

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 أوت 1955 سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKD



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Science biologiques.

Spécialité : Biochimie appliquée.

**Evaluation de l'activité antibactérienne, antioxydante et antiinflammatoires des composés phénoliques de la plante médicinale *Curcuma longa L.***

Présenté Par :

- Touhem Imene
- Boudjadi Aya
- Bourenanne Hassina
- Bellir Kenza

Membre de Jury :

Mme.Gabli Z	Président	MCA	Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. Khadri S	Promoteur	MCB	Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. Guergueb S	Examinatrice	MCB	Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2024/2025

## **Remercîment**

Tout d'abord, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force, le courage, la patience, et la volonté pour terminer ce travail.

Nous remercions nos parents pour nous avoir encouragés et permis d'entreprendre cette formation.

Un immense merci à notre promotrice Dr, Khadri Sihem recevrez ici nos sincères remerciements pour la confiance et les conseils que vous nous avez accordés. Merci également pour votre encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse.

Nous tenons à remercier les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont accordés en jugeant ce travail : Dr, Gabli, qui nous a fait l'honneur par sa présence en qualité de président de jury et Dr, Guergueb pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements vont également aux techniciennes des laboratoires pédagogiques : Asma et Ismahane.

Un remerciement à l'ensemble des enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et tout particulièrement nos enseignants de spécialité, BIOCHIMIE APPLIQUÉ et pour tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Avant toutes choses, je remercie ALLAH, le tout puissant, pour m'avoir donné

La force et la patience pour réaliser ce travail.

Mes chers parents pour leurs soutient, sacrifices et tous les efforts consentis à mon éducation.

Mes deux chers frères Halim et Abd El-Kader

Ma chère sœur Hakima

Avec qui j'ai passé des moments inoubliables

A tout ma famille.

A tous mes amis (e) sans exception

À tous mes enseignants du primaire jusqu'à l'université.

À mon encadrante Mme.khadri sihem.

À mes collègues de la promotion de master "Biochimie Appliquée "



*HASSINA*



Tout d'abord, je tiens à remercier Allah De m'avoir donné la force, la santé, le courage et l'inspiration et surtout la patience pour terminer ce travail. Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents « Saïd et Aïcha »

Qui n'ont jamais cessé de m'encourager et me conseiller, Ils m'ont tellement aidé tout au long de mon chemin, grâce à leur amour, leur compréhension et leur patience sans me quitter des yeux ni baisser les bras et leur soutien. Pour les peines que vous avez consenties pour mon éducation et ma formation. Ce travail est le fruit de vos efforts et une modeste récompense de votre amour débordant.

À moi-même, qui ai lutté et défié les difficultés pour atteindre ces moments qui ont toujours été un rêve

À mes chers frères Haytem, Louay et Ranim pour leur soutien continu

À mon amie Loubna, qui était et sera toujours une sœur pour moi, pour son soutien et son aide.

À mes collègues de route, Imene , Hassina et Aya

À ma grande famille, la famille Bellir, qui m'a soutenu pour continuer mon chemin et atteindre les plus hauts rangs.

À tous ceux qui me connaissent et qui ont été la raison pour laquelle j'ai atteint ce poste





Louange à Dieu, avec amour, gratitude et reconnaissance,

Pour le commencement et la fin.

Aujourd'hui, je dépose les derniers mots sur ce chemin que j'ai parcouru avec persévérance.

Un chemin parsemé de doutes et de défis, mais que j'ai affronté avec patience, ambition, foi, optimisme et une confiance profonde en Dieu.

Je dédie cette réussite, avec tendresse et fierté,

À moi-même, à cette femme forte et résiliente, qui a su se relever à chaque chute, avancer malgré les vents contraires, et garder en elle l'espoir même dans l'incertitude.

À celle dont les prières silencieuses ont été ma force...

À celle qui a tout donné sans jamais rien attendre en retour...à ma mère, ma lumière.

À l'absent éternel, celui dont l'amour me porte encore, et dont le regard me manque en ce jour de joie...

À mon père, que Dieu ait son âme.

À mon frère, mon repère, mon appui dans les moments de doute.

À mes collègues de route, Imene, Hassina et Kenza

Celles avec qui j'ai traversé les heures les plus longues et partagé les silences, les efforts, les rires aussi.

À l'ensemble de mes enseignants, et tout particulièrement à mon encadrante de mémoire, Dr.Khadri Sihem pour sa bienveillance, son implication sincère, et l'accompagnement précieux qu'elle m'a offert jusqu'au bout.

À ceux qui m'aiment sincèrement, à ceux pour qui ma réussite compte, et qui partagent ma joie comme s'il s'agissait de la leur.



AYA



Je tiens tout d'abord à exprimer ma gratitude envers ALLAH le tout-puissant, qui m'accordé la santé, la force et le courage nécessaires pour mener à bien ce travail.

Avec tout l'amour et mes respects, je dédie ce modeste travail :

À mes chères parents ma mère Ratiba Lahmer et mon père Hamdane Touhem  
Pour leur encouragement,  
leur amour, leur soutien et leur patience tout au long de ma vie. Que dieu les garde et protège.

À mes chers frères Abde raouf , Mouhamed, Issam Depuis notre enfance, vous avez été mes compagnons fidèles, mes soutiens inébranlables et mes sources d'inspiration. Votre présence constante, vos conseils avisés et votre amour inconditionnel ont été les piliers de ma force et de ma détermination.

À mes belle-sœur khawla, Abire, Rima pour leur encouragement et leur aide.

A mes deux petits trésors Miral et Maria.

A tout ma famille Surtout ma grand-mère Aicha

À mes chères cousines Ines et Nada

À mes chères « Aya, Hassina, Kenza » qui ont contribué à la réalisation de ce modeste travail et qui ont partagé avec moi les moments difficiles.

À mon encadrant Mme.khadri sihem.

À mes collègues de la promotion de master "Biochimie Appliquée "



## Résumé

Depuis fort longtemps, les plantes médicinales furent le principal recours pour la fabrication de remèdes naturels. Elles ont été utilisées par différentes civilisations en médecine traditionnelle.

Notre étude a pour objectif de mettre en évidence l'activité antibactérienne, anti oxydante et anti inflammatoire in vitro de deux échantillons : d'un extrait préparé à partir du rhizome secs et broyé de la plante *Curcuma longa L* et d'un mélange composé de la poudre des rhizomes de la même plante et du miel naturel.

L'extraction qui a été effectuée par une macération méthanolique à froid à partir de la poudre des rhizomes secs de *Curcuma longa L* a donné un rendement moyen de 8.03%.

La quantification des composés phénoliques totaux dans l'extrait brut et dans le mélange a été effectuée par spectrophotométrie, qui a révélé des taux en polyphénols et en flavonoïdes totaux respectivement de  $191,6 \pm 0,87 \mu\text{g GAE/mg}$  et  $26,4 \pm 0,33 \mu\text{g QE/mg}$  pour l'extrait et  $224,3 \pm 0,03 \mu\text{g GAE/mg}$  et  $22,65 \pm 1,08 \mu\text{g QE/mg}$  pour le mélange

L'évaluation du pouvoir antioxydant de nos échantillons par la méthode du piégeage du radical libre DPPH, a montré une forte activité antioxydante du mélange par rapport à celle de l'extrait qui a donné un effet maximal modéré.

Quand à l'activité antibactérienne, elle a été réalisée par la méthode de diffusion en puits sur milieu gélosé et la méthode de micro dilution sur micro plaque, les résultats ont montré une efficacité de notre extrait contre la plupart des souches testées même à des faibles doses pour certains bactéries.

En plus nos échantillons ont montré aussi une excellente activité anti inflammatoire évaluée par le test de dénaturation de l'albumine (BSA) et le test de stabilité de la membrane du globule rouge, en effet, la combinaison avec le miel était significativement plus efficace que l'extrait seul.

**Mots clés :** Activité antibactérienne, Activité antioxydante, activité anti-inflammatoires, *Curcuma longa L*, plante médicinale, et polyphénols

## Abstract

Medicinal plants have long been the mainstay of natural remedies. They have been used by various civilizations in traditional medicine. The extract prepared from the dried and ground rhizome of *Curcuma longa L.* by cold methanolic extraction yielded an average yield of 8.03%.

Our study aims to highlight the *in vitro* antibacterial, antioxidant and anti-inflammatory activity of two samples: an extract prepared from the dried and crushed rhizome of the plant *Curcuma longa L.* and a mixture composed of the powder of the rhizomes of the same plant and natural honey. The extraction, which was carried out by cold methanolic maceration from the powder of the dried rhizomes of *Curcuma longa L.*, gave an average yield of 8.03%. Quantification of total phenolic compounds in the crude extract and in the mixture was carried out by spectrophotometry, which revealed total polyphenol and flavonoid levels of  $191.6 \pm 0.87 \mu\text{g GAE/mg}$  and  $26.4 \pm 0.33 \mu\text{g QE/mg}$  for the extract and  $224.3 \pm 0.03 \mu\text{g GAE/mg}$  and  $22.65 \pm 1.08 \mu\text{g QE/mg}$  for the mixture, respectively.

The antioxidant power of our samples was assessed using the DPPH free radical scavenging method, demonstrating strong antioxidant activity of the mixture compared to that of the extract, which yielded a moderate maximum effect. As for antibacterial activity, it was performed using the well diffusion method on agar medium and the microdilution method on microplates. The results demonstrated the efficacy of our extract against most strains tested, even at low doses for some bacteria. In addition, our samples also demonstrated excellent anti-inflammatory activity, assessed by the albumin denaturation assay (BSA) and the red blood cell membrane stability test. Indeed, the combination with honey was significantly more effective than the extract alone.

**Keywords :** antibacterial activity, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, medicinal plant, *Curcuma longa L.* and polyphenols

لطالما كانت النباتات الطبية ركيزةً أساسيةً للعلاجات الطبيعية، وقد استخدمتها حضاراتٌ مختلفة في الطب التقليدي. وقد حقق المستخلص المُحصَّر من جذمور نبات الكركم لونغا (*Curcuma longa L.*) المجفف والمطحون، باستخدام الاستخلاص الميثانولي البارد، متوسطاً عائداً بلغ 8.03%. تهدف دراستنا إلى تسليط الضوء على النشاط المضاد للبكتيريا ومضادات الأكسدة والالتهابات في المختبر لعينتين: مستخلص مُحصَّر من جذمور نبات الكركم لونغا (*Curcuma longa L.*) المجفف والمطحون، ومزيجٌ مُكوّن من مسحوق جذمور النبات نفسه والعسل الطبيعي. وقد حقق الاستخلاص، الذي أُجري باستخدام النقع الميثانولي البارد من مسحوق جذمور نبات الكركم لونغا (*Curcuma longa L.*) المجفف، متوسطاً عائداً بلغ 8.03%. تم إجراء تقدير كمية المركبات الفينولية الكلية في المستخلص الخام وفي الخليط بواسطة مطيافية الضوء، والتي كشفت عن مستويات إجمالية من البوليفينول والفلافونويد  $0.87 \pm 191.6$  ميكروجرام/GAE مجم و  $0.33 \pm 26.4$  ميكروجرام/QE مجم للمستخلص و  $0.03 \pm 224.3$  ميكروجرام/GAE مجم و  $1.08 \pm 22.65$  ميكروجرام/QE مجم للخليط، على التوالي.

تم تقييم قوة مضادات الأكسدة في عيناتنا باستخدام طريقة DPPH لإزالة الجذور الحرة، مما أظهر نشاطاً مضاداً للأكسدة قوياً للخليط مقارنةً بمستخلصه، والذي حقق أقصى تأثير متوسط. أما بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا، فقد تم إجراؤه باستخدام طريقة الانتشار البئري على وسط أجار وطريقة التخفيف المجهرى على ألواح دقيقة. أظهرت النتائج فعالية مستخلصنا ضد معظم السلالات المختبرة، حتى عند استخدام جرعات منخفضة لبعض البكتيريا. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت عيناتنا أيضاً نشاطاً ممتازاً مضاداً للالتهابات، تم تقييمه بواسطة اختبار تمسخ الألبومين (BSA) واختبار ثبات غشاء خلايا الدم الحمراء. في الواقع، كان الجمع مع العسل أكثر فعالية بشكل ملحوظ من المستخلص وحده.

**الكلمات المفتاحية:** النشاط المضاد للبكتيريا، نشاط مضادات الأكسدة، النشاط المضاد للالتهابات، النبات الطبي،

*Curcuma longa L.* والبوليفينول

<b>SOMMAIRE</b>	<b>Page</b>
Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Abstract	
الملخص	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	<b>1</b>
<b>Partie Bibliographique</b>	
<b>Chapitre I</b>	
<b>Phytothérapie et plantes médicinales</b>	
<b>I. Phytothérapie</b>	<b>5</b>
<b>II. Plantes médicinales</b>	<b>5</b>
<b>III. Métabolites secondaires</b>	<b>7</b>
<b>1. Alcaloïdes</b>	<b>7</b>
<b>2. Terpènes</b>	<b>8</b>
<b>3. Phénols</b>	<b>8</b>
<b>3.1 Classification des composés phénoliques</b>	<b>8</b>
<b>3.2 Activités biologiques des polyphénols</b>	<b>9</b>
<b>3.2.1 Activité antimicrobienne des polyphénols</b>	<b>10</b>
<b>3.2.2 Activité anti-inflammatoire des polyphénols</b>	<b>10</b>
<b>3.2.3 Activité Antioxydant des polyphénols</b>	<b>11</b>
<b>Chapitre II</b>	
<b>Plante étudiée <i>Curcuma longa. L</i></b>	
<b>I. Description</b>	<b>14</b>
<b>I.1 Botanique</b>	<b>14</b>
<b>I.2 Géographique</b>	<b>15</b>
<b>II. Position systématique de la plante</b>	<b>15</b>
<b>III. Composition chimiques</b>	<b>15</b>
<b>IV. Utilisations</b>	<b>17</b>
<b>1. Utilisation alimentaire</b>	<b>17</b>
<b>2. Utilisation médicinale</b>	<b>17</b>
<b>3. Utilisation cosmétique</b>	<b>17</b>

