Rolland Y. (2004). Antioxydants naturels végétaux. *OCL* 11(6) :419-424.
- Sahne F., Mohammadi M., Najafpour G. D., Moghadamnia A. A. (2017). Enzyme-assisted ionic liquid extraction of bioactive compound from turmeric (*Curcuma longa* L.): Isolation, purification and analysis of curcumin. *Industrial Crops and Products*, 1-9.
- Sahne F., Mohammadi M., Najafpour G., Moghadamnia, A. A. (2016). EXTRACTION OF BIOACTIVE COMPOUND CURCUMIN FROM TURMERIC (*CURCUMA LONGA* L.) VIA DIFFERENT ROUTES: A COMPARATIVE STUDY. *Pakistan Journal of Biotechnology* 13 (3): 173 - 180.
- Samba M., Cheikha A., Ould-Mohamed-Abdellahid M. V., Hadou A., Boumediana A. I., Kaihila A., Minnih, M. S. (2015). Ethnobotanic study, phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of *Tapinanthus pentagonia*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 1604-1610.
- Sandhar H. K., Kumar B., Prasher S., Tiwari P., Salhan M., Sharma P. (2011). A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. *Internationle pharmaceutica scientia* 1(1) : 25-41.
- Shahid N. (2016). *Valeur thérapeutique du curcuma*.
- Şinasi A., Deveboynu Ş. N. (2018). Curcuma longa Ticari Ekstresinin In-Vitro Antibakteriyel Aktivitesinin Araştırılması. *EURASIAN JOURNAL OF HEALTH SCIENCES* 1(1) : 1-6.
- Singh G., Kapoor I. P., Singh P., de Heluani C. S., de Lampasona M. P., Catalan C. A. (2010). Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of fresh and dry rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* Linn.). *Food Chem Toxicol* 48(4): 1026-1031.

## Références Bibliographique

---

- Sooad Al-Daihan, M. A.-F.-s. (2013). Antibacterial activity and phytochemical screening of some medicinal plants commonly used in Saudi Arabia against selected pathogenic microorganisms . *Journal of King Saud University\_ Science* 25: 115–120.
- Stocker R., John F., Keaney, J. (2004). Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis. *Physiological Rviews*, 1381-1478.
- Suchitra U. et Kundabala M. (2006). Enterococcus Faecalis: An Endodontic Pathogen. *Endodontology* , 11-13.
- Sumreen H., Anjum N. S. (2016). Screening for antibiofilm and antioxidant potential of turmeric (*Curcuma longa*) extracts. *Pak. J. Pharm. Sci.* 29(4): 1163-1170.
- Tahri N., El basti A., Zidane L., Rochdi A., Douira A. (2012). Etude Ethnobotanique Des Plantes Medicinales Dans La Province De Settat (Maroc). *Journal of Forestry Faculty 12 (2)* :192-208.
- Talbi H., Boumaza A., El-mostafa K., Talbi, J., Hilali A. (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* . *Journal of Materials and Environmental Science* 6 (4): 1111-1117.
- Tanvir E. M., Hossen S., Hossain F., Afroz R., Gan S. H., Khalil I., Karim N. (2017). Antioxidant Properties of Popular Turmeric (*Curcuma longa*) Varieties from Bangladesh. *Journal of Food Quality*, 1-8.
- Tarik M. C. (2014). *contribution à l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales*. thèse de doctorat : université abou-bakr-belkaid -Tlemcen(algerie), 119 P.
- Tefiani C. (2015). *Les propriétés biologiques des huiles essentielles de Curcuma longa, Ammoides verticillata et Thymus ciliatus ssp. eu-ciliatus*. Thèse de doctorat en Sciences: L'Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, 146 P.
- Telli A., Mahboub N., Boudjeh S., Siboukeur O., Moulti E. K., Mati F. (2010). OPTIMISATION DES CONDITIONS D'EXTRACTION DES POLYPHENOLS DE DATTES LYOPHILISEES (*Phoenix dactylifera* L) VARIETE GHARS. *Annales des Sciences et Technologie* 2(2): 107-114.
- Trinidad T. P., Sagum R. S., de Leon M. P., Mallillin A. C., Borlagdan M. P. (2012). *Zingiber Officinale* and *Curcuma Longa* as Potential Functional Foods/Ingredients. *Food and Public Health* 2(2): 1-4.
- Ungphaiboon S., Supavita T., Singchangchai P., Sungkarak S., Rattanasuwan P., Itharat A. (2005). Study on antioxidant and antimicrobial activities of turmeric clear liquid soap for wound treatment of HIV patients. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 27(2) : 569-578.

