UNIVERSITE YAHIAFARES DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIERE

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **:**

Master En chimie

Spécialité : chimie pharmaceutique

Par :
RASSOUL Fateh
DEHBINE Abdelaziz

Thème :

Etude de l'effet thérapeutique d'un extrait végétal

Soutenu publiquement/ le :18 /06/2022, devant le jury composé de :

Boucherit N.	Grade : MCA	UYFM	Présidente
Madani L.	Grade : MCB	UYFM	Examinatrice
Arbia W.	Grade : MCA	UYFM	Encadreur

Année universitaire : 2021/2022

Remerciement

Avant tout nous remercions ALLAH, le tout puissant qui nous a donné, la patience et la santé durant toutes les années de nos études et surtout en accomplissant ce modeste travail.

Nous voulons tout d'abord exprimer chaleureusement notre profonde gratitude à notre promotrice ***Dr.ARBIA.W****, pour la confiance qu'elle nous a accordé, et de son soutien scientifique et moral tout au long du travail, et surtout pour la grande motivation qu'elle a su nous insuffler durant notre parcours.*

Nous tenons aussi à remercier DR. ***BOUCHERIT N.*** *pour avoir accepter de Présider le Jury. Votre largesse d'esprit nous a été d'un aide précieuse.*

Nos remercîments également ***DR. Madani L.*** *d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nos vifs remerciements vont, également à tout le personnel de laboratoire contrôle qualité de groupe SAIDAL pour leurs aides et surtout pour leurs gentillesses.

Notre profonde gratitude va également à tous les enseignants et les Enseignantes de département de science de la matière qui ont participé Le long de ces 5 années à notre formation et pour leurs très grands dévouements.

Et bien sûr sans oublier de remercie tous les étudiants de la promotion Master 2 chimie pharmaceutique 2021/2022.

Finalement Un tel travail ne peut être réalisé sans le soutien de tous les jours par des gens qui ne comprennent pas nécessairement ce que tu fais, mais qui sont là lorsque tu en as besoin. Un grand merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à accomplir ce modeste travail

Dédicace

*Avant tout nous remercions **ALLAH**, le tout puissant qui nous a donné, la patience et la santé durant toutes les années de nos études et surtout en accomplissant ce modeste travail*

A celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation et de ses dévouements……A ma chère mère

A celui qui s'est changé la nuit en jour pour m'assurer les bonnes conditions……A mon cher père

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A mes chers frères et mes cheres sœurs .

je ne pourrais jamais exprimer l'attachement et l'affection qui j ai pour Vous, aucun mot ne pourrait exprimer la gratitude et l'amour qui je vous porte ….

*Chers mon frère **Abdelaziz** avant d'être binôme pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce travail et nos études.*

A tous mes enseignants et mes collègues de spécialité chimie pharmaceutique 2021/2022.

A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.

A tous ce qui m'aiment..

fateh

Dédicace

*Avant tout nous remercions **ALLAH**, le tout puissant qui nous a donné, la patience et la santé durant toutes les années de nos études et surtout en accomplissant ce modeste travail*

A celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation et de ses dévouements……A ma chère mère

A celui qui s'est changé la nuit en jour pour m'assurer les bonnes conditions……A mon cher père

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A mes chers frères et mes cherse sœurs .

je ne pourrais jamais exprime l'attachement et l'affection qui j ai pour Vous, aucun mot ne pourrait exprimer la gratitude et l'amour qui je vous porte ….

*Chers mon frère **fateh** avant d'être binôme pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce travail et nos études.*

A tous mes enseignants et mes collègues de spécialité chimie pharmaceutique 2021/2022.

A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.

A tous ce qui m'aiment.

abdelaziz

ملخص

الهدف من عملنا هو دراسة الخصائص البيولوجية لمستخلصات ثلاثة نباتات طبية: القسط ، الكركم والزنجبيل. تم تحضير المستخلصات بأربعة مذيبات: ماء مقطر ، جلسرين ، بروبيلين جليكول وإيثانول. أظهرت النتائج أن الإيثانول أعطى أفضل حاصل استخلاص مع الزنجبيل والكركم حيث بلغ 68٪ و 60.51٪ على التوالي. بينما تم الحصول على أفضل مردود لاستخلاص القسط الهندي 57.11٪ باستخدام الماء المقطر كمذيب استخلاص .كشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود التانينات والتربينويدات والكينون والمركبات المختزلة في جميع المستخلصات المائية المحضرة .أظهرت جرعة البوليفينول أن المستخلص الإيثانولي هو الأغنى في هذه المركبات مقارنة بالمستخلصات الأخرى بتركيزات 62 مجم من خلاصة / EAG جم ، 55 مجم مستخلص / EAG جم ، 45 مجم مستخلص / EAG جم للقسط ، الكركم والزنجبيل ، على التوالى .أظهر تقييم التأثير المضاد للبكتيريا للمستخلصات النباتية ضد السلالات الميكروبية المختلفة التي تمت دراستها أن المستخلص الإيثانولي من القسط الهندي له تأثير مثبط قوي ضد *Pseudomonas aeruginosa* (17mm) ، *Staphylococcus aureus* (21mm)و *Candida albicans* (21mm) ؛ مع نشاط مثبط طفيف ضد *Bacillus subtilis* (16 *ملم*). أظهر اختبار انحلال الدم لخلايا الدم الحمراء أن المستخلصات المحضرة لا تظهر أي سمية تجاه خلايا الدم الحمراء البشرية. وبالمثل ، أظهرت دراسة ثبات غشاء خلايا الدم الحمراء في المختبر أن معدلات الثبات مماثلة لتلك التي حصلت عليها مستخلصات الديكلوفيناك. هذه المعدلات هي 100٪ و 99.99٪ و 98.52٪ و 99.96٪ للقسط الهندي والكركم والزنجبيل والديكلوفيناك على التوالي. يتم التعبير عن ثبات الغشاء من خلال التأثير المضاد للالتهابات في المستخلصات. تم إجراء اختبار صياغة مادة هلامية صالحة للشرب على أساس المستخلصات المائية.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للميكروبات ، النشاط المضاد للالتهابات ، البوليفينول ، القسط ، الكركم ، الزنجبيل

Résumé

L'objectif de notre travail est l'étude les propriétés biologiques des extraits de trois plantes médicinales: costus, *Curcuma* et Gingembre. Les extraits ont été préparés, par quatre solvants : eau distillée, Glycérine, propylène glycol et éthanol. Les résultats ont montré que, l'éthanol a donné le meilleur rendement d'extraction avec le gingembre et le curcuma dont on a obtenu 68% et 60.51%, respectivement. Tandis que, le meilleur rendement d'extraction de costus indien, 57.11%, est obtenu en utilisant l'eau distillée comme solvant d'extraction.

Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de tanins, terpénoïdes, les quinones et les composés réducteurs, dans tous les extraits aqueux préparés.

Le dosage des polyphénols a montré que l'extrait éthanolique est le plus riche en ces composés par rapport aux autres extraits avec des concentrations de 62 mg EAG/g extrait, 55 mg EAG/g extrait, 45 mg EAG/g extrait pour costus, *Curcuma* et gingembre, respectivement.