<b>Partie Expérimentale</b>	
<b>Chapitre III</b>	
<b>Matériel et Méthodes</b>	
<b>I. Matériel</b>	<b>21</b>
<b>I.1 Matériel végétal</b>	<b>21</b>
<b>I.2 Miel naturel</b>	<b>22</b>
<b>I.3 Souches bactériennes à tester</b>	<b>23</b>
<b>I.4 Matériel du laboratoire</b>	<b>23</b>
<b>II. Méthodes</b>	<b>23</b>
<b>II.1 Extraction des composés phénoliques à partir de la plante</b>	<b>23</b>
<b>II.2 Calcul du rendement en extrait sec</b>	<b>24</b>
<b>II.3 Dosage des polyphénols totaux</b>	<b>24</b>
<b>II.4 Dosage des Flavonoïdes totaux</b>	<b>24</b>
<b>II.5 Evaluation des activités biologiques</b>	<b>25</b>
<b>II.5.1 Teste de l'activité antibactérienne</b>	<b>25</b>
<b>II.5.2 Test de l'activité antioxydante</b>	<b>27</b>
<b>II.5.3 Test de l'activité anti-inflammatoire</b>	<b>29</b>
<b>II.6 Etude statistique</b>	<b>32</b>
<b>Chapitre IV</b>	
<b>Résultats Et discussion</b>	
<b>I. Rendement</b>	<b>34</b>
<b>II. Teneurs en composés phénoliques</b>	<b>35</b>
<b>II.1 Polyphénols totaux</b>	<b>35</b>
<b>II.2 Flavonoïdes totaux</b>	<b>36</b>
<b>III. Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique du Curcuma longa et du mélange</b>	<b>38</b>
<b>III.1 Méthode de diffusion en puits</b>	<b>38</b>
<b>III.2 Détermination de la CMI par micro dilution sur microplaque</b>	<b>40</b>
<b>IV. Activité antioxydante</b>	<b>42</b>
<b>V. Activité anti inflammatoire in vitro</b>	<b>44</b>
<b>Conclusion</b>	<b>49</b>
<b>Références Bibliographique</b>	<b>51</b>

## Liste Des Tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Page</b>
Tableau 01 : Exemples de quelques plantes médicinales très utilisées en phytothérapie (Encyclopédie of Medicinal Plants 2nd Edition)	<b>06</b>
Tableau 02 : Classification des composés phénoliques (Macheix et al., 2005)	<b>09</b>
Tableau 03 : Valeurs nutritionnelles et énergétique du Curcuma Longa L (Shahide, 2016)	<b>17</b>
Tableau 05 : Caractéristiques de l'extrait polyphénolique obtenu	<b>34</b>
Tableau 06 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'extrait polyphénolique brut et de la poudre mélangée avec du miel naturel de la plante Curcuma longa	<b>39</b>
Tableau 07 : Résultats des CMI obtenues par la méthode de micro dilution sur micro plaque de l'extrait polyphénolique et de la poudre mélangée avec du miel naturel de la plante Curcuma longa	<b>41</b>
Tableau 08 : Valeurs des IC50 de l'extraits méthanolique de la plante Curcuma longa et du mélange ainsi que de l'antioxydant standard (acide ascorbique).	<b>44</b>

## Liste Des Figures

<b>Figure</b>	<b>Page</b>
Figure 01 : Les différentes parties de la plante <i>Curcuma longa</i> L. (Jourdan, 2015)	14
Figure02 : préparation du matériel végétal (original)	22
Figure03 : Zone forestière de la commune de Berrahal à côté du Lac Bleu	22
Figure 04 : Etapes d'extraction des composés phénoliques (original)	23
Figure 05 : mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant (AH) (Michel, 2011)	27
Figure 06 : Test de Piégeage du radical libre DPPH	28
Figure 07 : Méthode de dénaturation de l'albumine BSA	30
Figure 08 : Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges	32
Figure9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	35
Figure 10 : Teneurs en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique et du mélange (poudre + miel) du <i>Curcuma longa</i>	36
Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la quercétine	36
Figure 12 : Teneurs en flavonoïdes totaux de l'extrait méthanolique et du mélange du <i>curcuma longa</i>	37
Figure 13 : Activité anti radicalaire de l'extrait méthanolique et du mélange avec le miel de la plante <i>Curcuma longa</i> et l'antioxydant standard acide ascorbique.	43
Figure 14 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA par l'extrait méthanolique de la plante <i>Curcuma longa</i> , le mélange et acide ascorbique	45
Figure 15 : Pourcentage de la stabilisation de la membrane des globules rouge par l'extrait méthanolique de la plante <i>Curcuma longa</i> , le mélange et acide ascorbique	46

## Liste Des Abréviations

BMH	Bouillon de Mueller-Hinton
BSA	Albumine sérique bovine
CMI	Concentration minimale inhibitrice
DMSO	Diméthyle Sulfoxyde
DO	Densité optique
GN	Gélose nutritif
Rdt	Rendement
T –	Témoin négative
T+	Témoin positive

# **Introduction**

La phytothérapie, ou thérapie par les plantes, est une discipline millénaire qui consiste à utiliser les extraits des plantes pour prévenir, soulager ou traiter diverses affections. Elle repose sur l'usage de composés bioactifs naturels issus du règne végétal, notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes ou encore les terpènes, qui possèdent une grande variété d'activités pharmacologiques. **(Gonzales et al., 2010)** À l'ère des biothérapies et de la médecine de précision, la phytothérapie demeure une alternative ou un complément crédible à la pharmacopée moderne, particulièrement face à la recrudescence des résistances microbiennes et au besoin croissant de solutions naturelles, efficaces et mieux tolérées. Son intérêt grandissant est aussi porté par la recherche scientifique, qui cherche à valider empiriquement les effets thérapeutiques observés depuis des siècles dans les pratiques traditionnelles.

Plus de 35 000 espèces végétales sont recensées à travers le monde pour leurs usages thérapeutiques, constituant ainsi une richesse majeure de la biodiversité exploitée à des fins médicinales, **(Farnsworth et al., 1985)** Malgré les avancées en médecine conventionnelle, les plantes médicinales conservent une place centrale dans les soins primaires, en particulier dans les zones rurales ou à faible accès aux soins modernes. **(Elqaj et Belghyti, 2013)** Elles continuent également de fournir des molécules bioactives prometteuses pour la recherche pharmaceutique.

En Algérie, l'usage des plantes médicinales remonte à l'Antiquité, notamment chez les Berbères. Ces pratiques se sont enrichies au fil des siècles avec l'apport des Arabes, qui ont introduit un savoir médical raffiné dès le VIIe siècle.

Parmi les plantes d'intérêt croissant dans les recherches récentes figure le *Curcuma longa L.*, une épice ancestrale originaire du sud de l'Asie, et notamment de l'Inde, où elle est utilisée depuis plus de 4000 ans pour ses propriétés culinaires, médicinales et cosmétiques. **(Penso, 1986 ; Perry, 2008)** Le curcuma, également introduit en Europe dès le VIe siècle par les navigateurs et mentionné par les moines dans leurs manuscrits, est aujourd'hui étudié pour ses puissants effets antioxydants, anti-inflammatoires, et antimicrobiens. Ces propriétés sont majoritairement attribuées à la curcumine et aux autres composés phénoliques et flavonoïques qu'il renferme. **(Liu, 2003 ; Cole et al., 2005)**

Dans le contexte algérien, où les épices sont principalement connues pour leur usage culinaire, leur potentiel thérapeutique demeure sous-exploité malgré la richesse du savoir traditionnel. **(Bourgaud et al., 2001)** D'où l'importance d'étudier des espèces comme *Curcuma longa L* afin d'explorer leurs bienfaits biologiques dans un cadre scientifique rigoureux. C'est dans ce cadre que nous nous sommes intéressés à ce travail qui consiste à mettre en évidence l'activité

## *Introduction*

---

antibactérienne, anti inflammatoire et anti oxydante des composés phénoliques extraits des rhizomes secs de la plante médicinale *Curcuma longa L.*

**Partie**  
**Bibliographique**

# Chapitre I

*Phytothérapie et plantes  
médicinales*

## I-Phytothérapie

La phytothérapie est l'art d'utiliser les plantes pour se soigner. Du grec « phyton » qui signifie plante et « therapein » qui signifie soigner. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) définit la phytothérapie comme une pratique qui comprend des herbes, des matières végétales, des préparations à base de plantes et des produits finis à base de plantes, qui contiennent comme ingrédients actifs des parties de plantes, ou d'autres matières végétales, ou des combinaisons, destinée à prévenir et traiter des troubles fonctionnels et des états pathologiques bénins par des plantes médicinales dénuées de toxicité dans les conditions normales d'utilisation. **(Sahpaz, 2019)**

On distingue à l'heure actuelle, deux concepts distincts :






**-Phytothérapie moderne :** Il s'appuiera sur des connaissances biochimiques et cherchera à soulager les symptômes grâce à des principes actifs identifiés, des tests cliniques et des ingrédients dans les plantes médicinales. Elle utilisera principalement des produits d'origine végétale obtenus par extraction et la présentera comme toute autre spécialité pharmaceutique. **(Moreau, 2003)**


**-Phytothérapie dite « traditionnelle » :** C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines peuvent parfois être très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Elles concernent notamment les pathologies saisonnières depuis les troubles psychosomatiques légers jusqu'aux symptômes hépatobiliaires, en passant par les atteintes digestives ou dermatologiques. **(Prescrire, 2007)**

## II- Plantes médicinales

Depuis des millénaires, les plantes médicinales sont utilisées par les civilisations humaines pour traiter divers maux et préserver la santé. Une plante est qualifiée de médicinale lorsqu'elle figure dans une pharmacopée officielle et que son usage est reconnu à des fins curatives, préventives ou palliatives, agissant sur des troubles d'ordre physique, physiologique ou émotionnel. Le concept de plante médicinale peut être défini de façon simple : il s'agit d'une plante dont au moins une partie (racine, feuille, fleur, écorce, etc.) possède des propriétés pharmacologiques et peut être utilisée comme remède naturel. L'efficacité thérapeutique de ces plantes repose essentiellement sur la présence de métabolites primaires et surtout de métabolites secondaires mais aussi sur la synergie entre leurs différents constituants bioactifs. **(Moreau, 2003)**

**Tableau 01** : Exemples de quelques plantes médicinales très utilisées en phytothérapie  
(Encyclopédie of Medicinal Plants 2nd Edition)

Plantes médicinales	Nom scientifique	Partie utilisé	Effet thérapeutique
 Safran	<i>Crocus sativus</i> L.	Stigmate	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Provoquer les règles,</li> <li>•Soulager la douleur.</li> <li>•Traiter les saignements utérins chroniques,</li> <li>•Soigner l'indigestion et les coliques</li> </ul>
 Romarin	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Feuille 1, sommité fleurie	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Cicatrisant</li> <li>•Astringent</li> <li>•Stimule la sécrétion biliaire</li> <li>•Anti-inflammatoire</li> <li>•Antioxydant</li> </ul>
 Curcuma	<i>Curcuma domestica</i> Vahl ( <i>C. longa</i> L.)	Rhizome	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Stimule les sécrétions biliaires</li> <li>•Anti-inflammatoire</li> <li>•Soulage les douleurs de l'estomac</li> <li>•Antioxydant</li> <li>•Antibactérienne</li> </ul>
 Aloès des Barbade	<i>Aloe barbadensis</i> Mill. ( <i>A. vera</i> L.)	Feuille (suc d'aloès)	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Soigne les plaies</li> <li>•Emollient</li> <li>•Stimule les sécrétions biliaires</li> <li>•Laxatif</li> </ul>
 Sauge officinale Sauge	<i>Salvia officinalis</i> L.	Feuille	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Antiseptique</li> <li>• Clarifie les bronches</li> <li>• Facilite la digestion gastrique</li> <li>• Régularise le cycle menstruel</li> <li>• Tonique</li> </ul>

 <p>Camomille</p>	<p><i>Tanacetum parthenium L.</i></p>	<p>Partie aérienne</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Anti-inflammatoire</li> <li>•Antiallergiques</li> <li>•Antispasmodique</li> <li>•Relaxant</li> <li>•Favorise l'expulsion des gaz</li> </ul>
--	---------------------------------------	------------------------	---

### III-Métabolites secondaires

Les métabolites sont des composés chimiques synthétisés naturellement par les organismes vivants (plantes, animaux, micro-organismes) au cours de leur métabolisme cellulaire. Ils peuvent être de nature simple (acides aminés, sucres) ou complexe (alcaloïdes, flavonoïdes), et participent à une large variété de fonctions biologiques. En fonction de leur implication dans les processus vitaux, on les classe en deux grandes catégories : les métabolites primaires et les métabolites secondaires. **(Dixon, 2001)**

Les métabolites Primaires sont indispensables à la croissance, au développement et à la reproduction des cellules vivantes. Ils interviennent directement dans les voies métaboliques centrales telles que la glycolyse, le cycle de Krebs, la photosynthèse et la biosynthèse des protéines, des lipides et des acides nucléiques. Parmi eux, on retrouve les acides aminés, les sucres simples, les nucléotides, les acides gras et certaines vitamines. **(Bourgaud et al., 2001)**

Alors que les métabolites secondaires ne sont pas directement impliqués dans les fonctions vitales de base, mais ils confèrent à l'organisme des avantages adaptatifs essentiels à la survie dans un environnement changeant. Chez les plantes en particulier, ces composés participent à la défense contre les agressions biotiques (herbivores, bactéries, champignons) et abiotiques (UV, sécheresse, métaux lourds), à la signalisation inter-espèce, à la coloration des fleurs (pollinisation) et à l'attraction des symbiotes. Ils sont souvent spécifiques à une espèce ou à un groupe taxonomique, et leur biosynthèse est généralement induite par des stress environnementaux. **(Memelink, 2000)**

Ils sont classés en trois grandes catégories :

#### 1. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés chimiques hétérocycliques contenant de l'azote, qui sont produits par les plantes pour se protéger contre les prédateurs et les maladies. Ils sont des structures chimiques complexes, qui comprennent souvent des cycles et des chaînes latérales. Ils ont des effets

pharmacologiques divers, tels que des effets stimulants, sédatifs, antalgiques ou anti-inflammatoires. **(Dewick, 2009)**

## 2. Terpènes

Les terpènes sont des composés chimiques qui sont produits par les plantes à partir de l'isoprène, un composé organique volatil. Ils ont des structures chimiques complexes, qui comprennent souvent des cycles et des chaînes latérales. Ils ont des effets pharmacologiques divers, tels que des effets anti-inflammatoires, antioxydants ou antimicrobiens. **(Harborne, 1993)**

## 3. Phénols



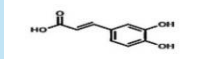
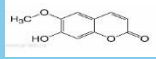
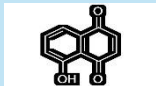
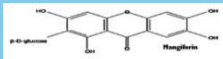
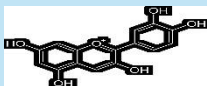
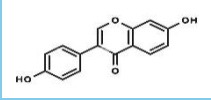
Les composés phénoliques constituent probablement le plus grand groupe de métabolites secondaires végétaux. Ils partagent la présence d'un ou plusieurs groupes phénols " groupe hydroxyle (-OH) lié directement à un noyau aromatique (cycle benzénique)"ils peuvent exister sous forme simple (comme l'acide caféique) ou sous forme polymérisée (comme les tanins). **(Rice-Evans, 2001)** Les phénols sont réactifs envers les agents oxydants, les halogènes et les acides forts, et peuvent subir des réactions de substitution, d'addition et d'oxydation. **(Clayden et al., 2012)** Ils sont très répandus dans les plantes où ils contribuent de manière significative à la couleur, au goût et à la saveur de nombreuses herbes, aliments et boissons.