## Références Bibliographique

---

- Wagner V. E., Iglewski B.H . (2008). P. aeruginosa Biofilms in CF Infection. *Clinical Reviews Allergy Immunology* 35(3) : 124–134.
- Yakub G., Toncheva A., Manolova N., Rashkov I., Danchev D., Kussovski V. (2016). Electrospun polylactide-based materials for curcumin release: Photostability, antimicrobial activity, and anticoagulant effect. *Journal of Applied Polymer Science* 133(5).

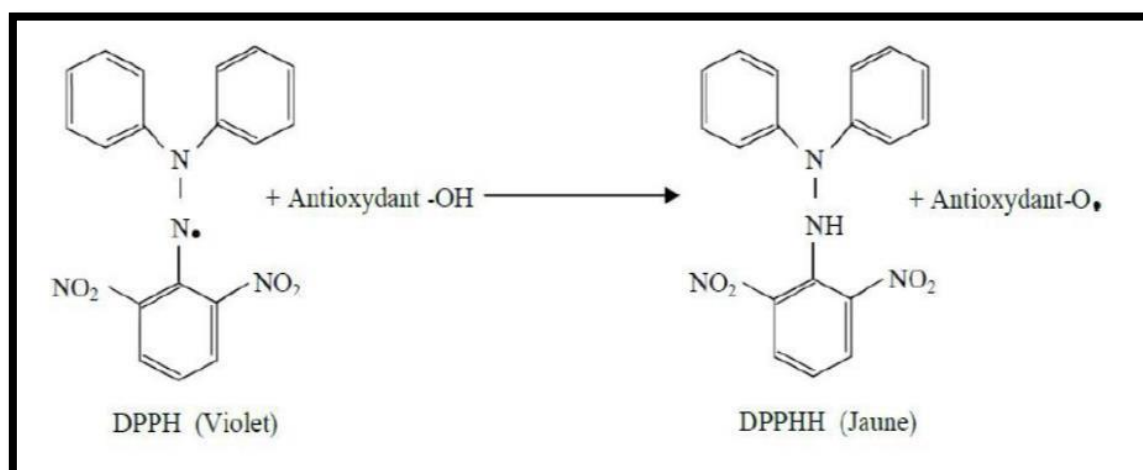
# **Annexes**



## Annexes



Annexe N°1. l'image de montre des rhizomes et du curcuma broyai (Li *et al.*, 2011)



Annexe N°2. Equation du radical DPPH transformé en DPPH (Talbi *et al.*, 2015).

### Annexe N°3

*Enterococcus faecalis* :est un coque non sporulé, fermentaire, anaérobie facultatif, à Gram positif. Les cellules d'*Enterococcus faecalis* sont ovoïdes et ont un diamètre de 0,5 à 1 µm. Elles se présentent seules, par paires ou en chaînes courtes, et sont fréquemment allongées dans le sens de la chaîne. La plupart des souches sont non hémolytiques et non mobiles. Les colonies de surface sur gélose au sang sont circulaires, lisses et entières (Suchitra et Kundabala, 2006)

## Annexes

---

*Streptococcus pyogenes* : familièrement appelé « streptocoque du groupe A » (GAS) est une bactérie à Gram positif en forme de coccoïde qui se développe en chaînes. Le GAS produit de petites colonies blanches à grises avec une zone claire de -hémolyse sur gélose au sang. ( Avire *et al.*, 2021)