L'évaluation de l'effet antibactérien des extraits végétaux vis-à-vis les différentes souches microbiennes étudiées, a montré que l'extrait éthanolique de costus indien a un effet fortement inhibiteur contre *Pseudomonas aeruginosa* (17mm), *Staphylococcus aureus* (21mm) et la levure *Candida albicans* (21mm) ; avec une légère activité inhibitrice contre *Bacillus subtilis* (16mm). Le test d'hémolyse des globules rouges a montrés que les extraits préparés ne présentent aucune toxicité vis-à vis les hématies humaines. De même, l'étude de stabilité membranaire des globules rouges, *in*-vitro, a montré des taux de stabilité sont similaires à ceux obtenus par diclofinac des extraits. Ces taux sont de 100%, 99.99%, 98.52% et 99.96% pour costus indien, *Curcuma*, gingembre et diclofinac, respectivement. Cette stabilité membranaire s'exprime par un effet anti-inflammatoire des extraits. Un essai de formulation d'un gel buvable à base des extraits aqueux a été réalisé.

Mots clés : activité antimicrobienne, activité anti-inflammatoire, polyphénols, costus, *Curcuma*, gingembre

Abstract

The objective of our work is the study of the biological properties of the extracts of three medicinal plants: costus, *Curcuma* and ginger. The extracts were prepared by four solvents: distilled water, glycerine, propylene glycol and ethanol. The results showed that, ethanol gave the best extraction yield with ginger and turmeric of which 68% and 60.51% were obtained, respectively. While, the best extraction yield of Indian costus, 57.11%, is obtained using distilled water as extraction solvent. Phytochemical screening revealed the presence of tannins, terpenoids, quinones and reducing compounds, in all the aqueous extracts prepared. The determination of polyphenols showed that the ethanolic extract is the richest in these compounds compared to the other extracts with concentrations of 62 mg EAG/g extract, 55 mg EAG/g extract, 45 mg EAG/g extract for costus, turmeric and ginger, respectively. The evaluation of the antibacterial effect of the plant extracts against the different microbial strains studied, showed that the ethanolic extract of Indian costus has a strong inhibitory effect against *Pseudomonas aeruginosa* (17mm), *Staphylococcus aureus* (21mm) and the yeast *Candida albicans* (21mm); with a slight inhibitory activity against *Bacillus subtilis* (16mm). The hemolysis test on red blood cells showed that the prepared extracts do not present any toxicity towards human red blood cells. Similarly, the study of membrane stability of red blood cells, *in-vitro*, showed stability rates are similar to those obtained by diclofinac extracts. These rates are 100%, 99.99%, 98.52% and 99.96% for Indian costus, turmeric, ginger and diclofinac, respectively. This membrane stability is expressed by an anti-inflammatory effect of the extracts. A formulation test of a drinkable gel based on the aqueous extracts was carried out.

Key words: antimicrobial activity, anti-inflammatory activity, polyphenols, costus, *Curcuma*, ginger.

Résumé
Liste des figures
Liste des tableaux
Liste des abréviations
Introduction 01
Chapitre I Généralités 03
I.1. généralité sur les plantes médicinales 03
I. 1.1. Historique 03
I.1.2. Définition des plantes médicinales 03
I. 1.3. Récolte et conservation des plantes médicinales 04
I.1.4. La phytothérapie 05
I.1.4.1. Définition 05
I.1.5.Les métabolites secondaires 05
I. 1.5. 1. Définition 05
I.1.5.2. Classification des métabolites secondaires 06
I.1.5. 2.1. Les composés phénoliques 06
I.1.5. 2. 2.Les flavonoïdes 07
I.1.5. 2. 3. Les tanins 08
I.1.5. 2. 4. Les coumarines 10
I.1.5. 2. 5.Les alcaloïdes 12
I.1.5. 2. 6.Les terpènes 12
I.2.Généralité sur les plantes utilisées dans notre étude 13
I.2.1. Curcuma longa L 13
I.2.1. 1.Historique 13
I.2.1. 2.Etymologie 14
I.2.1. 3.Taxonomie et classification botanique 14
I.2.1.4.Description botanique 15
I.2.1.5.Utilisation de curcuma longa L 16
I.2.2 Zingiber officinale ou gingembre 17
I.2.2.1.Historique 17
I.2.2.2.Etymologie 17
I.2.2.3.Taxonomie et classification botanique 18
I.2.2.4.Description botanique 18
I.2.2.5.Utilisation de gingembre 19
I.2.3.Saussurea costus 20

I.2.3.1.Historique 20
I.2.3.2.Etymologie 20
I.2.3.3.Taxonomie et classification botanique 21
I.2.3.4.Description botanique 21
I.2.3.5.Utilisation costus 22
I.3. Activités biologiques des extraits végétaux 23
I.3. 1. L'activité antimicrobienne 23
I.3. 2. L'activité anti- inflammatoire 25
I.3. 2.1. L .Définition de l'inflammation 25
I.3. 2. 2. Les Types de la réaction inflammatoire 25
I.3.2. 2. 1. L'inflammation aigue 25
I.3. 2. 2. 2. L'inflammation chronique 31
I .3.2.3.La thérapeutique anti-inflammatoire 33
I .3.2.3.1.Les anti-inflammatoires non stéroïdiens 34
I .3.2.3.2.Les anti-inflammatoires stéroïdiens 34
I .3.2.3.3.Les anti-inflammatoires naturelles 34
Chapitre II : Matériels et méthodes 36
II.1. Matériel et méthodes 36
II. 1. 1. Matériel biologique 36
II. 1. 1. 1. Matériel végétal 36
II. 1. 1. 2. Les souches microbiennes 36
II. 1. 2. Produits chimiques 36
II. 1. 3. Appareillages et verreries 37
II. 2. Méthodologie 37
II. 2. 1. Broyage 37
II. 2. 2. Préparations des extraits 38
II. 2. 3. Détermination du rendement 40
II. 2. 4. Caractérisation des extraits végétaux bruts 41
II. 2. 4. 1. Caractérisation organoleptique 41
II.2. 4. 2. Analyses physicochimiques 41
II.2. 4. 3. Screening phytochimique 42
II. 2. 4. 4. Dosage des polyphénols totaux 43
II. 2. 5. Evaluation de l'activité biologique des extraits végétaux 44
II. 2. 5. 1. Evaluation de l'activité antimicrobienne 44
II.2. 5. 2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in - vitro* 46

II. 3. Application : préparation de gel buvable 49
II.3. 1. Méthode de préparation du gel buvable 50
Chapitre III : Résultats et discussion 51
III.1. Les taux d'extraction 51
III. 2. Caractérisation physico-chimique et organoleptique 52
III. 2. 1. Screening (Criblage) phytochimique 52
III. 2. 2. Caractéristiques organoleptiques 54
III. 2. 3. Caractéristiques physicochimiques 54
III. 2. 4. Dosage des polyphénols totaux 56
III. 2. 5. Evaluation de l'activité biologique des extraits végétaux 58
III. 2. 5. 1. L'activité antimicrobienne 58
III. 2. 5. 2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in – vitro* 64
III.2.5.2.1.Evaluation de l'activité hémolytique 64
III. 2.5.2.2.Evaluation de la stabilisation de la membrane des globules rouges 65
III. 3. Préparation et caractérisation physicochimique de gel buvable 68
III. 3. 1. Caractérisation physico-chimique du gel buvable 68
Conclusion 70
Références bibliographiques 72
Annexes

Liste des figures :