### 3.1. Classification des composés phénoliques

Ils peuvent être regroupés en de nombreuses classes suivant la complexité du squelette de base (noyau C6), le degré de modification de ce squelette (oxydation, hydroxylation...) et enfin suivant les molécules auxquelles ils sont associés (glucides, Lipides, protéines, autres métabolites). **(bénard, 2009)**

Le tableau suivant présente les différents classes des composés phénoliques

**Tableau 02 : Classification des composés phénoliques (Macheix et al., 2005)**

COMPOSÉS PHÉNOLIQUES				
Squelette de base	CLASSE	EXEMPLE	STRUCTURE	ORIGINE
C6	Phénols simples	Catéchol		Busserole
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	P-Hydroxybenzoïque		Epices, fraise
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	Acide Caféique		Pomme de terre
	Coumarines	Scopolétole		Citrus
C6-C4	Naphtoquinones	Juglone		Noix
C6-C1-C6	Xanthones	Mangiférine		Mangue
C6 -C3-C6	Flavonoïdes	Quercétol, cyanidol		Fruits, légumes
	Iso-flavonoïdes	Daidzeine		Soja, pois
(C6-C3) n	Lignines	/	/	Fruits à noyau
(C15) n	Tanins	/	/	Raisin rouge, Kaki

### 3.2. Activités biologiques des polyphénols

Les composants phénoliques sont des molécules biologiquement actives, ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicalaires, antimicrobiens. (Djemai, 2008)

### 3.2.1. Activité antimicrobienne des polyphénols

Un agent antibactérien est un agent qui inhibe la croissance bactérienne ou tue les bactéries. L'activité antibactérienne s'exerce de 2 manières différentes :

- **Activité létale bactéricide** : qui provoque la mort de la bactérie.
- **Activité inhibitrice ou bactériostatique** : empêche la croissance du micro-organisme. **(Beloud, 2003)**

D'une manière générale, l'action se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne qui provoque une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, arrêté la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction de matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie. **(Burt, 2004)**

Les polyphénols ont attiré une grande attention en raison de leurs activités antimicrobiennes. **(Daglia, 2012)** La majorité de ces composés sont capables de supprimer plusieurs facteurs de virulence microbiens tels que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhérence des ligands aux cellules hôtes, et la neutralisation des toxines bactériennes. De plus, ils montrent souvent un effet synergique avec les antibiotiques conventionnels.

Les flavonoïdes, par exemple, exercent leur activité antimicrobienne en formant des complexes avec des protéines extracellulaires solubles ou avec des composants des parois cellulaires bactériennes. Les flavonoïdes hautement lipophiles peuvent également perturber les membranes cellulaires des micro-organismes. **(Negi et al., 2008)**

Quant aux acides phénoliques, leur activité antimicrobienne est principalement due à la diffusion d'acides non dissociés à travers la membrane cellulaire, provoquant ainsi l'acidification du cytoplasme et, dans certains cas, la mort cellulaire. Les propriétés lipophiles, ainsi que des facteurs structuraux tels que les groupes hydroxyle, méthoxyle et la saturation de la chaîne latérale, influencent considérablement cette activité. **(Negi et al., 2008)**

### 3.2.2. Activité anti-inflammatoire des polyphénols

Les anti-inflammatoires sont définis comme étant des substances qui agissent sur la douleur et le gonflement provoqués par l'agression d'un agent pathogène. Ils bloquent la sécrétion ou l'action

de certains médiateurs chimiques de l'inflammation, comme les prostaglandines, réduisant ainsi la sensation de douleur ainsi que l'inflammation elle-même. **(Orliaguet et al., 2013)**

L'activité anti-inflammatoire des composés phénoliques a été démontrée dans de nombreuses études *in vitro* et *in vivo*. **(Santangelo, 2007)** Ils expriment leur activité anti-inflammatoire en modulant l'expression des gènes pro-inflammatoires tels que COX, LOX, la synthase de l'oxyde nitrique (NO synthase) ainsi que plusieurs cytokines. **(Capiralla, 2012)** De plus, les flavonoïdes, un sous-groupe important de polyphénols, peuvent inhiber différentes étapes de la réponse inflammatoire, depuis l'augmentation de la perméabilité vasculaire dans les phases précoces jusqu'à la formation de tissu de granulation. Ils peuvent empêcher la libération des médiateurs pro-inflammatoires tels que l'histamine, les dérivés lysosomales, ainsi que les produits des basophiles, cellules mastocytaires et neutrophiles. Certains flavonoïdes modulent aussi la fonction lymphocytaire, influençant ainsi la réponse immunitaire. **(Hajjaj, 2017)**

### 3.2.3. Activité Antioxydant des polyphénols

Un agent antioxydant est une substance, naturelle ou synthétique, capable de neutraliser ou d'inhiber les effets néfastes des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et d'autres radicaux libres générés dans l'organisme. Il agit principalement en donnant un électron ou un atome d'hydrogène à ces espèces instables, les stabilisant ainsi et empêchant leur propagation dans des réactions en chaîne d'oxydation. Cette action permet de protéger les biomolécules cellulaires essentielles telles que les lipides, les protéines et l'ADN contre les dommages oxydatifs. **(Apak et al., 2007 ; Tsao, 2010)**

Les radicaux libres, en particulier les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les espèces réactives de l'azote (RNS), sont des sous-produits normaux du métabolisme cellulaire, mais leur accumulation excessive est toxique et provoque du stress oxydatif. Les sources peuvent être endogènes (mitochondries, inflammation, enzymes oxydases) ou exogènes (pollution, tabac, rayons UV, métaux lourds). **(Pham-Huy et al., 2008)**

Le stress oxydatif correspond à une situation de déséquilibre entre la production excessive de radicaux libres et la capacité de défense antioxydante de l'organisme. Ce déséquilibre engendre des dommages sur les lipides, les protéines, l'ADN, et perturbe le fonctionnement cellulaire normal, contribuant à l'apparition de nombreuses maladies dégénératives. **(Valko et al., 2007)**

Les composés phénoliques sont de puissants antioxydants capables de neutraliser les radicaux libres par « don d'un électron ou d'un atome d'hydrogène ». Leur structure, riche en groupes hydroxyle, leur permet de réagir avec les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS), interrompant ainsi la génération de nouveaux radicaux. La forme radicalaire formée est plus stable

que le radical initial, grâce à la « délocalisation des électrons » sur le noyau aromatique. De plus, les polyphénols « chélatent les ions métalliques » ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^+$ ) impliqués dans la production des radicaux libres. Cependant, ils peuvent parfois agir comme « pro-oxydants ». (Laughton, 1989 ; Apak, 2007)

Les principaux mécanismes d'action des polyphénols sont :

➤ **Inhibition enzymatique**

Grâce à leurs multiples groupes phénoliques, les polyphénols interagissent fortement avec les protéines, pouvant entraîner leur précipitation (utilisée dans le tannage du cuir). (Handique et al., 2002)

Des études in vitro ont montré que, par exemple, la quercétine inhibe l'oxydation de l'acide linoléique par une lipoxygénase non pas en complexant le fer, mais par liaisons covalente entre l'enzyme et les dérivés oxydés de la quercétine. (Chebil, 2006 ; Rolo et al., 2009)

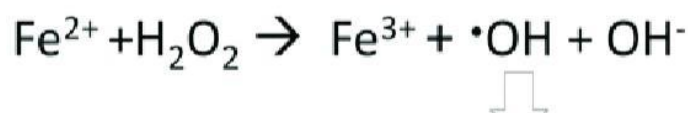
➤ **Piégeage des radicaux libres :**

Les composés phénoliques interrompent les réactions en chaîne oxydatives par un mécanisme de « don rapide d'un atome d'hydrogène », formant des radicaux phénoxy stables par résonance. (Sökmen et al., 2012) Les flavonoïdes, surtout les flavanols, sont d'excellents piègeurs grâce à :

- La présence de groupes « 3',4'-dihydroxy » (catéchol) sur le noyau B
- Le « 3-OH » sur le cycle C
- La double liaison « C2-C3 » conjuguée avec le groupe \*4-céto\*, favorisant la délocalisation électronique et donc l'activité antiradicalaire. (Fraga, 2007)

➤ **Chélation des ions métalliques :**

Les polyphénols chélatent le fer ( $\text{Fe}^{2+}$ ) et le cuivre ( $\text{Cu}^+$ ), empêchant leur participation à des réactions pro-oxydantes telles que la réaction de « Fenton ».



Ainsi, en complexant ces métaux, les polyphénols bloquent leur activité redox. (Pietta, 2000)

# Chapitre II

*Plante étudiée*

« *Curcuma longa. L* »

## I. Description

### I.1. Botanique

*Curcuma longa* L est une plante herbacée touffue, haute de moins d'un mètre. **(Cheikh Ali, 2012)** Les rhizomes se composent de plusieurs parties ; le rhizome commercialisé est le rhizome primaire, il est ovale, allongé, piriforme et communément appelé « ampoule » ou curcuma « rond », les rhizomes secondaires sont plus cylindriques, mesurent 4 à 7 cm de long pour 1 à 1,5 cm de large et sont appelés « doigts », ils sont de couleur jaunâtre à brun-jaunâtre à l'extérieur et jaune ou jaune orange à l'intérieur, leur odeur est aromatique, leur goût chaud et légèrement amer. **(Delaveau, 1987)** La feuille est grande lancéolée, de couleur vert uniforme faisant jusqu'à 50cm de long et 7 à 25cm de large. **(Bruneton, 2009)** Les gaines des feuilles forment un pseudo tige courte, les limbes sont vert foncé au-dessus, vert très clair en dessous, criblés de points translucides. **(Boullard, 2001)** La tige est longue, inflorescence sortant du cœur des feuilles de 12 à 20cm contenant beaucoup de fleurs. Les fleurs blanches, non parfumées, possèdent un calice tubulaire court présent 3 dents inégales, une corolle tubulaire à sa base, puis divisée en 3 lobes jaunes inégaux, un ovaire infère, triloculaire, surmonté d'un style terminé par un stigmate simple et en crochet. **(Itokawa et al., 2008)**

La figure suivante présente la plante du *Curcuma longa*.



**Figure 01** : Les différentes parties de la plante *Curcuma longa* L. **(Jourdan, 2015)**

## I.2. Géographique

L'origine géographique exacte du curcuma est inconnue, mais il y a fort à parier qu'il pourrait être en Asie de Sud-est. La répartition géographique du Genre s'étend de l'Inde à la Thaïlande, l'Indochine, la Malaisie, l'Indonésie et en fin au nord De l'Australie. **(Apavatjirut et al., 1999 ; Velayudhan et al, 1999)** Watt (1972) a signalé qu'il n'y a pas preuves concluantes pour montrer que *Curcuma longa* est originaire de l'Inde, bien que plusieurs espèces de curcuma se trouvent en Inde.

Sa culture s'est répandue dans d'autres pays. Il n'y a pas de littérature documentée disponible sur l'origine et la distribution de l'Afrique et du Sud de l'Amérique. **(Islam, 2004)** Le curcuma est cultivé essentiellement dans les régions tropicales jusqu'à 2000 m mètres d'altitudes. **(Grugeau, 1995)**

## II. Position systématique de la plante

La position systématique de cette plante est comme suit : **(Fournier et al., 1947)**

- ❖ Règne : *Planta*
- ❖ Sous-règne : *Viridiplantae*
- ❖ Infra-règne : *Streptophyta*
- ❖ Classe : *Tracheophyta*
- ❖ Sous-classe : *Spermatophyta*
- ❖ Infra-classe : *Angiospermae*
- ❖ Ordre : *Zingiberales*
- ❖ Famille : *Zingiberaceae*
- ❖ Sous-famille : *Zingiberoideae*
- ❖ Genre : *Curcuma L.*
- ❖ Espèce : *Curcuma longa L.*
- ❖ Nom arabe : *Kurkum*
- ❖ Synonymes : *Curcuma longa, safran des Indes, souchet de Babylone, terremerit*

## III. Composition chimiques

- Glucides ( $\approx 65-70\%$ ) : Le curcuma est majoritairement composé de glucides simples (glucose, fructose, saccharose) et de polysaccharides spécifiques comme l'ukonane A, connus pour leurs propriétés immuno- modulatrices. **(Boukeria et al., 2019 ; Shabani, 2015)**
- Lipides ( $\approx 5-10\%$ ) : Les lipides du curcuma sont constitués principalement d'acides gras tels que l'acide oléique, l'acide linoléique, ainsi que des phytostérols comme le campestérol, le

stigmasterol et le  $\beta$ -sitostérol. Ces composés sont étudiés pour leurs effets anti-inflammatoires et leur rôle dans le métabolisme cellulaire, mais leur contribution reste plus significative dans le domaine de la nutrition que dans l'usage topique. **(Shabani, 2015 ; Boukeria et al., 2019)**

- Curcuminoïdes (8–10%) : Le curcuma contient principalement trois curcuminoïdes : Curcumine ; Déméthoxycurcumine ; Bisdéméthoxycurcumine. « curcumine » possède des propriétés antioxydantes puissantes, ainsi qu'une activité antibactérienne prouvée, notamment contre des souches telles que « *Staphylococcus aureus* » et « *Escherichia coli* ». Elle agit également comme inhibiteur de la COX-2, contribuant ainsi à son effet anti-inflammatoire. **(Aggarwal et al., 2006)**
- Huiles essentielles (1–3%) : Le curcuma contient des terpènes volatils comme le « curcumène », « zingibérène », « caryophyllène », « turmérone » et « curcuménone ».
- Le turmérone est reconnu pour ses propriétés antibactériennes et antifongiques, contribuant à la protection naturelle de la plante contre les agents pathogènes. La curcuménone stimule les fibroblastes et favorise la cicatrisation des tissus. **(Shabani, 2015)**
- Minéraux (5%) : Le curcuma contient du calcium, fer, magnésium, potassium, zinc, qui participent à diverses fonctions biologiques, comme la division cellulaire, la synthèse enzymatique et le métabolisme.
- Vitamines (traces < 1%) : Il contient de faibles quantités de vitamines B1 B2, B3, B9, C et E. Même à l'état de traces, elles participent à la stabilité oxydative de la poudre et peuvent renforcer l'action antioxydante des protéines. **(Boukeria et al., 2019 ; Shabani, 2015)**

Le tableau ci-dessous présente la valeur de ces composés dans 100g de curcuma.