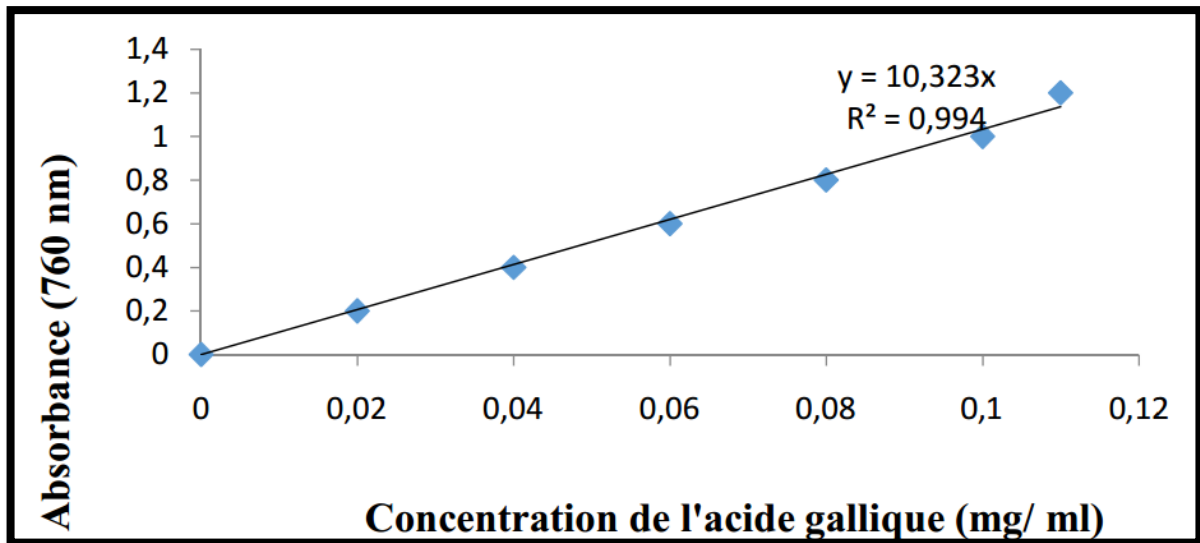
*Le Staphylococcus aureus*: (ou staphylocoque doré) est une bactérie que l'on peut trouver normalement sur la peau et les muqueuses. il est des bactérie ronde, groupée en forme de grappe de raisin d'où l'association des termes grecs staphyle. Il est maintenant établi que *S. aureus* est une bactérie Gram-positive, aéro-anaérobie facultative qui produit une catalase et une coagulase (Alioua, 2015)

*Pseudomonas aeruginosa*: est un micro-organisme Gram-négatif ubiquitaire présent dans de nombreux environnements, tels que le sol et l'eau. *P. aeruginosa* est également un pathogène opportuniste impliqué dans les infections respiratoires, les infections des voies urinaires, les infections gastro-intestinales, la kératite, l'otite moyenne et la bactériémie (Wagner et Iglewski , 2008)

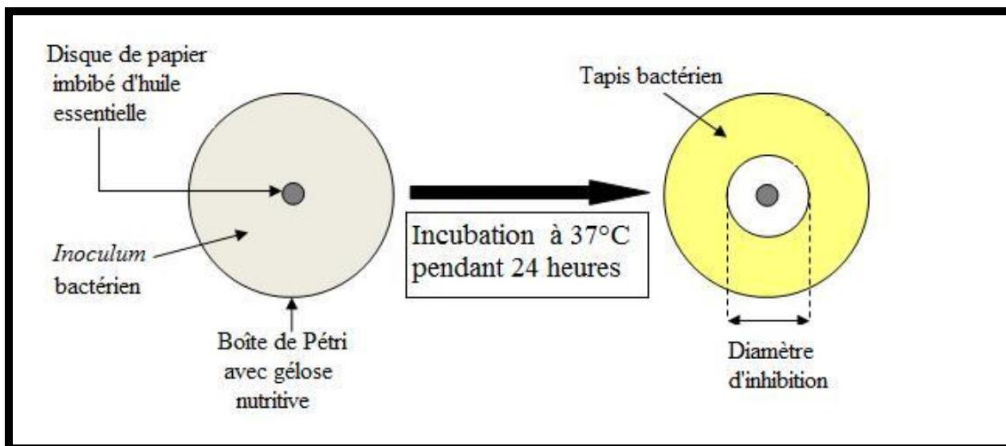
*Escherichia coli*: est un bacille à Gram négatif aérobie-anaérobie facultatif appartenant à la famille des entérobactéries (Enterobacteriaceae) qui colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux. qu'il peut causer des infections intestinales. La gastroentérite à *Escherichia coli* peut être causée par diverses souches d'*Escherichia coli*. (Miszczyncha, 2013)

*Candida albicans*: est une levure qui appartient à la flore commensale des individus sains, mais lorsque l'équilibre délicat entre le parasite et l'hôte est perturbé, elle devient opportuniste et colonise les surfaces muqueuses de la peau, la cavité buccale et le tube digestif de nombreux mammifères. Chez l'homme, cette levure est un grave problème de santé, en particulier chez les patients immunodéprimés qui suivent un traitement immunosuppresseur. (Lagane, 2007) est un pathogène fongique humain opportuniste qui provoque la candidose (Kabi *et al.*, 2012)

## Annexes



Annexe N°4: Droite d'étalonnage de l'acide gallique. (Boukeria *et al.*, 2019)



Annexe N°5. Principe de la méthode de diffusion sur disque (Ouis, 2015).