Fig.I .1:Structure de l'acide gallique 06
Fig.I. 2: Structure de l'acide caféique 07
Fig.I. 3Structure de base d'un flavonoïde 07
Fig.I. 4: Exemple d'un tanin hydrolysable. 08
Fig.I. 5: Structures des tanins condensés 10
Fig.I. 6: Structure chimique de quelques coumarines 11
Fig.I. 7: Structure de coumarine simple 11
Fig.I. 8: Quelques structures de la coumarine complexe 11
Fig.I. 9: quelques exemples des alcaloïdes 12
Fig.I .10: structure des différents terpènes 13
Fig.I .11: Rhizome de Curcuma longa L 13
Fig.I .12: Schéma représentatif de Curcuma longa L (rhizome, feuille et fleurs) 16
Fig.I .13: rhizome de Zingiber officinale ou gingembre 17
Fig.I. 14: Schéma représentatif de Zingiber officinale (rhizome, feuille et fleurs) 18
Fig.I. 15: racine de Saussurea costus 20
Fig.I .16: champs de costus 22
Fig.I .17:Partie florale du costus 22
Fig.I .18: Racines du costus 22
Fig.I .19: Schéma présentant la réaction inflammatoire 25
Fig.I .20: Schéma représentatif d'une coupe au niveau d'une plaie 26
Fig.I. 21: Activation plaquettaire au cours des premières étapes de la phase vasculaire 26
Fig.I .22: Reconnaissance des pathogènes par les cellules phagocytaires 27
Fig.I. 23: Les diverses cellules et molécules impliquées dans le déclenchement de la réaction inflammatoire aigüe 28
Fig.I .24: Schéma montrant la vasodilatation et chimiotactisme induit par les messages sécrétés par le mastocyte et le macrophage activé 29
Fig.I .25: Elimination des agents pathogènes par les neutrophiles 31
Fig.I .26: Quelques exemples de maladies inflammatoires de type chronique 32
Fig.I. 27: Résumé du métabolisme de l'acide arachidonique 33
Fig.I .28: Mode d'action des AINS 34

Fig.II .1: Préparation de poudre des différentes plantes (photo originale) 38
Fig.II .2: La filtration de l'extrait (photo originale) 40

Fig.II. 3: Montage expérimentale de rota évaporateur (photo originale) 40
Fig.II .4: Densitomètre (photo originale) 41
Fig.II. 5: Réfractomètre et la lecture de l'indice de réfraction (photo originale) 41
Fig.II. 6:Mesure de pH des extraits végétaux obtenus 42
Fig.II .7: Le protocole de dosage des polyphénols (orininale) 44
Fig.II. 8:Revivification des souches bactériennes et préparation de l'inoculum 45
Fig.II .9: Ensemencement par écouvillonnage de la suspension bactérienne 46
Fig.II. 10: Préparation de la suspension des globules rouges 47
Fig.II .11: Protocole expérimental de détermination de l'activité hémolytique 48
Fig.II .12: Etude de la stabilité de membrane des GR 49
Fig.II .13: Homogénéisateur de type IKAT 25ULTRA-TURRAX 50

Fig.III. 1: Les rendements d'extraction en fonction de la plante et le solvant 51
Fig.III. 2: Teneur en polyphénols en mg EAG/g d'extrait sec des différents extraits végétaux 57
Fig.III. 3Résultats de l'étude de l'effet antimicrobien des extraits de Curcuma, costus et gingembre 59
Fig.III. 4: L'activité antimicrobienne des extraits de Curcuma 60
Fig.III. 5: Activité antimicrobienne des extraits de Costus indien 61
Fig.III. 6 : Activité antimicrobienne des extraits de gingembre 62
Fig.III. 7: Effets hémolytiques des extraits végétaux 64
Fig.III. 8 : Résultats de l'effet des extraits de costus, Curcuma, gingembre et le diclofénac de potassium sur la stabilité de la membrane des GR 66
Fig.III. 9: Le gel buvable préparé dans la présente étude 68

Liste des tableaux :

Tableau I. 1: La structure des différentes flavonoïdes 09
Tableau I. 2: Etymologie de Curcuma longa L 14
Tableau I. 3: Classification taxonomique de Curcuma longa L 15
Tableau I. 4: Classification taxonomique de gingembre 18
Tableau I. 5 :Etymologie de Saussurea costus 21
Tableau I. 6:Classification taxonomique de Saussurea costus 21
Tableau I. 7: Les médiateurs chimiques de l'inflammation 30
Tableau I. 8: Différences entre les deux COX 33

Tableau II. 1: Réactifs, produits chimiques et milieux de culture 37
Tableau II. 2Appareillages et verreries 37
Tableau II. 3: Conditions de préparation des extraits végétaux de : curcuma, costus indien et gingembre 39
Tableau II. 4: Les formules de gels buvables préparés 50

Tableau III. 1: Résultats du criblage phytochimique costus, Curcuma et Gingembre 53
Tableau III. 2: Caractéristique organoleptiques des extraits végétaux préparés 54
Tableau III. 3: Les caractéristiques physicochimiques 55
Tableau III. 4: Activité antimicrobienne des extraits de Costus. 62
Tableau III. 5 :Caractéristiques physicochimiques du gel buvable préparé 68

Liste des abréviations :

J.C	Jésus Christ
ATCC	American Type Culture Collection
MH	Muller Hinton
UFC	unité formant colonie
COX	Cyclooxygenase enzyme
AINS	anti- inflammatoire non stéroïdien
PLA2	Phospholipides des membranes
ATP	Adénosine triphosphate
LPS	lipo-polysaccharides
TXA2	Thromboxane A2
PGI2	Prostacyclin
PGE2	Prostaglandin E2
ED	Eau distillé
PG	Propylène glycol
GL	Glycérine
ETH	Ethanol

AG	Acide gallique
UV	Rayonnement Ultraviolet
Mg	Milligramme
ml	Millilitre
OCH3	Groupe Méthoxy
R	Radical
pH	Potentiel Hydrogène
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
µg	Microgramme
%	Pour cent (représente un pourcentage)
OMS	Organisation mondiale de la santé
OH	Fonctions hydroxyle

Introduction

Depuis de nombreuses années, les plantes médicinales jouent un rôle important dans la médecine et la pharmacologie. On estime qu'environ 80% de la population mondiale repose sur des préparations botaniques comme médicaments pour répondre à leurs besoins de santé (Ma et al., 1971).

Au cours de ces dernières années les résultats des recherches conduit par des spécialistes (médecins, biologistes, pharmaciens, botanistes, agronomes, écologistes et économiste) concourent à démontrer les effets néfastes des médicaments à base de produit chimiques pour l'organisme de l'être humain**,** c'est pour cela que ces produits naturels sont très demandés dans le monde, donc il est temps de multiplier nos efforts pour faire évaluer ce domaine «plante médicinale et culture biologique»,par l'application des résultats de recherches scientifiques, de techniques appropriées de production et de dosage (Messaoudi, 2005).

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques, les effets secondaires des médicaments anti-inflammatoires, ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires enquête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse.

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

Le *Curcuma*, fameuse racine, le costus d'origine indienne et le gingembre est issu de la même famille appelée les zingibéracées. Le choix de ces plantes s'est fondé sur les faits qu'elles sont parmi les plus populaires plantes aromatiques utilisées dans le monde entier, leur utilisation fréquente par nos populations dans le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle.

Le travail effectué et présenté dans ce mémoire se situe dans ce contexte. L'objectif visé est l'étude des activités biologiques des extraits végétaux, préparés en utilisant des solvants non toxiques, qui peuvent être directement incorporé dans des préparations ou des formulations thérapeutiques sans avoir le besoin d'évaporer le solvant. Sachant que les activités biologiques recherchées sont principalement l'activité antibactérienne et l'activité anti-inflammatoires des extraits aqueux, hydroéthanolique, hydroglycolique et glycérat des rhizomes de *Zingiber officinale, Curcuma longa* et les racines de *Saussurea costus*.(costus indien).