**Tableau 03** : Valeurs nutritionnelles et énergétique du *Curcuma Longa L.* (Shahide, 2016)

Énergie	354kCal	Minéraux		Vitamines	
Eau	11.4g	Calcium	183mg	Vit B1	0.5mg
Protéines	7.8g	Magnésium.	193mg	Vit B2	0.23mg
Lipides	9.9g	Phosphor.	268mg	Vit B3	5.14mg
Glucides	64.9g	Fer.	41.1mg	Vit B6	1.80mg
Fibres	21.1g	Zinc.	44 mg	Vit B9	39mg
Oméga 09	3.12g	Potassium.	2525mg	Vit C	26mg
Oméga 06	0.48g	Manganèse.	7.03mg	Vit E	3.1mg
Oméga 03	1.69g	Cuivre.	603mg	Vit K	13.4mg

#### IV. Utilisations

##### 1. Utilisation alimentaire

Le rhizome est la partie utilisée de la plante. Il réduit en poudre est utilisé entant qu'épice alimentaire pour renforcer la saveur des aliments et les conserver, et on utilise les épices comme aromates, essentiellement végétales, pour l'assaisonnement, la coloration et la conservation des aliments ou des boissons, certaines épices sont aussi utilisées comme suppléments diététiques. (Wichtl et Anton, 2003)

##### 2. Utilisation médicinale

Le *Curcuma longa L* a fait l'objet de préparations thérapeutiques en vertu de ces propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires rapportées à travers les siècles dans différentes parties du monde. On lui attribut même des effets thérapeutiques semblables aux classes de médicaments suivants : Les médicaments anti-inflammatoires, Antidépresseurs (Prozac), Chimiothérapie, Anticoagulants (aspirine), Antidouleur, Médicaments contre le diabète (Metformine), Médicaments contre l'arthrite, Médicaments contre les maladies inflammatoires de l'intestin, Médicaments contre le cholestérol (Lipitor). (Wun, 2003)

##### 3. Utilisation cosmétique

Le *Curcuma* a été utilisé comme un produit de beauté depuis des siècles. Il est un moyen peu coûteux et naturel de traiter plusieurs problèmes de peau, et de cheveux, il est aussi bien utilisé dans

les recettes de grands-mères que dans le commerce sous forme de crèmes, masques, savons, huiles et shampooings. **(Gupta et al, 2013)**

# **Partie**

# **Expérimentale**

# Chapitre III

## *Matériel et Méthodes*

Notre travail consiste à évaluer l'activité anti-inflammatoire, anti-oxydante ainsi qu'antibactérienne des deux échantillons ; le premier c'est des polyphénols extraits de la plante médicinale *Curcuma longa*, le second échantillon est constitué de la poudre de la même plante mélangée avec du miel naturel.

En effet, notre étude expérimentale a été réalisée au niveau de hall de technologie, Faculté des sciences, université 20 aout 1955 Skikda en 2 parties :

- Une 1 ère partie biochimique qui consiste en l'extraction des polyphénols à partir des rhizomes du *Curcuma* puis doser le taux du polyphénol totaux et des flavonoïdes, et tester leur activité anti-oxydante et anti-inflammatoire. Elle a été réalisée au niveau du laboratoire de biochimie.
- Une seconde partie a été consacrée pour tester le pouvoir antibactérien de nos échantillons ; Le miel naturel mélanger avec la poudre et les polyphénols sur cinq souches bactériennes de références)
- Elle a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie.

## I. Matériel

### I.1. Matériel végétal

Ce travail a porté sur les rhizomes secs de la plante médicinale *Curcuma longa* ; est une plante largement reconnue pour ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes. Les rhizomes utilisés dans cette étude ont été achetés auprès d'un herboriste spécialisé, qui les a lui-même importés d'Inde, un pays réputé pour la qualité exceptionnelle de son curcuma. Avant leur utilisation, les rhizomes ont été soigneusement lavés à l'eau claire afin d'éliminer toute impureté, puis séchés dans un environnement sombre et bien aéré, à l'abri de la lumière directe, afin de préserver la stabilité des composés bioactifs. Une fois secs, les rhizomes sont broyés de manière artisanale à l'aide d'un moulin électrique, permettant l'obtention d'une poudre fine utilisée pour la préparation des échantillons.



**Figure02** : préparation du matériel végétal. (original)

## I.2. Miel naturel

Notre échantillon du miel est d'origine multiflore. Il a été collecté le mois de juin en 2024 d'une région située dans l'Ouest de la Wilaya de Annaba, la zone forestière de la commune de Berrahal à côté du Lac Bleu montrée dans la figure ci-dessous, endroit très riche en *Eucalyptus globulus*, *Erica arborea* et de la lavande sauvage (*Lavandula stoechas*).



**Figure03** : Zone forestière de la commune de Berrahal à côté du Lac Bleu (Google Maps)

### I. 3. Souches bactériennes à tester

L'activité antibactérienne de nos échantillons a été testée sur cinq souches bactériennes : quatre à Gram négatif à savoir, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *E. coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC13883 et *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 et une souche à Gram positif ; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Les souches ont été aimablement fournies par le laboratoire de microbiologie faculté des sciences université Badji Mokhtar Annaba où elles ont été conservées à 5C° dans des tubes stériles contenant 10ml de gélose nutritive incliné.

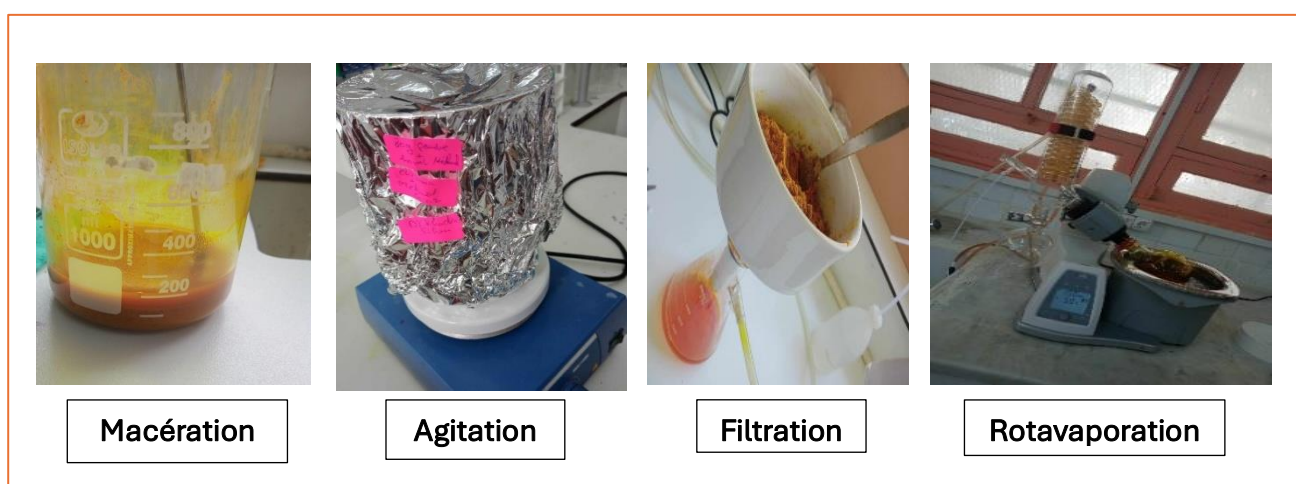
### 1.4. Matériel du laboratoire

L'ensemble des matériels et des produits utilisés dans notre travail seront cités au fur et à mesure de leur utilisation.

## II. Méthodes

### II.1. Extraction des composés phénoliques à partir de la plante

L'extraction des polyphénols totaux a été effectuée par macération de la matière végétale (80g) dans le méthanol pendant 72h sous agitation permanente, avec renouvellement du solvant chaque 24h. Les trois filtrats sont regroupés ensuite sont soumis à l'évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les extraits secs des rhizomes de *Curcuma longa* L obtenus sont récupérés dans des boîtes de pétri jusqu'à leur utilisation.



**Figure 04** : Etapes d'extraction des composés phénoliques. (Original)

## II.2. Calcul du rendement en extrait sec

Pour déterminer le rendement de la plante en extrait sec en calculant le rapport suivant :

- $Rdt (\%) = (P1 - P2 / P3) \times 100$
- P1 : poids du ballon après évaporation.
- P2 : poids du ballon vide avant évaporation.
- P3 : poids de la matière végétale de départ en poudre (80 g).

## II.3. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Wong *et al.*, (2006)

### ➤ Principe de la réaction

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide Phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols dans un milieu basique, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) et de molybdène (Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>). (Robbins, 2003) La coloration bleue ainsi produite est proportionnelle aux taux de composés phénoliques et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

### ➤ Mode opératoire

Il consiste à mélanger 200 µl de l'échantillon (0.5 mg dilué dans 1ml Méthanol) avec 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois diluée dans l'eau distillé). Les solutions ont été mélangées et Incubées pendant 4minutes. Après l'incubation, 800 µl de la solution de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75g /l) a été ajoutée. Le développement d'une couleur bleue est obtenu après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 2 heures. Après incubation, l'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

Le blanc de la réaction ne contenant pas de l'échantillon est réalisé comme le point 0 en µg/ml.

La concentration des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec de l'acide gallique et est exprimée en microgramme (µg) équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg d'EAG/mg d'extrait)

## II.4. Dosage des Flavonoïdes totaux

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) cité par Djeridane *et al.*, (2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes.

### ➤ Principe de la réaction

Cette technique est basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. (Lagnika, 2005)

### ➤ Mode opératoire

Brièvement, 1 ml de chaque échantillon (0.5 mg dissous dans 1ml de Méthanol) a été ajouté a 1ml de solution d'AlCl<sub>3</sub> (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation. Le control négatif contient tout le mélange réactionnel sauf échantillon.

Le résultat est calculé à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec de la quercétine et exprimé en µg équivalent de la quercétine par mg d'extrait.

## II.5. Evaluation des activités biologiques

### II.5.1. Teste de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des polyphénols et du mélange (miel naturel et poudre des rhizomes) de la plante médicinale *Curcuma longa* in vitro a été testée par deux méthodes :

- ❖ La méthode de diffusion en puits.
- ❖ La méthode de micro dilution en milieu liquide (microplaque).

#### a. Méthode de diffusion en puits

Il consiste à réaliser des puits dans la gélose, qui sont par la suite remplis d'extrait à tester. Un gradient de concentration de l'extrait se forme par diffusion à partir du puit. La croissance del'organismed'essai est inhibée à une distance du puit qui est liée à sa sensibilité.

- **Préparation de l'inoculum**

- ✓ **Préparation de pré culture**

Les souches bactériennes à tester sont cultivées dans des boites de Pétri contenant de la gélose nutritive (GN) et incubées pendant 18h à 24h à une température de 37°C, afin d'obtenir une culture jeune et des colonies bien isolées.

### ✓ Préparation de la suspension bactérienne

À partir d'une culture jeune, prélever à l'aide d'un écouvillon 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'écouvillon dans 5 ml d'eau physiologique stérile, agiter manuellement pour bien homogénéiser la suspension bactérienne. La standardisation de la suspension est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 625nm. La densité optique (DO), comprise entre 0.08 et 0.1. (CA-SFM.2013)

#### • Ensemencement

- ✓ La gélose Mueller Hinton (MH) est coulée dans des boîtes de pétri. Après refroidissement et solidification de la gélose, la suspension bactérienne à tester est étalée à la surface du milieu gélosé à l'aide d'un écouvillon.
- ✓ Un puits de 8mm de diamètre a été creusé dans la gélose MH puis rempli par l'extrait (1mg d'extrait dissous dans 1ml de DMSO)
- ✓ Un autre puits témoin dans la même boîte est rempli par le DMSO.
- ✓ Les boîtes de pétri sont ensuite fermées et laissées que l'extrait diffusé à T° ambiante pendant 15min, puis incubées à 37°C pendant 24h. (Ngameni *et al.*, 2009)

#### • Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puits à l'aide d'une règle.

**N.B :** On a opté pour le DMSO pour son innocuité vis-à-vis de microorganisme, et pour l'absence d'interférence avec l'extrait.

### b. Méthode de micro-dilution en milieu liquide

La détermination de la plus petite concentration inhibitrice de la croissance bactérienne (CMI) est réalisée par la technique de micro dilution en milieu liquide, à l'aide d'une microplaque stérile de 96 puits (8 × 12 puits) et une gamme de concentration d'extrait allant de 1 mg/ml à 10<sup>-10</sup>mg/ml.

- ✓ Déposer 5µl de l'extrait et 95 µl du Bouillon Mueller Hinton (BMH) stérile dans le puits 1, ensuite déposer 50µl de BMH stérile dans les puits 2 à 10.

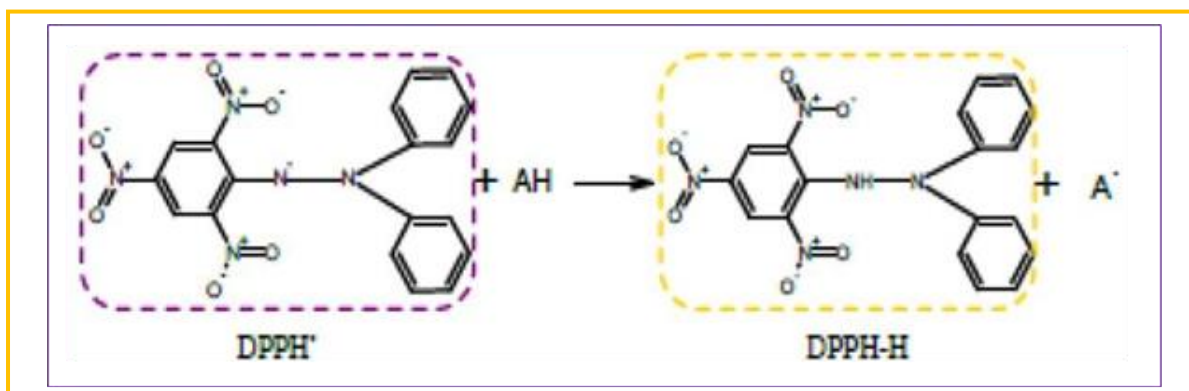
- ✓ Une série de dilution au facteur  $\frac{1}{2}$  a été réalisée dans le BMH à partir de la solution mère du puits1, par le transfert de 50 $\mu$ l de puits en puits jusqu'au puits 10 (le 50 $\mu$ l du dernier puits à jeter). Il faut bien mélanger le contenu des puits.
- ✓ Enfin, déposer 50 $\mu$ l de l'inoculum préalablement préparé dans chaque puits.
- ✓ La 11ème colonne qui contient 92 $\mu$ l de l'inoculum et 8 $\mu$ l DMSO sert de témoin positif. La 12ème colonne de la plaque qui contient uniquement le milieu BMH (100 $\mu$ l) sert de témoin négatif.
- ✓ La micro plaque est incubée à 37 °C pendant 24h.
- ✓ La lecture est effectuée à l'œil nu et la dont la CMI est la plus faible concentration de l'extrait à laquelle aucune trouble n'est observé. (Eloff, 1998)

Chaque deux différents échantillons de bactéries ont été espacés par deux lignes de puits vides.