# Résumé

**الملخص :** الكركم هو نبات من العائلة الزنجبيلية يستخدم على نطاق واسع كتوابل و مواد حافظة للأغذية و يستخدم في الطب التقليدي. يتعلق العمل الحالي بدراسة كمية البوليفينول والفلافونويد الموجودة في هذا النبات وربط هذه النتائج بأنشطتها البيولوجية. وفقًا للمقالات المدروسة، تم تحضير مستخلص الكركم من الجذور المجففة والمطحونة بعدة محاليل (الميثانول والإيثانول والماء... ) واستخراج الكركمين والزيت العطري أيضًا. سمحت لنا دراسة المستخلصات النباتية أيضًا بتقييم محتواها من المركبات الفينولية حيث وجد أن المستخلص الميثانولي غني بالبوليفينول والفلافونويد. أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة وجود خصائص مضادة للأكسدة في الكركم، وكذلك تقييم النشاط المضاد للميكروبات بطريقتين مختلفتين ؛ طريقة نشر القرص في وسط أجار وطرق التخفيف. أظهرت النتائج وجود فاعلية للمستخلصات ضد معظم السلالات المختبرة . أخيرا تقييم نشاط مضادات التخثر باستخدام اختبارات زمن الثرومبلاستين الجزئي ووقت البروثرومبين . أظهرت دراسة تأثير المستخلصات على إطالة زمن التخثر لكنا الطريقتين, و أن هذه المستخلصات تمارس نشاطا مضادا للتخثر مقابل كلا طريقتي التخثر .

الكلمات المفتاحية: الفلافونويدات , البوليفينول, الأنشطة المضادة للأكسدة, الأنشطة المضادة للجراثيم, الأنشطة المضادة للتخثر

**Résumé :** Le curcuma (*Curcuma longa L.*) est une plante de la famille Zingiberaceae. Il est largement utilisé comme épices, conservateurs alimentaires et utilisé en médecine traditionnelle. Le présent travail porte sur une étude de la quantité des polyphénols et flavonoïdes présents dans cette plante et à corréler ces résultats avec ses activités biologiques . D'après les articles étudiés , l'extrait de curcuma a été préparé à partir de rhizome séché et broyé de curcuma par plusieurs solutions (méthanol, éthanol et eau) et l'extraction de curcumine et d'huile essentielle également. L'étude des extraits de plantes nous a également permis d'évaluer leur teneur en composés phénoliques où l'extrait méthanolique s'est avéré riche en poly phénols et flavonoïdes.L'évaluation de l'activité antioxydant en utilisant le test du radical DPPH a montré la présence de propriétés antioxydants dans le curcuma, ainsi que l'évaluation de l'activité antimicrobienne par deux méthodes différentes ; une méthode de diffusion en disque dans un milieu gélosé et les méthodes de dilution. Les résultats ont montré l'existence d'une efficacité des extraits contre la plupart des souches testées. Enfin, l'évaluation de l'activité anticoagulante en utilisant les tests du temps de céphaline-kaolin (TCK) et du temps de Quick (TQ). Cette étude a montré un effet des extraits sur l'allongement du temps de coagulation des deux méthodes, et que ces extraits exercent une activité anticoagulante vis-à-vis les deux méthodes de coagulation.

**Mots Clés:** flavonoïdes, poly phénols, l'activité antioxydant, l'activité antimicrobienne, l'activité anticoagulante

**Abstract :** Turmeric (*Curcuma longa L.*) is a plant in the Zingiberaceae family. It is widely used as spices, food preservatives and used in traditional medicine. The present work relates to a study of the amount of polyphenols and flavonoids present in this plant and to correlate these results with its biological activities. According to the articles studied, turmeric extract was prepared from dried and ground rhizome of turmeric by several solutions (methanol, ethanol and water) and the extraction of curcumin and essential oil as well. Plant extracts also allowed us to assess their content of phenolic compounds where the methanolic extract was found to be rich in polyphenols and flavonoids. Evaluation of antioxidant activity using the DPPH radical test showed the presence of antioxidant properties in turmeric, as well as evaluation of antimicrobial activity by two different methods; a method of disk diffusion in agar medium and methods of dilution. The results showed the existence of an efficacy of the extracts against most of the strains tested. Finally, the evaluation of anticoagulant activity using the cephalin-kaolin time (TCK) and prothrombin time (PT) tests. This study showed an effect of the extracts on the prolongation of the coagulation time of the two methods, and that these extracts exert an anticoagulant activity vis-à-vis both methods of coagulation.

**Mots clés:** flavonoïds , Polyphenols , antioxydant activity, antimicrobial activity , anticoagulant activity.