Ce mémoire se divise en deux grandes parties :

- La première partie, qui correspond au chapitre I, est une étude bibliographique qui commence par des généralités sur les plantes médicinales et leurs métabolites secondaires suivi par la description des plantes utilisées (*Curcuma*, gingembre et costus indien). Cette partie se termine par un aperçu sur les activités Biologiques notamment l'activité antimicrobienne et l'activité anti-inflammatoire.
- La deuxième partie comporte l'étude expérimentale, et subdivisée en deux chapitres :
  - Le premier chapitre regroupe l'ensemble de matériels utilisé pour la réalisation de cette étude ainsi que la méthodologie de travail qui a commencé par la préparation des extraits végétaux avec les différents solvants, la caractérisation physicochimiques et l'évaluation de l'activité biologique des différents extraits. un essai de formulation d'un gel buvable à base des extraits végétaux aqueux des trois plantes étudiées a été réalisé au sein du Laboratoire de Département SM, Faculté des Sciences de l'Université de Médéa.
  - Le deuxième chapitre présente tous les résultats obtenus et ainsi que leurs discussions.

Finalement, Nous achevons notre travail par une conclusion et perspectives.

Partie I

Partie Bibliographique

Chapitre I

Généralités

I. 1. Généralité sur les plantes médicinales

I. 1. 1. Historique

Les plantes aromatiques et médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines par ce qu'elles contiennent des composantes à valeur thérapeutiques. Récemment l'acceptation de la médicine traditionnelle comme forme alternative de santé et le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponibles a mené des auteurs à étudier l'activité antimicrobienne des plantes aromatiques et médicinales (Nostro et al., 2000). Cependant l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux, en particulier à partir du néolithique (8000 ans avant J.C).

Dans la civilisation Chinoise, Indienne, ou Aztèque, on trouve la trace d'utilisations médicinales très anciennes. Le premier livre de matière médicinale le traite des plantes aromatiques et médicinales de l'empereur Shen Nung, fut rédigé vers 2900 avant J.C. 4000ans avant J.C., les populations Babyloniennes et Sumériennes utilisaient les plantes pour se soigner: 600 tablettes d'argiles mentionnent 1000 plantes pour leurs vertus curatives et plus de 800 remèdes sont décrit par les Egyptiens (Nostro et al., 2000).

Les grands médecins grecs, dont le plus célèbre est Hippocrate (5ém siècle avant J.C.), utilisaient couramment les narcotiques, les laxatifs ou des émétiques (vomitifs). Théophraste (370-285 avant J.C.) classe les plantes dans son ouvrage «Historiaplantarum» (Fouché et al., 2000). Les Arabes avaient aussi leurs spécialistes en médicine et en pharmacie: Abu BakerAl-razi ou Razés (865-925), fut l'un des grands médecins de son temps et aussi le précurseur de la psychothérapie. Il fut suivi par Ibn Sina ou Avicenne (980-1037) qui écrivait le «Canon de la Médicine». Ce livre servira de base à l'enseignement de la médicine dans les universités de Louvain et Montpelier jusqu'aux environ 1650. Ibn Al Baytar (1197-1242) rédigera le très complet somme des simples: ce livre contenait une liste de 1400 préparations et plantes médicinales dans un millier étaient connues des auteurs grecs (Fouché et al., 2000).

I. 1. 2. Définition des plantes médicinales

Ce sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisée à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogue utiles (Sofowora, 2010).

D'après Dr. Jésus Cardenas (2014), l'OMS ne donne pas de définition précise de plante médicinale, mais plutôt de médicament à base de plante, tout en classent l'utilisation de plantes médicinales et médicaments à base de plante parmi les médecines et formes de médication traditionnelle.

D'un autre côté, la pharmacopée française définit la plante médicinale comme une « drogue végétale » pouvant être utilisée en entier ou en partie pour ses propriétés médicamenteuses. Elle est utilisée de différentes manières (décoction, macération, infusion…) et une ou plusieurs de ses parties peuvent être utilisée (racines, rhizome, feuille, fleur…...) (Dutertre, 2011).Autrement dit, c'est une plante qui possédant des propriétés curatives ou préventives utilisée pour soigner ou soulager divers maux.

I. 1. 3. Récolte et conservation des plantes médicinales

I. 1. 3. 1. Récolte

Les propriétés médicinales des végétaux dépendant du terrain, du climat, de l'altitude et sans doute de nombreux autres facteurs, on adopte de préférence les plantes de certains pays ou de certaines régions, connues pour leur plus grande efficacité (Valnet, 1986).Ne cueillir que les plantes qui sont saines et propre. Les feuilles sont récoltées avant et pendant la floraison avec précaution une à une, sans blesser les pétales. Les fruits sont récoltés au moment de la maturité. La racine est récoltée au moment du repos végétatif, dégagée pour être sectionné en partie et laisser ainsi la plante repartie éventuellement, pour l'année suivante. Les graines sont récoltées mures, habituellement en fin de saison (Philips et al, 1991).

I.1.3.2. Séchage

Une fois récoltée, la plante se fane et meurt, ils apparaissent alors des processus de dégradation préjudiciable à l'activité thérapeutique de la plante. Pour éviter ce processus de dégradation on procède au séchage des plantes (Salagno et al, 1989).

Le séchage dépend de la plante et le but fixé. Il existe des plantes qui sont utilisées fraiches sans séchage pour arriver à obtenir l'effet demandé ou elles ne perdent pas l'agent ou la molécule active. Dans ce cas, les applications thérapeutiques sont obligatoires juste après la récolte. Dans d'autres cas ou la plante est utilisée après séchage, il faut :

- Étaler la plante le plus rapidement possible après la cueillette en une seule couche sur la gaze ou sur un papier non imprimé, dans un endroit à l'ombre et bien aéré sans jamais les laver au préalable.
- Retourner les régulièrement au cours des premiers jours.
- Attendre le temps qu'il faut pour qu'il ne subsiste plus aucune trace d'humidité.

Dans certains cas, on peut utiliser l'étuve voire les rayons solaires pour sécher les plantes, à condition que ça ne touche pas les molécules actives. Les huiles essentielles sont volatiles à température élevée donc en doit sécher la plante à l'air libre (Callery et al., 1998).

I. 1. 3. 3. Conservation

Etant donné que la moindre trace d'humidité déclencherait un processus de moisissure. Les drogues séchées doivent être placées immédiatement dans les récipients bien secs, dans des sacs de papier, dans des boites en fer blanc ou dans des caisses. La conservation se fait à l'abri de l'air et au sec (Callery et *al* ,1998).

I. 1. 4. La phytothérapie

I. 1. 4. 1. Définition

La médecine par les plantes, autrement appelée phytothérapie, est la plus ancienne façon au monde de se soigner, on la retrouve dans toutes les civilisations, chacune d'entre elles ayant élaboré sa propre thérapeutique au fil de siècles (verbois, 2015).

Etymologiquement, la phytothérapie vient du grec «*phytos* »qui veut dire plantes et «*thérapia* »qui veut dire soins ou traitement. La phytothérapie est donc l'art de soigner par plantes médicinales (Barka, 2017). C'est le traitement ou la prévention des maladies par l'usage de certaines parties de plantes médicinales. Elle fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces (Zeghad, 2009).

On distingue deux phytothérapies, mais qui sont en réalité le prolongement l'une de l'autre. L'une est dite phytothérapie classique, l'autre est dite phytothérapie moderne (Barka, 2017).

- **La phytothérapie traditionnelle (classique)**

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 (Chabrier, 2010).