## II.5.2. Test de l'activité anti-oxydante

### ➤ Principe

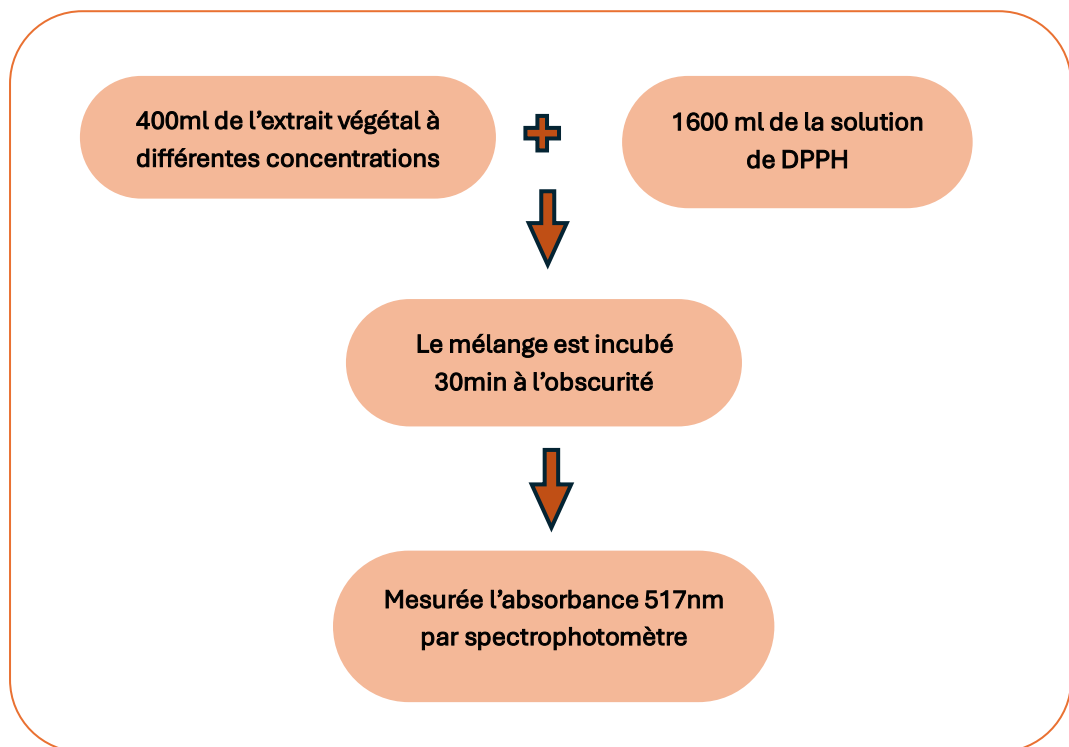
La mise en évidence de l'activité antioxydante in vitro de l'extrait polyphénolique ainsi que du mélange (miel naturel et poudre des rhizomes de la plante médicinale *Curcuma longa*) a été réalisée par une technique chimique en mesurant leurs capacités de piéger le radical libre DPPH•(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil). (Zeghad, 2009) Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine en acceptant un atome avec une transformation de sa couleur violette foncée en jaune lors de sa réduction, la décoloration sera proportionnelle au nombre de protons captés peut être suivie par une lecture d'absorbance à 517nm, elle permet d'évaluer le taux de réduction du DPPH, et fournit un moyen pour mesurer antioxydant de l'extrait étudié. (Gulçin et al, 2010)



**Figure 05** : mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant (AH). (Michel, 2011)

➤ **Mise en œuvre pratique**

La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 10 mg de DPPH dans 250 ml de méthanol (elle ne se conserve pas plus de 4-5 jours à  $-5^{\circ}\text{C}$  et à l'obscurité). Un volume de  $400\mu\text{l}$  de l'échantillon (à différentes concentrations) a été ajouté à  $1600\mu\text{l}$  de la solution de DPPH. Le mélange réactionnel a été agité et incubé 30 min à l'obscurité. Les absorbances ont été mesurées à 517nm contre le blanc (solution DPPH/méthanol)



**Figure 06 :** Test de Piégeage du radical libre DPPH

L'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant synthétique de référence. La capacité de l'antioxydant à piéger le radical libre est estimée en pourcentage de décoloration du DPPH• en solution dans le méthanol.

Le pourcentage d'activité antioxydante a été déterminé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Activité antioxydante} = [\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

**Abs** : Absorbance à la longueur d'onde de 517nm.

Le paramètre EC50 (concentration équivalente à 50% de DPPH perdu) est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH (couleur).

### II.5.3. Test de l'activité anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait végétal et du mélange a été réalisée in vitro en utilisant deux méthodes :

- Méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA).
- Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges.

#### a. Méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA)

##### ➤ Principe

Cette méthode repose sur l'inhibition de la dénaturation des protéines, processus souvent associé à l'inflammation aiguë. Elle est largement utilisée comme modèle de criblage pour tester le potentiel anti-inflammatoire de substances naturelles. (**Mizushima et Kobayashi, 1968**)

##### ➤ Protocol

- ✓ Une gamme de concentration de nos échantillons ainsi que du contrôle positif (diclofénac 100mg) a été préparé à partir d'une solution mère de 1mg/ml dans le DMSO suite à des dilutions successives à raison de ½.
- ✓ 1ml de chaque dilution correspondante est ajouté à 1ml d'une solution aqueuse à 1% de BSA.
- ✓ Le mélange a été incubé pendant 15 minutes à une température ambiante à l'obscurité.
- ✓ Le mélange a été chauffé pendant 10 minutes à une température de 70°C.
- ✓ Laisser refroidir à l'air libre.

- ✓ L'absorbance a été mesurée à 660 nm.
- ✓ Un blanc (DMSO + eau distillée) et un contrôle négatif (BSA+ eau distillée) ont été préparés.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine BSA a été déterminé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti inflammatoire} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] * 100$$



**solution BSA %**



**Gamme de concentration**



**Chauffage 70°C**



**Dénaturation**



**Refroidir à l'air libre**

**Figure 07 : Méthode de dénaturation de l'albumine BSA. (Original)**

**b. Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges****➤ Principe**

Cette méthode repose sur le principe selon lequel l'inflammation est associée à la lyse des membranes cellulaires, et qu'un agent anti-inflammatoire efficace peut inhiber cette lyse, en particulier celle des érythrocytes exposés à des conditions stressantes (chaleur, hypotonicité).

**➤ Protocole**

- ✓ Du sang humain a été prélevé sur un tube héparine pour éviter la coagulation, puis centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 minutes pour séparer le plasma. **(Shinde et al., 1999)**
- ✓ Les globules rouges ont été lavés trois fois (2500 tr pendant 3 min) à l'aide d'une solution saline isotonique (Na Cl 0,9 %) afin d'éliminer les résidus plasmatiques. **(Oyedapo et al., 1995)**
- ✓ Une solution de 10 % d'hématies dans Na Cl (0,9 %) a été préparée et utilisée comme suspension de base.
- ✓ Préparation du mélange réactionnel qui contient :
  - 0,5 ml de la suspension de globule rouge (10%),
  - 0,5 ml de chaque dilution de nos échantillons (extrait, mélange et diclofénac) dont la gamme de concentration a été préparée de la même manière que la méthode précédente)
  - 0,5 ml d'eau distillée
- ✓ Ce mélange a été incubé à 37 °C pendant 30 minutes, puis centrifugé 5 min à 2500 tours.
- ✓ L'absorbance de surnageant a été mesurée à 560 nm
- ✓ Un blanc (DMSO + eau distillée) et un contrôle négatif (solution saline de globule rouge à 10% + eau distillée) ont été préparés.



**Figure 08** : Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges

Le pourcentage d'inhibition de la lyse de la membrane des globules rouges a été déterminé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti inflammatoire} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] * 100$$

### I.6. Etude statistique

Les résultats des tests effectués sont exprimés en Moyenne  $\pm$  SEM par un logiciel (Graph Pad.Prism. V 7.03). Les comparaisons multiples et le taux de signification est déterminée par le test one way ANOVA. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil 0,05 ( $p < 0.05$ ).

# Chapitre IV


*Résultats*

*Et discussion*

## I. Rendement

Le rendement de l'extrait polyphénolique brut obtenu par macération des rhizomes de la plante médicinale *Curcuma longa* est représenté dans le tableau suivant :

**Tableau 05** : Caractéristiques de l'extrait polyphénolique obtenu

Extrait	Couleur	Aspect	Rendement
	Orange foncé	Gel visqueux	8,03%

La couleur orange foncé et l'aspect gel visqueux de l'extrait indiquent une richesse en curcuminoïdes et en composés polyphénoliques, notamment la curcumine, qui est un pigment intense responsable de cette teinte caractéristique. L'aspect gélatineux peut être dû à la présence de polysaccharides ou de mucilages hydrosolubles extraits conjointement avec les composés phénoliques. (Ammon et Wahl, 1991)

Le rendement obtenu par macération méthanolique des rhizomes de *Curcuma longa* dans cette étude est de 6,42 g d'extrait brut à partir de 80 g de poudre sèche, soit un taux de rendement de 8,03 %. Ce résultat s'inscrit dans la plage des rendements rapportés dans la littérature pour des extractions similaires utilisant le méthanol comme solvant.

Par exemple, Mehmood et al. (2021) ont rapporté un rendement de 9,52 % à partir d'une extraction à froid, tandis que Nawaz et al. (2019) ont obtenu un rendement de 11,26 % par macération à température ambiante. De même, Kotha et Luthria (2019) ont observé, selon les conditions opératoires, des rendements méthanoliques variant entre 10 et 12 %. Bien que le rendement obtenu dans notre étude soit légèrement inférieur à ces valeurs, il demeure cohérent avec la variabilité attendue en fonction de plusieurs facteurs tels que la granulométrie de la poudre, la durée de macération, la température et le ratio solvant/matière végétale.

Par ailleurs, en comparaison avec d'autres solvants, notamment l'éthanol, le méthanol tend à fournir des rendements plus élevés dans l'extraction des métabolites polaires du *Curcuma longa*, en particulier les curcuminoïdes. Jayaprakasha et al., (2006) ont, dans une étude comparative, obtenu un rendement de 7,5 % avec l'éthanol à 95 %, contre 10,2 % pour le méthanol dans les mêmes conditions expérimentales. Cette différence est généralement attribuée à la polarité légèrement plus élevée du méthanol, qui améliore sa capacité d'extraction des composés phénoliques.

En somme, le rendement méthanolique obtenu dans ce travail (8,03 %) peut être considéré comme satisfaisant et représentatif d'une extraction efficace, et il témoigne d'une bonne récupération des métabolites secondaires bioactifs présents dans les rhizomes de *Curcuma longa*.

## II. Teneurs en composés phénoliques

L'étude quantitative de l'extrait brut méthanolique des rhizomes du *Curcuma longa* ainsi que le mélange miel naturel et poudre du curcuma au moyen des dosages spectrophotométrique permet de déterminer la teneur totale des polyphénols et des flavonoïdes.

### II.1. Polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux de nos échantillons a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Le taux total des polyphénols a été calculé à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique et exprimé en  $\mu\text{g}$  équivalent d'acide gallique par mg d'extrait ( $\mu\text{g}$  GAE/mg).

Les résultats obtenus sont mentionnés dans la figure (09)

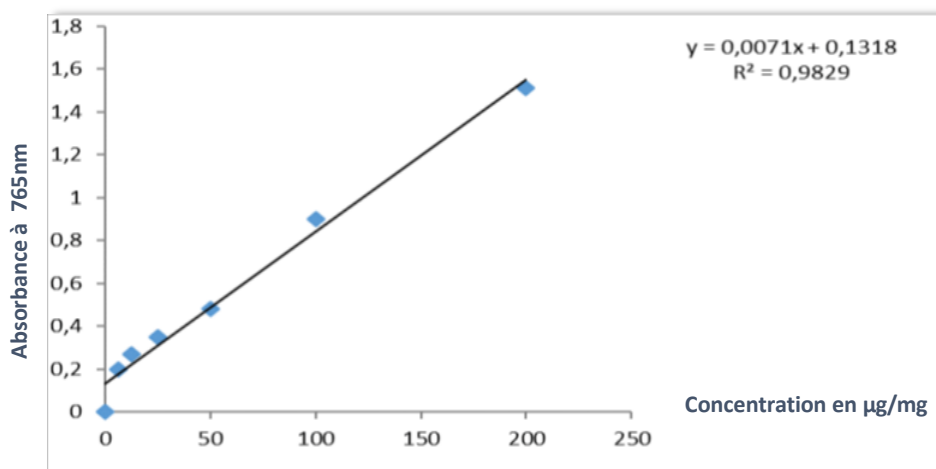
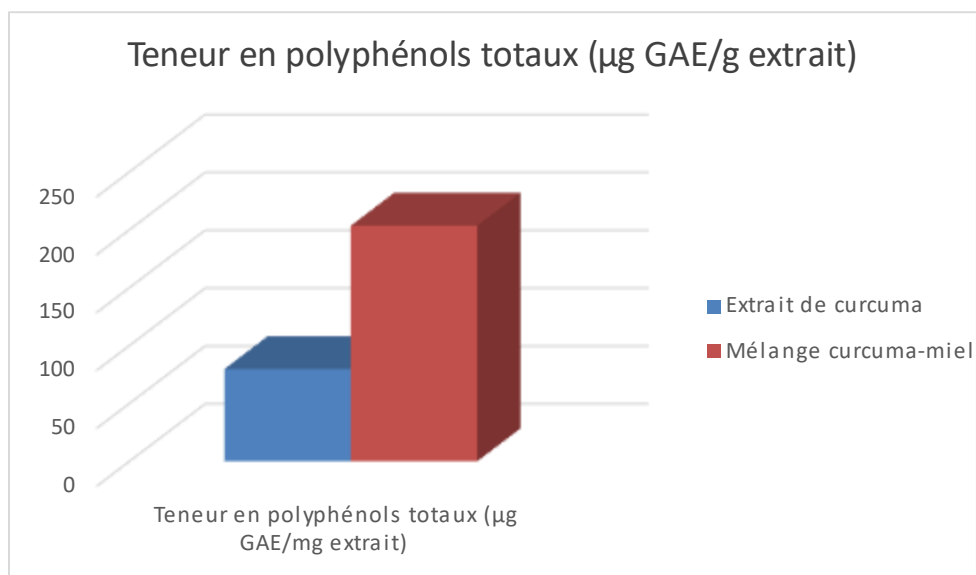


Figure9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

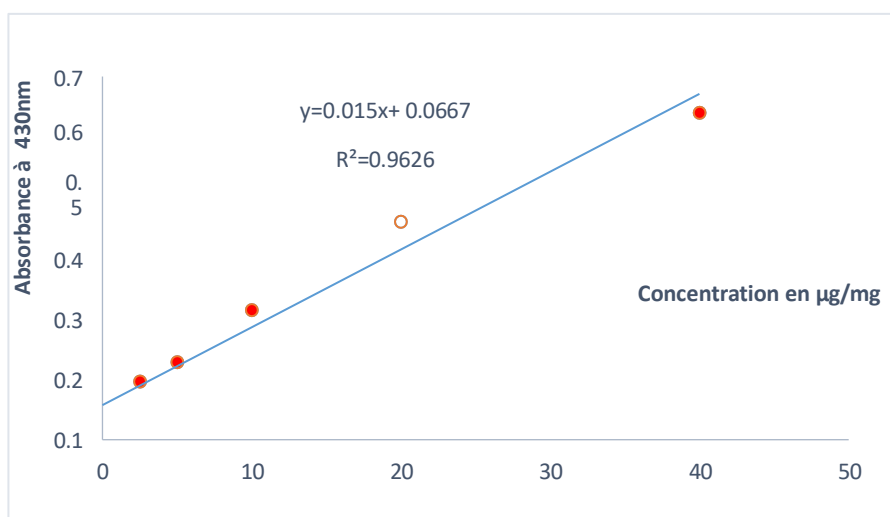


**Figure 10 :** Teneurs en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique et du mélange (poudre + miel) du *Curcuma longa*

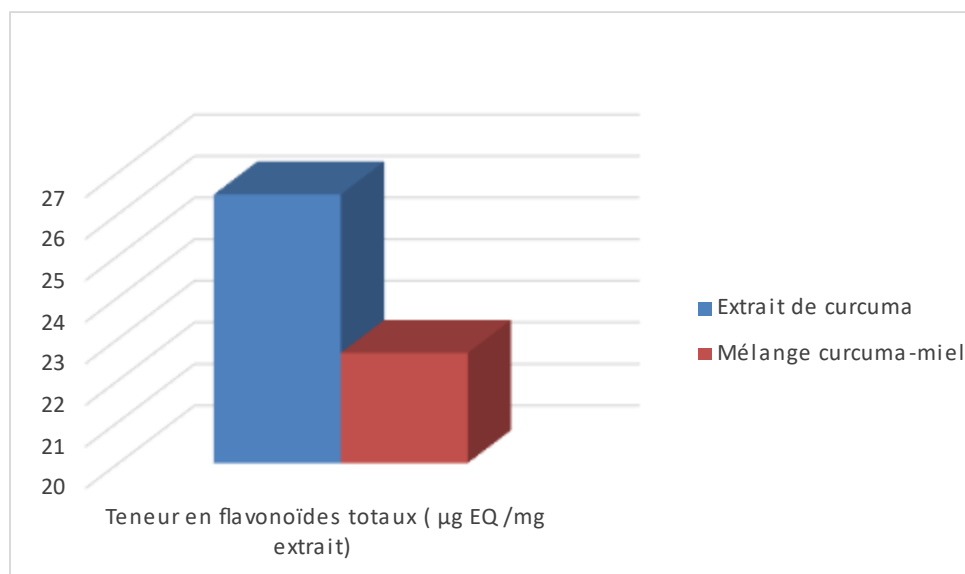
## II.2. Flavonoïdes totaux

La quantité des flavonoïdes a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de Quercétine et exprimés en µg équivalent de quercétine par mg d'extrait (µg QE/mg).

Les résultats obtenus sont mentionnés dans la figure 11



**Figure 11 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine



**Figure 12 :** Teneurs en flavonoïdes totaux de l'extrait méthanolique et du mélange du *Curcuma longa*

L'évaluation quantitative des composés phénoliques totaux dans les échantillons de *Curcuma longa* a révélé une teneur significativement plus élevée en polyphénols dans le mélange curcuma-miel comparativement à l'extrait brut seul. En effet, la teneur en polyphénols totaux exprimée en équivalent acide gallique ( $\mu\text{g GAE/mg}$  extrait) était de  $224,3 \pm 0,03 \mu\text{g GAE/mg}$  pour le mélange contre  $191,6 \pm 0,87 \mu\text{g GAE/mg}$  pour l'extrait seul. Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par Ulewicz-Magulska et Wesolowski (2019), qui ont obtenu une teneur en polyphénols de  $184,5 \text{ mg GAE/g}$  pour un extrait méthanolique de curcuma. Ce résultat peut s'expliquer par la contribution des composés phénoliques présents dans le miel, connu lui-même pour sa richesse en flavonoïdes et autres antioxydants naturels. (Ferreira et al., 2009) La synergie entre les composés du curcuma et ceux du miel pourrait également potentialiser l'extraction et la solubilisation des polyphénols.

Concernant la teneur en flavonoïdes totaux, exprimée en équivalent quercétine ( $\mu\text{g QE/mg}$  d'extrait), l'extrait de *Curcuma longa* présente une teneur de  $26,4 \pm 0,33 \mu\text{g QE/mg}$ , un résultat similaire avec celles rapportés par Maheshwari et al. (2022), où l'extrait méthanolique de *Curcuma longa* contenait environ 25 à 28 mg QE/g de flavonoïdes totaux, confirmant ainsi la richesse de la plante en composés flavonoïques. Alors que le mélange montre une teneur légèrement inférieure de  $22,65 \pm 1,08 \mu\text{g QE/mg}$

Ce résultat suggère que bien que le miel soit riche en phénols, il pourrait diluer ou interférer légèrement avec certains flavonoïdes spécifiques du curcuma. Il est aussi possible que certains flavonoïdes du curcuma soient plus sensibles à l'environnement sucré et à l'effet réducteur du miel.

Globalement, ces résultats confirment que *Curcuma longa* est une source riche en composés antioxydants, principalement en polyphénols et flavonoïdes, et que son association avec le miel peut augmenter certains effets bioactifs par effet synergique, particulièrement en ce qui concerne les polyphénols. (Aggarwal et al., 2007 ; Alvarez-Suarez et al., 2010)

### **III. Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique du *Curcuma longa* et du mélange**

L'activité antibactérienne des polyphénols extrait de la plante médicinale *Curcuma longa* ainsi que du mélange (poudre de la plante et miel naturel) a été évalué sur cinq souches bactériennes de références : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*, par deux méthodes : la méthode de diffusion en puits et la micro dilution dans un Boillon Mueller-Hinton.

#### **III.1. Méthode de diffusion en puits**

La sensibilité des souches bactérienne testées par cette méthode se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des puits. Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 06 :** Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'extrait polyphénolique brut et de la poudre mélangée avec du miel naturel de la plante *Curcuma longa*.

souches bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition (mm)		
	Extrait (Témoin)	Mélange	DMSO
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	14±00	14±0.03	—
<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC14023)	15±0.28	15±0.64	—
<i>Escherchia coli</i> (ATCC25922)	24±0.90	20±0.32	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC13883)	15±1.02	18±0.07	—
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	26±0.43	20±0.69	—

Absence d'inhibition :

Les tests réalisés par la méthode de diffusion en puits ont permis d'évaluer l'effet inhibiteur de l'extrait polyphénolique brut de *Curcuma longa* ainsi que celui de son mélange avec du miel naturel, sur différentes souches bactériennes. Les résultats montrent que l'extrait seul présente une activité antibactérienne variable selon la souche testée, avec une efficacité notable contre *Escherichia coli* ( $24 \pm 0.90$  mm) et surtout *Staphylococcus aureus* ( $26 \pm 0.43$  mm), indiquant une bonne sensibilité de ces bactéries aux composés actifs présents dans le curcuma.

Le mélange avec le miel a entraîné des effets contrastés : un léger renforcement de l'activité a été observé contre *Klebsiella pneumoniae* ( $18 \pm 0.07$  mm contre  $15 \pm 1.02$  mm pour l'extrait seul),

suggérant une possible synergie entre les composés du curcuma et ceux du miel. En revanche, contre *E. coli* et *S. aureus*, l'effet du mélange est inférieur à celui de l'extrait seul, ce qui peut être dû à une dilution des principes actifs ou à une interaction antagoniste. *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhimurium* ont montré une résistance, avec des zones d'inhibition similaires et réduites (14 à 15 mm), ce qui est cohérent avec leur profil de résistance naturelle élevée aux agents antimicrobiens.

L'absence de zones d'inhibition dans les puits contenant le témoin DMSO confirme que l'activité antibactérienne observée est exclusivement due aux extraits testés, et non au solvant utilisé. Ces résultats soulignent le potentiel antibactérien prometteur du curcuma, notamment contre les bactéries Gram-positives, et suggèrent que son efficacité peut être influencée par des interactions avec d'autres substances naturelles comme le miel.

### **III.2. Détermination de la CMI par micro dilution sur microplaque**

L'évaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits de *Curcuma longa* a été réalisée par la méthode de micro dilution en microplaque, qui permet une analyse quantitative plus fine de l'activité antimicrobienne en milieu liquide. Cette méthode consiste à observer, après incubation de 24 h, la présence ou l'absence de croissance bactérienne dans chaque puits, traduite respectivement par un dépôt trouble ou par un aspect clair.

Le tableau ci-dessous représente l'ensemble des concentrations minimales inhibitrices obtenues.

**Tableau 07** : Résultats des CMI obtenues par la méthode de micro dilution sur micro plaque de l'extrait polyphénolique et de la poudre mélangée avec du miel naturel de la plante *Curcuma longa*

Souche	Puits												Echantillon
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 T+	12 T-	
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	Extrait
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	Mélange
<i>P.aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Mélange
<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	Extrait
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Mélange
<i>S.typhimurium</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait
	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Mélange
<i>K.pneumoniae</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Extrait
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Mélange

- CMI      + : Présente de dépôt      - : Absence de dépôt

T+ : Témoin positive

T- : Témoin négative

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique brut et le mélange avec le miel possèdent une activité inhibitrice significative vis-à-vis de certaines souches bactériennes.

La souche *Salmonella typhimurium* présente la plus petite sensibilité, avec une CMI observée dès le puits 1 pour l'extrait et pour le mélange, traduisant une faible efficacité antibactérienne. Une activité similaire a été notée contre *Klebsiella pneumoniae* pour l'extrait, avec une augmentation de l'effet inhibiteur pour le mélange (CMI observée dès le puits 3), (Ferreira et al., 2009 ; Wang et al., 2020) Cela met en évidence la complexité des interactions dans les mélanges naturels et souligne l'importance CMI identique pour les deux échantillons, ce qui suggère que le miel n'altère pas l'effet du curcuma dans ce cas.

En ce qui concerne *Escherichia coli*, la CMI a été atteinte au puits 5 pour l'extrait et au puits 4 pour le mélange, ce qui montre une forte sensibilité de cette souche et un lourd renforcement de l'effet par l'association avec le miel. La souche *Staphylococcus aureus* également été inhibée de façon modérée, avec une CMI détectée au puits 5 pour l'extrait et au puits 3 pour le mélange.

En revanche, *Pseudomonas aeruginosa* n'a montré aucune inhibition significative jusqu'au dernier puits testé, traduisant une résistance marquée à l'égard des deux formulations, ce qui est cohérent avec la nature résistante de cette souche aux agents antimicrobiens naturels.

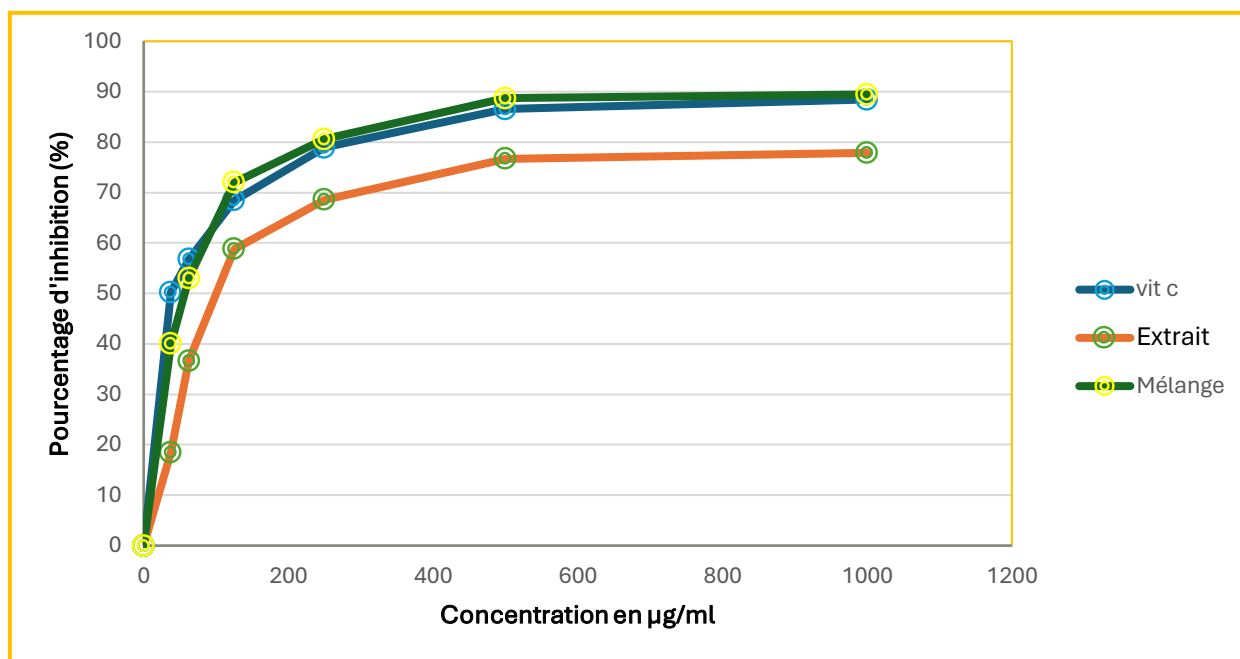
L'ensemble des résultats obtenus à travers les deux approches, à savoir la diffusion en puits et la micro dilution, met en évidence le potentiel antibactérien prometteur de *Curcuma longa*, en particulier sous forme d'extrait méthanolique. Cette activité peut être attribuée à la richesse de cette plante en composés bioactifs, notamment les curcuminoïdes, les polyphénols et certains terpènes, reconnus pour leur capacité à perturber l'intégrité des membranes bactériennes, inhiber certaines enzymes ou interférer avec la synthèse des acides nucléiques. (Aggarwal et al., 2007 ; Daglia, 2012)

La sensibilité variable observée entre les différentes souches testées traduit une spécificité d'action, souvent liée à la structure de la paroi bactérienne : les bactéries Gram-négatives, bien que généralement plus résistantes, ont montré ici une sensibilité marquée dans certains cas, ce qui témoigne de la puissance des principes actifs du curcuma même contre des souches réputées robustes. (Guil-Guerrero et al., 2016)

Par ailleurs, l'association de la poudre des rhizomes du curcuma avec le miel naturel semble moduler cette activité, de manière différente selon les bactéries. Cette variation peut s'expliquer par des interactions physico-chimiques entre les composés des deux substances : le miel, bien qu'il possède lui-même des propriétés antimicrobiennes, peut soit renforcer l'effet du curcuma par synergie (via des effets osmotiques, enzymatiques ou antioxydants), (Cavanagh et Wilkinson, 2002) soit, au contraire, diluer les principes actifs ou altérer leur biodisponibilité.

#### IV. **Activité anti-oxydante**

L'efficacité d'extrait méthanolique de notre plante *Curcuma longa* et de l'acide ascorbique à piéger le radical DPPH•, traduite par le taux d'inhibition (I%) en fonction des différentes concentrations de chaque échantillon, est illustrée dans la (figure 13)



**Figure 13 :** Activité anti radicalaire de l'extrait méthanolique et du mélange avec le miel de la plante *Curcuma longa* et l'antioxydant standard acide ascorbique.