- **La phytothérapie clinique (moderne)**

Elle repose sur une utilisation scientifique des plantes, inspirée par des méthodes ancestrales. Son mode d'action est basé sur un traitement à long terme agissant sur le système neuro-végétatif .Dans ce type, les indications sont liées à une thérapeutique de complémentarité. Elles viennent compléter ou renforcer l'efficacité d'un traitement allopathique classique pour certaines pathologies (Guettiche et al.,2018).

I. 1. 5. Les métabolites secondaires

I. 1. 5. 1. Définition

Les métabolites secondaire sont définis comme des molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres

interactions plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (Attou, 2001).

I. 1. 5. 2. Classification des métabolites secondaires

Nous pouvons classer les métabolites secondaires en trois groupes, chacune renferme une très grande diversité biologique (Bruneton, 2009) :

I. 1. 5. 2.1. Les composés phénoliques

Les poly phénols constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante (Lugasi et al., 2003). Ils ont tous en commun la présence d'une ou plusieurs fonctions hydroxyles (OH). Ils peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient par la complexité et le degré de modification du squelette de base (Macheix et al., 2005).

Il existe donc différentes classes de polyphénols, on y trouve les acides phénoliques , les flavonoïdes, les tanins et les coumarines… .

Les acides phénoliques simples

Le terme d'acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ce sont des dérivés de l'acide hydroxy benzoïque(composés en C6-C1) tels que l'acide gallique (figure I.1) ou l'acide hydroxy cinnamiques(composé en C6-C3) comme l'acide caféique (Bruneton, 2009).

- ✓ **Dérivés de l'acides hydroxy cinnamiques**

Ils présentent une structure en C6-C1, composée d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaine aliphatique à un carbone. Le principal composé est l'acide gallique (fig. I. 1) (Chira et al., 2008).

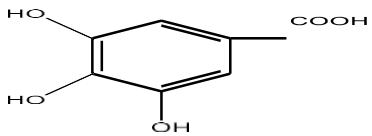


Fig. I .1. Structure de l'acide gallique.

- ✓ **Dérivés de l'acides hydroxy benzoïques**

Leur squelette de base est un noyau benzénique avec une chaine aliphatique à trois carbones (C6-C3) avec un ou plusieurs groupements OH, souvent estérifiés en ester d'alcool

aliphatique (fig. I .2) (Chira et al., 2008).

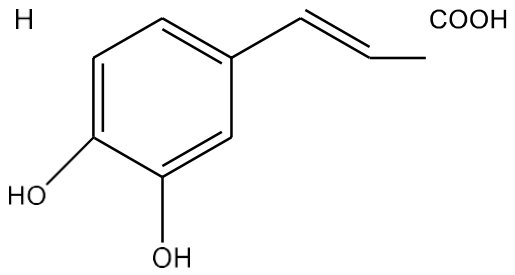


Fig. I .2. Structure de l'acide caféique

I. 1. 5. 2. 2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïdes rassemble une très large gamme de composés naturels généralement polyphénoliques (Gàbor, 1988), très répondus chez les végétaux**,** presque toujours hydrocarbures, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. A l'état naturel les flavonoïdes peuvent se trouver sous forme d'hétérosides (C- ou O-glycosides) (Ghestem, 2008).

La plupart des flavonoïdes ont une structure de base relativement simple (fig. I .3). Ils sont composés de deux cycles aromatique de type phényle liées par une chaine de trois atomes de carbone généralement cyclique, soit un système C_6-C_3-C_6 dont la configuration est la suivante (Gàbor, 1988).

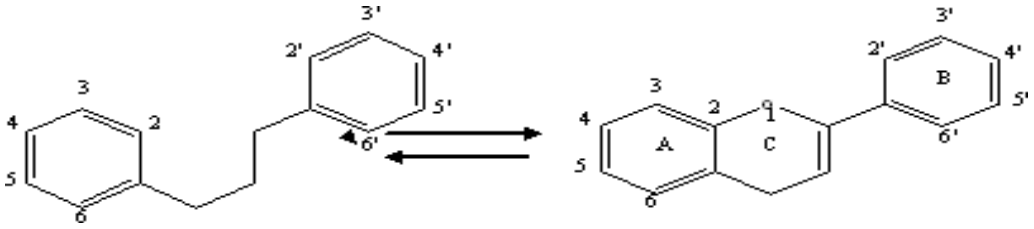


Fig. I .3. Structure de base d'un flavonoïde.

Ils peuvent être regroupé en une douzaine de classe, de la chaine carbonée formant, en générale un hétérocycle C, par condensation avec un OH phénolique du noyau A (Benmakhbi, 2004), détermine les différentes classes des flavonoïdes, par ailleurs, les différents cycles peuvent être modifiés par glucosylation, méthylation, hydroxylation ou acylation.

Ils existent plusieurs classes de flavonoïdes dont les principales sont les flavones, flavonols, isoflavones, flavanones et les anthocyanidines (Tableau. I. 1).

Les flavonoïdes sont des solides cristallisés dont la teinte varie du blanc et noire au jaune vif. Les hétérosides sont solubles dans l'eau (surtout à chaud), l'alcool, les autres solvants

organiques polaires et les solutions alcalines (ammoniaque ou potasse) en donnant une coloration jaune qui disparaît par l'addition d'acides (Cos, 1998). Ils sont insolubles dans les solvants organiques apolaires. Les flavonoïdes possèdent une bande d'absorption dans l'ultraviolet proche du visible; variant avec chaque type flavonique et permettant leur identification.

I. 1. 5. 2. 3. Les tanins

Les vertus thérapeutiques des plantes tanières sont liées à leurs métabolites secondaires, essentiellement aux tanins contenus dans leurs organes. Les tanins désignent un groupe de substances phénoliques polymériques (Sérémé et al., 2008). Ces derniers présentent des réactions classiques des phénols, ainsi que la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (Cowan, 1999). Ils peuvent être trouvé dans l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines (Vandi et al., 2016). Les tanins sont classés en deux groupes et cela selon la nature de leurs assemblages moléculaires :

- Les tanins hydrolysables sont constitués d'une molécule glucidique sur laquelle est estérifiée de l'acide gallique ou un de ces dérivés (acide éllagique, acide m-digallique). On leur attribue les noms de pyrogalliques et d'éllagitanins. Ce groupe de tanins est facilement hydrolysé par voie chimique ou enzymatique (Sérémé et al., 2008)(Fig. I .4).

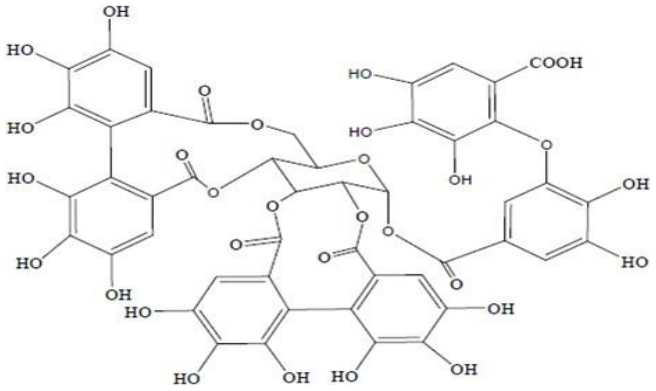
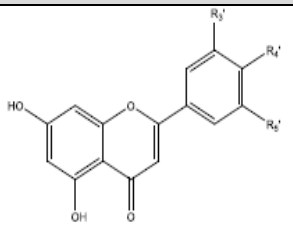
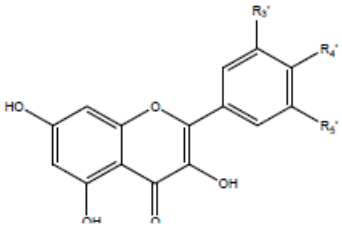
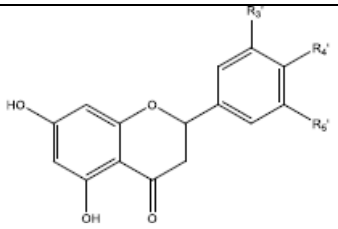
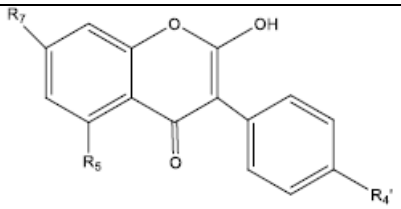
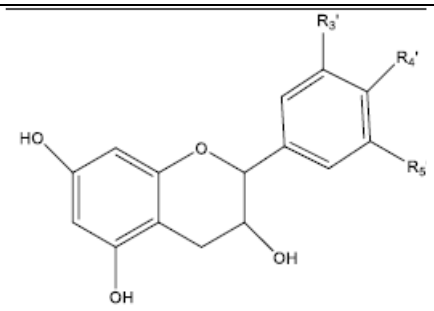
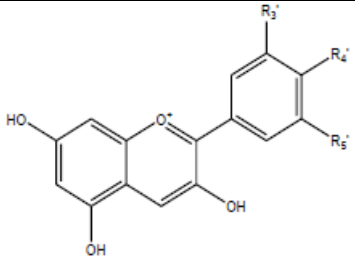


Fig. I .4. Exemple d'un tanin hydrolysable.

Tableau I. 1. La structure des différentes flavonoïdes (Gàbor, 1988 ;Benmakhbi, 2004 ; Ghestem, 2008).

Classes	Structure chimique	R'3	R'4	R'5	Exemple
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H O	- Glu	OH	Daidzeine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	H	Delphénidine

- Les tanins condensés ou tanins catéchiques ou pro-anthocyanidols sont des polymères flavaniques dont la structure est voisine de celle des flavonoïdes. Ils sont constitués d'unités de flavan-3-ol liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (Vandi et al., 2016) (figure. I .5).

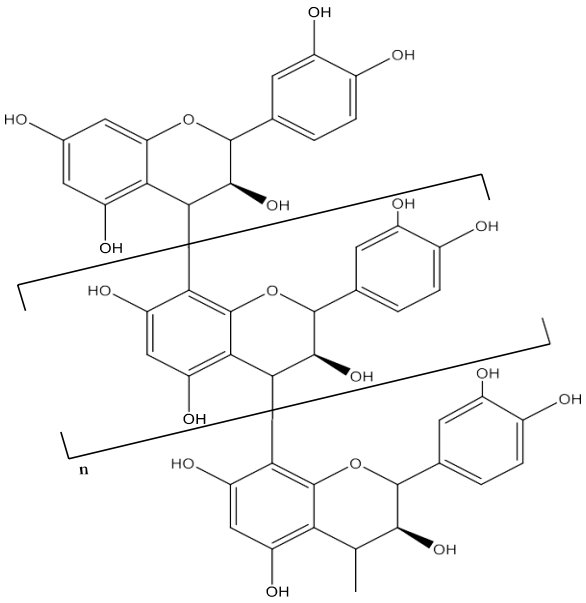


Fig. I .5. Structures des tanins condensés

Les tannins se dissolvent dans l'eau sous forme de solutions colloïdales, mais leur solubilité varie selon le degré de polymérisation (elle diminue lorsque celui-ci augmente). Ils sont solubles dans les alcools et l'acétone, insoluble dans les solvants organique apolaires (éther) (Bruneton, 1999).

I. 1. 5. 2. 4. Les coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève tonka (*Dipteryxodorata*, Fabaceae) d'où fut isolée, en 1820, la coumarine. Plus d'un millier de coumarine ont été décrites et les plus simples d'entre elles sont largement distribuées dans tout le règne végétal (Bruneton, 1999). Elles dégagent une odeur agréable rappelant la vanilline, contribue à l'odeur de foin coupé et rentrent dans la composition de nombreux parfums (Chevalier, 2001).

Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (Cowan, 1999).

Les coumarines est un composé chimique organique appartenant à la famille des benzopyrones, dont le nom selon l'IUPAC est 2H-1-benzopyran-2-one, que l'on peut considérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-z-cinnamique (fig. I .6) (Bruneton, 2009).

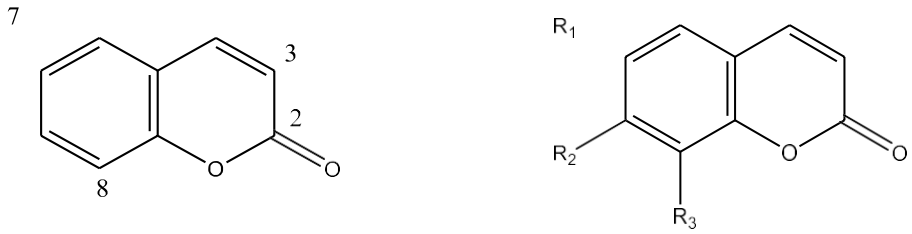


Fig. I .6. Structure chimique de quelques coumarines

Ces constituants possèdent une ou plusieurs fonction phénoliques, estérifiés ou non; C'est pour quoi on les rattache ou vent aux poly phénols. On les divise en :

- **Coumarine simples :** les plus répandues dans le végétal possèdent des substitutions (OH ou OCH_3) en position 6 et 7 (fig. I .7) (Bruneton, 1999).

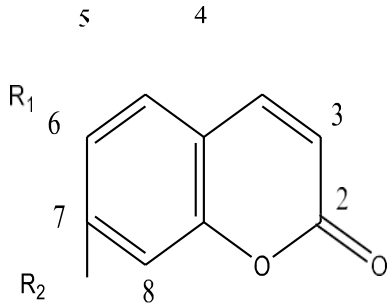
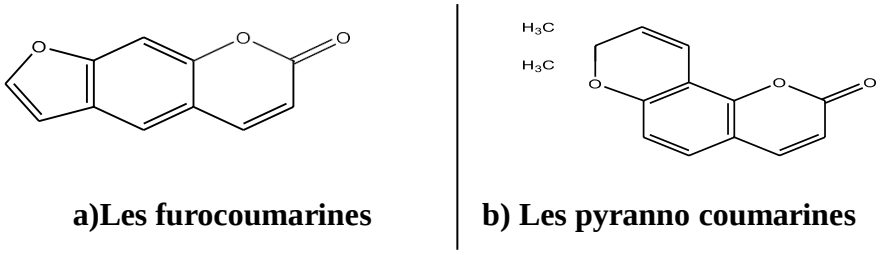


Fig. I. 7. Structure de coumarine simple

- **Coumarines complexes :** on distingue : (fig. I. 8.)
  - ✓ Les furo coumarines (a)
  - ✓ Les pyranno coumarines (b)



a)Les furocoumarines **b) Les pyranno coumarines**

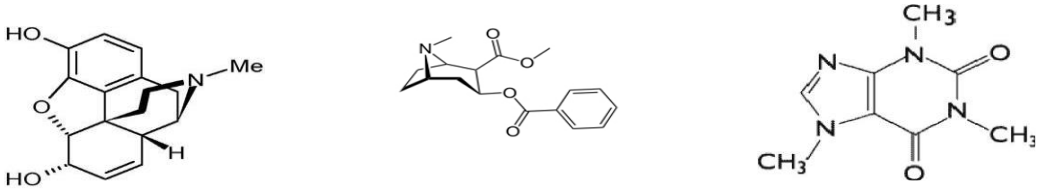
Fig. I .8. Quelques structures de la coumarine complexe

Les coumarines sont des solides cristallisés blancs ou jaunâtres de saveur généralement amère. Elles sont sublimables et entraînables à la vapeur d'eau. Les coumarines hydroxylées possèdent une intense fluorescence bleue en lumière ultra violette. Leur spectre UV est également caractéristique et sert à leur identification**.** Leurs propriétés chimiques sont principalement dues à la fonction lactone insaturée, notamment l'ouverture de l'anneau lactonique en milieu alcalin (Laouer et al, 1997).