Les résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti radicalaire révèlent que 'l'activité inhibitrice vis-à-vis du radical DPPH de nos échantillons et aussi du standard , augmente progressivement jusqu'à arriver à un plateau qui correspond à l'enrayement presque totale du DPPH présent dans le milieu, en effet, l'acide ascorbique testé et le mélange avec le miel présente un pouvoir anti radicalaire meilleur que l'extrait méthanolique dont ce dernier présente la plus petite activité vis-à-vis du radical DPPH.

Le mélange montré un effet maximal de 89,45% envers le radical DPPH à une concentration de 1000 µg/ml, suivi de l'acide ascorbique avec un effet maximal de 88,45% à la même concentration et en fin arrive l'extrait méthanolique par un effet maximal modéré de 77,87%.

Un autre paramètre est introduit pour mieux caractériser le pouvoir anti-radicalaire ; la concentration effectrice à 50% (EC50 aussi appelée IC50) qui a été déterminée pour chaque échantillon, est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH• (couleur), ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigé pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constituée de méthanol et DPPH•.

Le tableau (08) montre les valeurs IC50 de nos échantillons :

**Tableau 08 :** Valeurs des IC50 de l'extraits méthanolique de la plante *Curcuma longa* et du mélange ainsi que de l'antioxydant standard (acide ascorbique).

Antioxydants	Valeur d'IC50 (µg/ml)
Extrait méthanolique	120± 0,56
Mélange	58±0,04
Acide ascorbique	37±0,23

La valeur d'IC50 est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante d'un composé. En effet, plus elle est faible, plus l'activité anti radicalaire est appréciable.

Le mélange avec le miel et l'acide ascorbique, pris comme antioxydant de référence ont montré une activité anti radicalaire très puissante sur le radical libre DPPH, justifiée par leur valeur d'EC50 les plus basses obtenues expérimentalement qui sont respectivement de 58±0,04 µg/ml et 37±0,23 µg/ml.

Par ailleurs, la grande valeur d'IC50 pour l'extrait méthanolique indique clairement une capacité antioxydante modérée (120± 0,56µg/ml).

Nos résultats sont meilleurs par rapport à ceux menée par Smith et al en 2020 sur le même extrait de la même plante, qui a révélé une valeur de IC50 de 180 µg/ml.

Le pouvoir anti oxydant d'un composé est en relation directe avec sa nature et sa composition chimique, il varie en fonction de la teneur en antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes, acide ascorbiques caroténoïdes, les sucres, acides aminés...etc.), en effet, les flavonoïdes ont toujours un énorme potentiel antioxydant en piégeant ou en décomposant divers molécules impliquées dans la production des radicaux libres (oxygène, ions métalliques, peroxydes) et en complexant les métaux pro-oxydants. (Suznjevic et al, 2011)

## V. Activité anti inflammatoire in vitro

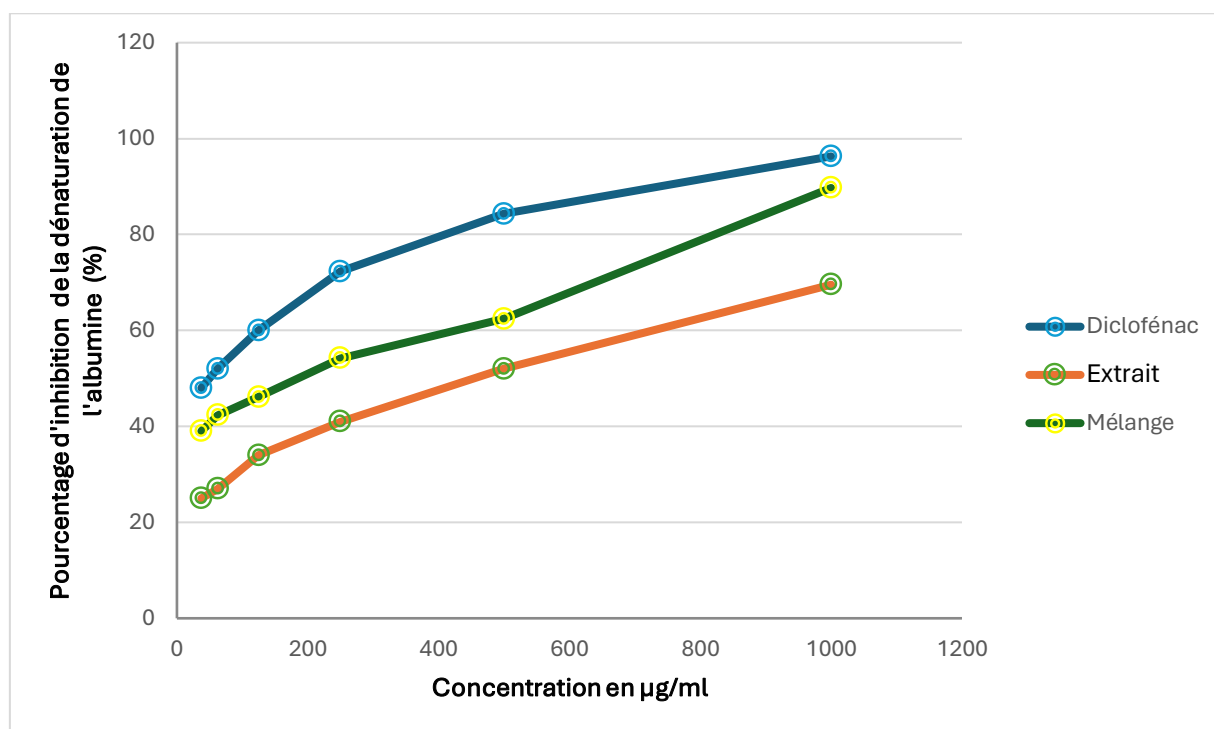
L'étude de l'activité anti-inflammatoire in vitro d'extraits méthanolique du *curcuma longa* et du mélange avec le miel, a été réalisée par deux méthodes ; l'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine sérique bovine et la stabilisation de la membrane érythrocytaire vis-à-vis de l'hémolyse.

### ➤ Inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA)

Cette méthode est basée sur la dénaturation thermique des protéines (BSA). La dénaturation des protéines est l'une des causes de l'inflammation qui conduit à diverses maladies inflammatoires.

Par conséquent, la capacité d'une substance à inhiber la dénaturation des protéines signifie un potentiel apparent d'activité anti-inflammatoire. (Habibur et al., 2015 ; Osman et al., 2016)

La **figure 14** : représente la variation du pourcentage de protection vis-à-vis de la dénaturation thermique du BSA en fonction des différentes concentrations en échantillon. Ces résultats sont comparés à ceux enregistrés par le diclofénac, considérée comme molécule de référence.



**Figure 14** : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA par l'extrait méthanolique de la plante *Curcuma longa*, le mélange et acide ascorbique

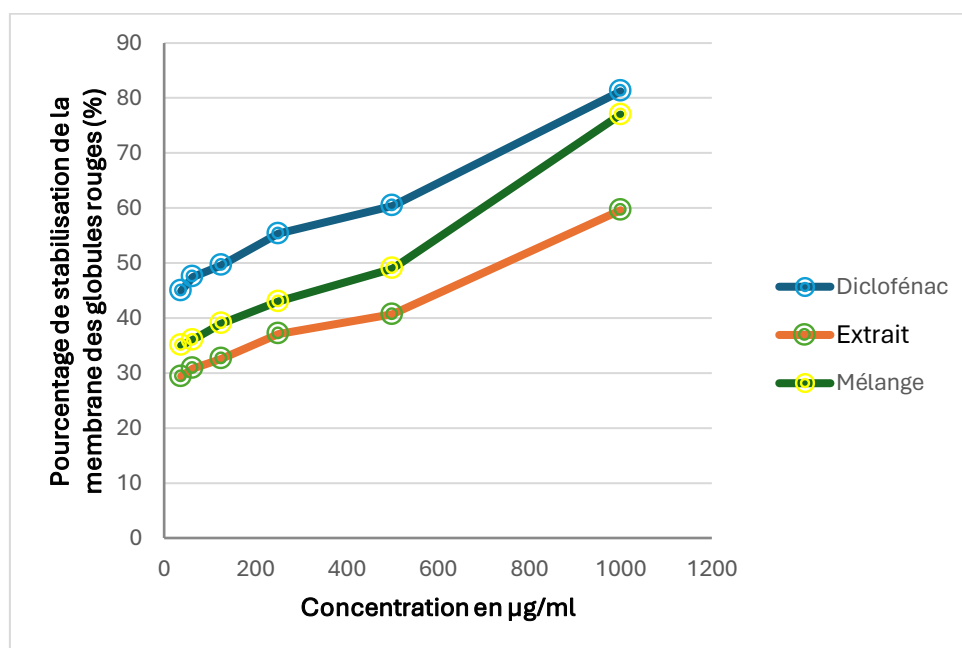
Des solutions de différentes concentrations de l'extrait et du mélange et de l'antiinflammatoire de référence ont été utilisées dans ce test. D'après les résultats, il apparaît qu'il y a une relation proportionnelle entre l'augmentation de la concentration et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA par le diclofénac et par les deux échantillons étudiés.

Nos résultats montrent que le diclofénac a relevé une inhibition de la dénaturation du BSA significativement supérieure à celle des deux échantillons. Pour une concentration de 1mg/ml le diclofénac a relevé un pourcentage d'inhibition maximale de la dénaturation du BSA de 96,3%. Concernant le mélange avec le miel, pour la même concentration, le pourcentage d'inhibition est de 89,71% suivi de l'extrait méthanolique qui est de 69,54%. Le mélange avec le miel a un pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA significativement supérieur et plus considérable par rapport à l'extrait méthanolique du curcuma.

### ➤ Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges

La stabilisation de la membrane des globules rouges a été utilisée comme méthode pour étudier l'activité anti-inflammatoire *in vitro*, car la membrane érythrocytaire est comparable à la membrane lysosomale et sa stabilisation implique que les extraits pourraient bien stabiliser les membranes lysosomales. (Anosike *et al*, 2012) La stabilisation des lysosomes est importante pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant la libération de constituants lysosomaux de neutrophiles activés, tels que les enzymes bactériennes et les protéases, ce qui entraîne une inflammation supplémentaire des tissus et des dommages lors de la libération des cellules supplémentaires et les enzymes lysosomales libérées au cours de l'inflammation produisent divers troubles. (Mekhahli *et al*, 2021)

**Figure 15** : représente la variation du pourcentage de protection vis-à-vis de la stabilisation de la membrane des GR en fonction des différentes concentrations en échantillon. Ces résultats sont comparés à ceux enregistrés par le diclofénac, considérée comme molécule de référence.



**Figure 15** : Pourcentage de la stabilisation de la membrane des globules rouge par l'extrait méthanolique de la plante *Curcuma longa*, le mélange et acide ascorbique

Des solutions de concentrations croissantes ont été testées pour évaluer l'effet stabilisateur de l'extrait méthanolique de *Curcuma longa*, de son mélange avec le miel ainsi que du diclofénac utilisé comme anti-inflammatoire de référence. Le pourcentage de stabilisation des globules rouges, indicateur de l'activité anti-inflammatoire, augmente proportionnellement avec la concentration pour les trois échantillons.

D'après les résultats obtenus, le diclofénac a montré l'effet stabilisateur le plus marqué, atteignant environ 81,22 % à la concentration maximale, ce qui est conforme à son profil pharmacologique en tant qu'anti-inflammatoire non stéroïdien. Toutefois, le mélange curcuma-miel s'est révélé significativement plus efficace que l'extrait seul à presque toutes les concentrations testées. À 1 mg/ml, le mélange a stabilisé les membranes à hauteur de 77,3 %, contre 59,6 % pour l'extrait brut de curcuma, ce qui indique une amélioration notable de l'activité anti-inflammatoire lorsqu'il est combiné avec le miel.

L'ensemble des résultats obtenus par les deux méthodes démontre que *Curcuma longa* possède une activité anti-inflammatoire significative, probablement liée à la richesse de son extrait en curcuminoïdes, flavonoïdes et autres antioxydants naturels. L'efficacité anti inflammatoire du curcuma a été renforcée avec le miel, cette amélioration pourrait être due à des effets synergiques entre les composés phénoliques du curcuma et les flavonoïdes ou autres constituants bioactifs naturellement présents dans le miel, connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires. **(Eteraf et al., 2013)**

Ces données confirment l'intérêt thérapeutique potentiel de *Curcuma longa* comme agent anti-inflammatoire naturel, et ouvrent des perspectives d'utilisation en formulation combinée avec d'autres produits apicoles dans le domaine pharmaceutique ou cosmétique.

# *Conclusion*

L'évaluation des propriétés phyto-thérapeutiques, voire anti-inflammatoire, antioxydante et antibactérienne demeure une tâche très utile et une piste intéressante à explorer ; de ce fait la médecine actuelle remet de plus en plus à l'honneur les plantes médicinales qui sont utilisées depuis longtemps dans presque tous les pays comme remède aux maladies humaines grâce à leur composition riche en molécules biologiquement actives. Cette étude vise à évaluer l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne, d'un extrait obtenu par macération dans le méthanol du *Curcuma longa* et du mélange ; poudre des rhizomes secs de cette plante avec du miel naturel.

L'évaluation quantitative des composés phénoliques par la méthode de Folin-Ciocalteu et l'analyse des flavonoïdes par la méthode  $AlCl_3$  ont montré que le *Curcuma longa* est plus riche en polyphénols et en flavonoïdes que le mélange avec le miel.

L'activité antibactérienne in vitro de l'extrait et de son mélange a été déterminée par la méthode de diffusion en puits et la méthode de détermination de la CMI par micro-dilution par microplaque qui ont montré que l'activité antibactérienne du mélange donnait de meilleurs résultats contre différents types de bactéries par rapport à l'extrait de curcuma seul, en effet, l'association de la poudre des rhizomes du curcuma avec le miel naturel semble moduler cette activité, de manière différente selon les bactéries

Le mélange avec le miel et l'acide ascorbique, pris comme antioxydant de référence ont montré une activité anti radicalaire très puissante sur le radical libre DPPH suivi d'une activité modérée de l'extrait polyphénolique.

Les tests évaluant l'activité anti-inflammatoire in vitro ; le test de dénaturation des protéines BSA et le test de stabilité de la membrane nous ont montré une importante activité anti inflammatoire des échantillons étudiés en comparaison avec celle du médicament anti inflammatoire de référence diclofénac, Cependant, le mélange avec le miel a un pouvoir anti inflammatoire significativement supérieur et plus considérable par rapport à l'extrait méthanolique du curcuma.

D'après les résultats obtenus, on peut dire que l'efficacité thérapeutique du curcuma notamment anti inflammatoire, anti oxydante et anti bactérienne sont renforcée avec le miel, cette amélioration pourrait être due à des effets synergiques entre les composés phénoliques du curcuma et les flavonoïdes ou autres constituants bioactifs naturellement présents dans le miel, connus pour leurs propriétés thérapeutiques.