I. 1. 5. 2. 5. Les alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un gout amer et certains sont fortement toxiques (Sérémé et al., 2010). Ils représentent le groupe de substances naturelles d'intérêt thérapeutique le plus important, en terme de nombre, de diversité structurale et de leurs activités pharmacologiques.

Les alcaloïdes sont au cœur des phénomènes d'adaptation et de défense face aux pressions biotiques. Ils ont été particulièrement étudiés, du fait des intérêts thérapeutiques et économiques qui y sont associés. On retrouve des molécules exploitées par l'industrie pharmaceutique comme la quinine, des stupéfiants : la morphine (fig. I .9 (a)), la cocaïne (fig. I .9(b)), des anticancéreux : la colchicine, la vincristine, la camptothécine, le taxol,…, des molécules utilisées comme poisons (la strychnine..) ou des stimulants : la caféine (fig. I .9(c)) ou encore comme antibiotiques du type pénicilline (Wichtl, 2009).



(a) **(b)** **(c)**

Fig. 1. 9. Quelques exemples des alcaloïdes : (a) Structure de la morphine ;(b) Structure de la cocaïne ; (c) Structure de la caféine.

I. 1. 5. 2. 6. Les terpènes

Les terpènes forment une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Les terpènes sont des dérivés de l'isoprène C_5H_8 et ont pour formule de base des multiples de celle-ci (C_5H_8). On peut considérer l'isoprène comme l'un des éléments de construction préférés de la nature. Leur squelette de carbone est constitué d'unités isoprèniques reliées entre eux. C'est ce que l'on appelle la règle de l'isoprène. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles.

Le carotène est un tétra terpène ($C_{40}H_{64}$). Il joue le rôle de pigment en photosynthèse végétale. Des matières aussi diverses que le caoutchouc, la vitamine A1 ou le cholestérol sont

construites essentiellement des «briques» d'isoprènes (fig. I.10) (Ramar et Ponnampalam, 2010 ; Mazid et al., 2011).

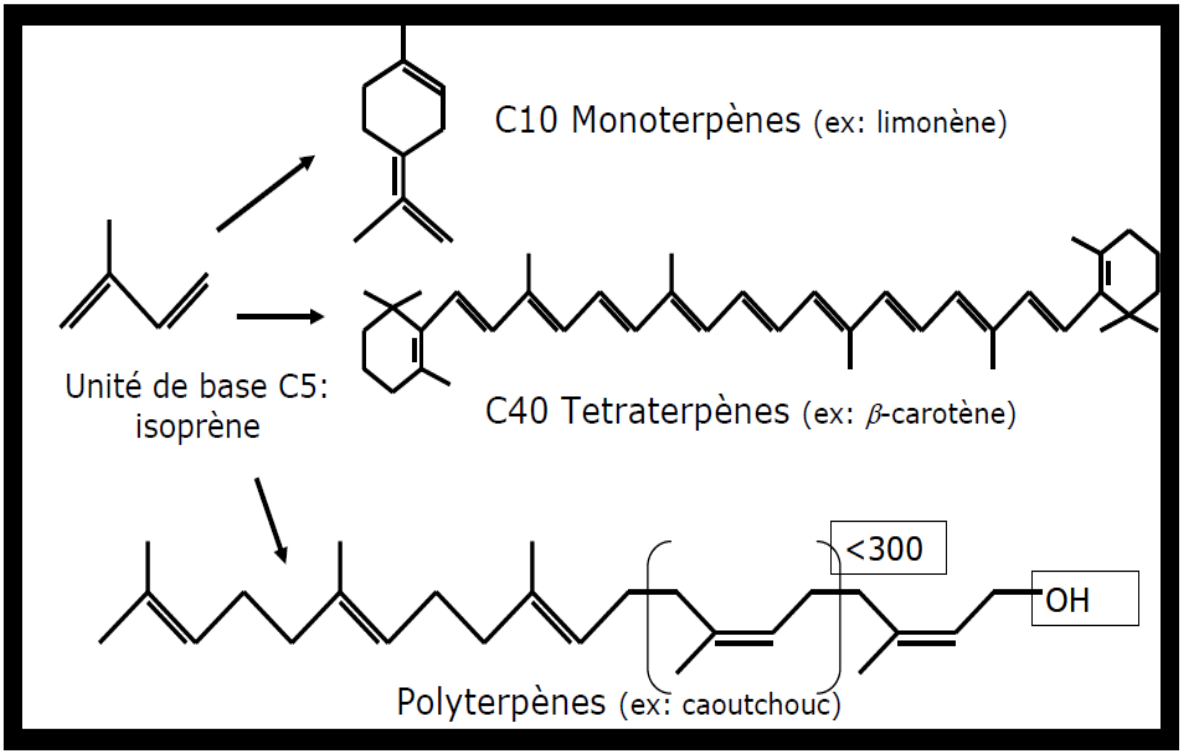


Fig. I .10. Structure des différents terpènes.

I. 2. Généralité sur les plantes utilisées dans notre étude

I. 2. 1. *Curcuma longa* L

I. 2. 1. 1. Historique

Le curcuma était très estime des anciens indo-européens pour la teinture d'un beau jaune doré qu'on en tirait. Toutefois, son importance pour l'être humain s'est vraiment révélé lorsqu'on a découvert, il y a longtemps, qu'ajoute, aux aliments, le rhizome en poudre permettait d'en conserver la fraicheur, la sapidité et la valeur nutritive (Loap, 2008).



Fig. I. 11. Rhizome de *Curcuma longa* L

L'usage de curcuma en inde serait apparu en tant que substitut de la safran et autre poudre jaune apportée par les anciens aryens lorsqu'ils envahirent cette partie du continent asiatique vers 2000 av j-c (Dymock et al., 1890).

En 1450, on le retrouve à francfort sur une liste de drogues à côté du gingembre et de zédoaires (Loap, 2008).

I. 2. 1. 2. Etymologie

Le nom scientifique *Curcuma longa* fait allusion à sa forme allongée (Lecerf, 2012). Le nom curcuma a été inventé par Linné dans son «espèce plantarum » en 1753 probablement le mot dérive du mot arabe « kurkum » qui signifie couleur jaune (tableau I. 2). Cela est dû à la couleur jaune proéminente de rhizome souterrain une partie importante de la plante qui a été utilisé traditionnellement depuis des temps immémoriaux pour l'humanité (Salvi et al., 2000; Shirgurkar et al., 2001). Ses appellations diffèrent d'un pays à un autre (tableau I. 2).

Tableau. I .2. Etymologie de C*urcuma longa* L (Delaveau, 1987; Swahn et Ciano., 1993; Loap, 2008).

Langue	Appellation
Allemand	Kurkumawurzel
Anglais	Turmeric
Arabe	Kurkumaكركم
Chine	Jiang huang
Français	Curcuma long, Safran des Indes, Souchet de Babylone, Terre-mérite
Hindi	Haldi
Latin	Curcuma

I. 2.1. 3. Taxonomie et classification botanique

La systématique du *curcuma longa L.*est présentée dans le tableau I. 3.