## *Conclusion*

---

L'ensemble des résultats obtenus constitue une justification scientifique de l'usage traditionnel des plantes étudiées et confirme encore une fois la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement de nombreuses maladies. Toutefois, nos résultats ne constituent qu'une ébauche dans le domaine de recherche et nécessitent des études ultérieures qui devraient être orientées vers l'établissement des posologies efficaces, l'isolement et la caractérisation des molécules ainsi que la recherche des mécanismes d'action d'extrait de *Curcuma longa* et son mélange avec le miel dans le but de corréler les activités pharmacologiques aux constituants chimiques qu'elles renferment.

*Références*  
*Bibliographique*

- Aggarwal B. B., Bhatt I. D., Ichikawa H., Ahn K. S., Sethi G., Sandur S. K, Natarajan C, Seeram N & Shishodia S. (2006). Curcumin biological and medicinal properties.
- Aggarwal, B. B., Sundaram, C., Malani, N., & Ichikawa, H. (2007). \*Curcumin : the Indian solid gold\*. Advances in Experimental Medicine and Biology, 595.
- Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E., & Battino, M. (2010). Contribution of honey in nutrition and human health: A review. \*Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism.3(1),15-23.
- Ammon, H. P. T., & Wahl, M. A. (1991). Pharmacology of Curcuma longa. *Planta Medica,57(01),1-7.*
- Anosike, C. A., Obidoa, O., Ezeanyika, L. U. S., & Nwuba, M. M. (2012). Membrane stabilization as a mechanism of the anti-inflammatory activity of methanol extract of Gardenia aqualla leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 5(6),457-460.*
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., et al. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules, 12, 1496-1547.*
- Apavatjrut P., Anuntalabhochai S., SirirugsaP.,etAlisi C. (1999). Molecular Markers in the Application aux molécules bioactives de l'argousier (Hippophaëhamnoides).
- Assa Y, Shany S, Gestetner B, Tencer Y, Birk Y, Bondi A. (1973). Interaction of alfalfa saponins with components of the erythrocyte membrane in hemolysis. *Biochimica et Biophysica Acta. ;307(1) :83-91.*
- Beloud, A. (2003). Les antibiotiques : mécanismes d'action et résistances. Éditions Office des publications universitaires, Algérie.
- Bènard C. (2009). Etude de l'impact de la nutrition azote et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. Thèse de doctorat en sciences agronomiques. Université de Nancy INPL.
- Boukeria S., Amel B. E. N. B. O. T. T., Kanza K. A. D. I., Debbache K & Gueniche A. (2019). Étude phytochimique et évaluation de l'activité anticoagulante des composés phénoliques du *curcuma longa L.* *Revue des bio ressources, 9(2),18-29.*
- Boullard, B. 2001.Dictionnaire des plantes médicinales du monde : Estem : 174.Chem Res toxicol 16 : P1642-1651.

- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001). "Production of plant secondary metabolites: a historical perspective." *Plant Science*, 161(5), 839–851.
- Bruneton, J. (2009). Composés phénoliques shikimates et acétates In *Pharmacognosie Phytochimie des plantes médicinales*. 3ème Edition. Lavoisier Tec &Doc, Paris : Pp 135-142.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3),223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>.
- Capiralla, H., Vingtdeux, V., Zhao, H., Sankowski, R., Al-Abed, Y., Davies, P., & Marambaud, P. (2012). Resveratrol mitigates lipopolysaccharide- and A $\beta$ -mediated microglial inflammation by inhibiting the TLR4/NF- $\kappa$ B/STAT signaling cascade. *Journal of Neurochemistry*, 120(3),461-472.
- CA-SFM. (2013). Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Sur Le lien : <http://www.sfm.asso.fr/>.
- Cavanagh, H. M. A., & Wilkinson, J. M. (2002). \*Biological activities of honey: Antimicrobial activity\*. *Journal of Wound Care*, 11(7), 260–262.
- Chebil, L. (2006). Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia* : études cinétique, structurale et conformationnelle. Thèse de Doctorat, Institut national polytechnique de Lorraine.
- Cheikh Ali Z. (2012). Études chimiques et biologiques d'*Aframomum sceptrum* (Zingiberaceae) et de la curcumine. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Paris-Sud, 46p.
- Clayden, J., Greeves, N., & Warren, S. (2012). *Organic Chemistry*. 2<sup>e</sup> édition. Oxford : Oxford University Press.
- Daayf F., Lattanzio, V. (2000). *Recent advances in polyphenol research*. Blackwell publishing, Singapore,p :1.
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. \**Current Opinion in Biotechnology*\*, 23(2),174-181.
- Delaveau P. (1987). *Les épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments*. Paris. Albin Michel. pp :130-136.

- Dewick, P. M. (2009). *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. John Wiley & Sons.
- Dixon, R. A. (2001). "Natural products and plant disease resistance." *Nature*, 411(6839),843-847.
- Djemai Zoughlache. (2008). *Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de Zizyphus lotus L, mémoire magister, Université -El Hadj Lakhder –Batna.*
- Djeridane, A.; Yous, M. ;Nadjemi, B. ; Boutassouna, D. ; Stocker, P.etVidal, N. (2006) Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.*97.
- Eloff, J.N. (1998) A Sensitive and Quick Microplate Method to Determine the Minimal Inhibitory Concentration of Plant Extracts for Bacteria. *Planta Medica*, 64, 711–713.
- Elqaj, M., Ahami, A., & Belghyti, D. (2013). Place des plantes médicinales dans les systèmes de santé modernes : usages et perspectives. *Revue Marocaine de Biologie*, 9,25-33.
- *Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition) Copyright © 1996, 2001 Dorling Kindersiey Limited, Londres Text copyright © 1996, 2001 Andrew Chevallier © 2001 Larousse / VUEF pour la présente édition © 1997 Larousse-Bordas pour l'édition originale en langue française.*
- Eteraf, O. S., Rezaei, M., & Malekzadeh, R. (2013). Anti-inflammatory effect of honey on acetic acid-induced colitis in rats. *Journal of Research in Medical Sciences*, 18(5), 376-380.
- Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., & Guo, Z. (1985). Medicinal plants in therapy. *Bulletin of the World Health Organization*, 63(6), 965–981.
- Ferreira, I. C. F. R., Aires, E., Barreira, J. C. M., & Estevinho, L. M. (2009). *Food Chemistry\**, 114(4),1438-1443.
- Fouché J. G., Marquet A. et Hambuckers A. "Les plantes médicinales, de la plante aux médicaments." *Observatoire du monde végétal de Sart-Tilman, 2000).*
- Fournier, P.(1947).*Livre des plantes médicinales et vénéneuses de France, édition., LECHEVALIER*
- Fraga, C. G. (2007). Plant polyphenols: How to translate their in vitro antioxidant actions to in vivo conditions. *IUBMB Life*, 59(4-5),308-315.
- Gonzales, G. F., Gasco, M., & Lozada-Requena, I. (2010). Medicinal plants as an alternative treatment for infertility: A review. *Revista Peruana de Biología*, 17(1), 103-113.

- Grugeau C., (1995). *Curcuma longa* L. Thèse de doctorante en pharmacie. Université Limoge.
- Guil-Guerrero, J. L., Ramos, L., Moreno, C., Zúñiga-Paredes, J. C., Carlosama-Yepez, M., & Ruales, P. (2016). \*Antimicrobial activity of plant-food by-products\*. Journal of Food Science and Technology, 53(1),123-130.
- Gupta C., Gorkem K., et Bharat B.( 2013).Curcumin, a Component of Turmeric : FromFarm to Pharmacy . 1 : 2–13.
- Habibur, R., Eswaraiah, M. C., et Dutta, A. M. (2015). In-vitro Anti-inflammatory and Antiarthritic Activity of *Oryza sativa* Var. Joha Rice (An Aromatic Indigenous Rice of Assam). American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. 15. 115-121.
- Hajjaj, G. (2017). Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *Matricaria chamomilla* L. et de *l'Ormenis mixta* L. (Asteraceae). Thèse de Doctorat, Université Mohammed V, Maroc.
- Hambaba, L., Allali, H., Benslama, A., & Zellagui, A. (2012). Screening of antibacterial activity of some medicinal plants from Algeria. World Journal of Pharmaceutical.
- Handique, J. G. & Baruah, J. B. (2002). Polyphenolic compounds: an overview. Reactive & Functional Polymers, 52, 163–188.
- Harborne, J. B. (1993). Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Chapman & Hall.
- Hoffmann D. (2003) Medical Herbalism: The Science and Practice of Herbal Medicine. Healing Arts Press One Park Street, Rochester, Vermont . ISBN : 978-089281749-8
- Islam M. (2004).Geneticdiversity of the genus *Curcuma* in Bangladesh and further biotechnological approaches for in vitro regeneration and long-term conservation of *C. longa* germplasm, these de doctorat. P 149.
- Itokawa, H., Shi, Q., Akiyama, T.Morris-Natschke, S., Lee, K.H. (2008). Recent advances in the investigation of curcuminoids.Chinese Medicine. 3 (11):13P.
- Jayaprakasha, G. K., Rao, L. J. M., & Sakariah, K. K. (2006). Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. Food Chemistry, 98(4),720-724.
- Jourdan J. P. (2015). *Curcuma* et curcumine : de l'histoire aux intérêts thérapeutiques, Thèse doctorat UNIVERSITE DE CAEN / Sciences pharmaceutiques.

- Kotha, R. R., & Luthria, D. L. (2019). Curcumin: Biological, Pharmaceutical, Nutraceutical, and Analytical Aspects. *Molecules*, 24(16), 2930.
- Kumar D. (1999). *Curcuma genetic resources*. Scientific monograph, 4.
- Lagnika, L. (2005). Étude Phytochimique et Activité Antipaludique de Substances Naturelles Issues de Plantes Béninoises. Thèse de Doctorat Université Louis Pasteur de strasbourg/Université d'Abomey-calavi, Bénin.
- Laughton, M. J., Halliwell, B., Evans, P. J., Robin, J. & Hoult, S. (1989). Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. *Biochemical Pharmacology*, 38(17), 2859-2865.
- Liu, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78(3), 517S–520S.
- Maheshwari, R., Sharma, S., Verma, N., & Walia, H. (2022). Comparative phytochemical analysis and antioxidant evaluation of *Curcuma longa* extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 11(3), 50-56.
- Mehmood, A., et al. (2021). Methanolic extraction and characterization of turmeric rhizome: Phytochemical screening and antioxidant activity. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 9(2), 27-32.
- Mekhalfi, M., Benslama, A., & Maiza, M. (2021). Anti-inflammatory activity of different extracts of *Artemisia herba alba*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 15(4), 80-86.
- Memelink, J. (2000). "Engineering the plant cell factory for secondary metabolite production." *Transgenic Research*, 9(6).323-343.
- Michel T. (2011). -Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse doctorat Université Orléans.
- Moreau B. (2003). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie*. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy1 (France) : 165.
- Nawaz, H., et al. (2019). Phytochemical composition and bioactivity of *Curcuma longa* extracts prepared by different extraction methods. *Scientific Reports*, 9, 19276.
- Negi P. S. et al. (2008). "Xanthonés and mangosteen: Chemistry and medicinal properties." *Food Research International*.

- Ngameni, B. ;Kuate, V. ;Simo, IK. ; Mbaveng, AT. ; Awoussong, PK. ; Patnam, R. ; Roy, R.andNgadjui, BT. (2009). Antibacterial and antifungal activities of the crude extract and Compounds from *Dorsteniaturbinata* (Moraceae). *S. Afr. J. Bot.* 75.
- Orliaguet, G., Gall, O., & Benabess-Lambert, F.(2013) Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Le Praticien en Anesthésie Réanimation*, 17(5),228-237.
- Osman, N. I., Sidik, N. J., Awal, A., Adam, N. A., et Rezali, N. I. (2016). In vitro xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of *Barringtonia racemosa* L. and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis. *Journal of intercultural ethnopharmacology*, 5(4), 343–349.
- P. Sarni-Manchado, V. Cheynier, (2006) *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 398 p. (ISBN 2-7430-0805-9)
- Penso, G. (1986). "Curcuma longa L. - A review of its ethnobotany and medicinal uses." *Journal of Ethnopharmacology*, 17(2).89-98.
- Perry, L. M. (2008). *Medicinal Plants of East and Southeast Asia: Attributed Properties and Uses*. MIT Press.
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2),89-96.
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63, 1035-1042.
- Prescrire., 2007. Bien utiliser les plantes en situations de soins, numéro spécial été, T. 27, n° 286.
- Robbins,S,P.andJudje,T.(2003).*Essentials of Organizational Behavior(VOL.7)*.PrenticeHall, UpperSaddle River.
- Rolo-Naranjo, A., Rebolledo-Rios, R., Melchor-Rodriguez, K. & Codorniu-Hernández, E. (2009). Pseudo-phase portrait applied to pattern recognition in flavonoid–protein interactions. *Applied Mathematics and Computation*, 215,156-167.
- Sahpaz, S. (2019). *Phytothérapie-exemples de pathologies courantes à l'officien: Fatigue , Insmnie, stress, Constipation, Rhume, Douleur et Inflammation . thèse de doctorat .*
- Santangelo, C., Vari, R., Scazzocchio, B., Di Benedetto, R., Filesi, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Ann Ist Super Sanità*, 43(4),394.

- Shabani, S., (2015). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil from Turmeric (*Curcuma longa*) Rhizomes. *Int. J. Food Nutr. Saf*, 6(3), 185-196.
- Shabani, L. (2015). Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques du *Curcuma longa* L. Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah - Ouargla.
- Shahide N. (2016). Valeurs thérapeutiques de curcuma. Laboratoire phytomisan France. 98p.
- Sökmen, B. B., Aydın, S. & Kınalıoğlu, K. (2012). Antioxidant and antibacterial properties of a lichen species *Diploschistes scruposus* (Schreb.) Norman. *IUFS Journal of Biology*, 71(1), 43-51.
- Suznjevic.D.Z., Pastor.F.T., Gorjanovic,S.Z.(2011).Polarographic study of hydrogen peroxide anodic current and its application to antioxidant activity determination. *Talanta*, 85 :1398–1403.
- Tadeusz A. Alkaloids : Chemistry, Biology, Ecology, and Applications. 2<sup>nd</sup> ed. Amsterdam, Netherlands : Elsevier ; 2015. ISBN : 13 : 978-0444594334
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231–1246.
- Ulewicz-Magulska, B., & Wesolowski, M. (2019). Total phenolic contents and antioxidant potential of herbs used for medical and culinary purposes. *Herba Polonica*, 65(1),17- 26
- Vaquier, A.R.L.(2010). Intérêt d'un nouveau nutriment à visée anti-inflammatoire dans la gestion des troubles locomoteurs chez le cheval : aspects bibliographiques et étude clinique.
- Velayudhan K. C., Muralidharan V. K., Amalraj V. A., Gautam P. L., Mandal S., et Kumar D. (1999).*Curcuma* genetic resources. Scientific monograph, 4.
- Wang, R., Ding, Y., Liu, R., Xiang, L., & Du, L. (2020). \*Synergistic antibacterial activity of curcumin with and without honey in wound-related pathogens\*. *Phytomedicine*, 70, 153222.
- Wun C,( 2003).Safety and antiinflammatory activity of curcumin. *Component Med Res*. 131,682-691.