Tableau I. 3. Classification taxonomique de *Curcuma longa* L (Quezel et Santa, 1963).

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Classe	Monocotylédones
Ordre	Zingibérales
Famille	Zingiberaceae
Genre	*Curcuma*
Espèce	*Curcuma longa* L

I. 2. 1. 4. Description botanique

Curcuma longa L. (fig. I. 12) est une plante persistante qui peut mesurer de 60 à 100 cm de hauteur (Jourdan, 2015). Le rhizome est épais et annelé à la base de vieilles feuilles ; le curcuma ne se reproduit que via ses rhizomes (Kuete, 2017).

- ✓ **Le rhizome :** est un complexe charnu comportant un tubercule primaire ellipsoïde d'environ 5 cm x 2,5 cm, couleur jaune orangé, les jeunes pousses blanches (Jansen, 2005) **;**
- ✓ **Les feuilles :** sont larges et naissent à partir du rhizome. Elles sont alternes et distiques, présentent un pétiole engainant, portant un limbe penninervé, oblong-lancéolé, long d'une cinquantaine de centimètres, glabre sur les deux faces (Ali, 2013).
- ✓ **Les fleurs :** sont généralement jaunes et assemblées (Jourdan, 2015). Elles possèdent un calice tubulaire, court, présentant 3 dents inégales, une corolle tubulaire à sa base, puis divisée en 3 lobes jaunes inégaux (Hombourger, 2010).



Fig. I. 12. Schéma représentatif de *Curcuma longa* L (rhizome, feuille et fleurs)

I. 2. 1. 5. Utilisation de *Curcuma longa* L

Le *Curcuma* est utilisé en association avec d'autres plantes ou épices pour des raisons variées (Jourdan, 2015). Le principal usage du curcuma est alimentaire en tant qu'épice où il est utilisé sous forme de poudre. C'est un ingrédient largement utilisé dans différentes cuisines dans le monde telles que les cuisines asiatiques et créoles (Lamouche, 2011).

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

La curcumine est un traitement efficace pour diverses affections respiratoires, par exemple l'asthme, l'allergie, ainsi que les désordres hépatiques, l'anorexie, les rhumatismes, les rhumes, les sinusites (Araujo et Leon, 2001).

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

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

I. 2. 2. *Zingiber officinale* ou gingembre

I. 2. 2. 1. Historique

Le gingembre est l'une des premières épices orientales à rallier le bassin méditerranéen, probablement grâce aux phéniciens. En Egypte antique, il entre dans le processus de momification (Chouleur et al., 2009) (fig. I .13).



Fig. I .13 : rhizome de *Zingiber officinale* ou gingembre

Au XIII^{ème} siècle, les arabes exportent le gingembre en Afrique orientale, et les portugais en Afrique occidentale. Dès le début du XVI^{ème} siècle, le gingembre est introduit dans le Nouveau Monde (Aux Antilles, au Mexique), et rapidement, la production dépasse les espérances. Au XVII^{ème} siècle, le gingembre gagne le Brésil où il est largement cultivé. C'est aussi à cette époque qu'il est introduit dans les jardins botaniques européens (Chouleur et al., 2009).

I. 2. 2. 2. Etymologie

Le nom *Zingiber officinale* et sa traduction française « gingembre » proviennent du mot sanskrit *shringavera*, qui signifie « en forme de bois de cerf », en allusion à la forme des jeunes pousses sortant de son rhizome (Butin, 2017).

Apparaît ensuite le nom grec *ziggiberis*, qui découlerait du nom arabe zangabîl. Le terme latin *zingiber* apparaît plus tard, et est à l'origine du nom de genre botanique *Zingiber*.

Il est adapté en vieux français en « gingibre », pour finalement s'écrire « gingembre » à partir du XIII^{ème} siècle (Minker et al., 2012 ; Butin, 2017).

I.2.2.3.Taxonomie et classification botanique

La systématique du gingembre est présentée dans le tableau I. 4.

Tableau. I .4. Classification taxonomique de gingembre

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Classe	*Liliopsida (ou Monocotylédones)*
Ordre	*Zingibérales (ou Scitaminales)*
Famille	*Zingibéracées*
Genre	*Zingiber*
Espèce	*Zingiber officinale Roscoe*

Autre noms utilises : Epice blanche, ginger, jenjanb (Faivre et al., 2006 ; Gigon, 2012)

I. 2. 2. 4. Description botanique

Le gingembre est une plante tropicale herbacée vivace poussant dans les régions en soleillées et humides, se dressant sur une tige de 1,50 m en moyenne, mais pouvant atteindre 3m de haut. La partie souterraine utilisée est le rhizome (fig. I. 14). Celui-ci se divise dans un seul plan et est constitué de tubercules globuleux ramifiés. La peau du rhizome est beige pâle et sa chair est jaune pâle juteuse et parfume (Gigone, 2012).



Fig. I. 14. Schéma représentatif de *Zingiber officinale* (rhizome, feuille et fleurs)

Il devient de plus en plus fibreux avec l'âge, couvert de feuilles écailleuses et pourvu à sa partie inférieure de racines cylindriques. Ses feuilles sont persistantes bisériées, longues, étroites, lancéolées, pointues et longues de 20 cm. Elle possède deux sortes de tiges : tiges hautes stériles servant à l'assimilation chlorophyllienne et des tiges plus courtes (20cm environ) portant des fleurs irrégulières en épi. L'inflorescence est en courts épis axillaires très serrés, à tige couverte d'écailles, entourée de spadice dense : grosses bractées vert jaune cireuses, superposées. Elle a des fleurs parfumées blanc jaune, avec des trainées rouges sur les lèvres. La floraison a lieu entre les mois d'aout et novembre (Faivre, 2006).

I. 2. 2. 5. Utilisation de gingembre

- ✓ **Usage culinaire à travers le monde**

Dans la cuisine indienne, c'est un ingrédient dans différents mélanges d'épices sauces, comme le" masala" ou le "Vindaloo".

Les rhizomes sont souvent employés dans la cuisine chinoise et la cuisine hongrois pour couvrir les odeurs et saveurs fortes et pour parfumer biscuits et gâteaux. Il est aussi consommé en Afrique de l'Ouest sous forme de jus pressé (sucré) appelé "Gnammankoudji" (Yagmurand et Caru, 2015).

- ✓ **Usage cosmétique**

L'huile essentielle de gingembre apporte une note à la fois chaude et délicate, épicée et citronnée aux produits cosmétiques et aux parfums maison. Tonique**,** elle aide à stimuler la pousse de cheveux (Guib-Fakim, 2006).

- ✓ **Usage thérapeutique ancestrale**

Depuis très longtemps dans les médecines traditionnelles asiatiques, le gingembre utilisé à des fins médicales avant de l'utiliser dans le domaine culinaire. La décoction est l'une des méthodes traductionnelles de préparation de rhizome de gingembre pour le soin des maux physiques (Ujang et al, 2015), à savoir :

- Digestions difficiles, flatulences, constipations**,** troubles intestinaux.
- Nausées, mal de transport, maux de ventre, le diabète, hypertension artérielle et stimuler la circulation sanguin.
- Les douleurs dentaires.
- Bronchite, sinusite, toux, catarrhe chronique.
- Il est utilisé comme un anti-inflammatoire pour traiter les douleurs articulaires, rhumatismes et la fatigue musculaire (Ujang et al., 2015).

- ✓ **Usage thérapeutique actuel**

Aujourd'hui, *Zingiber officinale Roscoe* est disponible sur le marché sous forme des compléments alimentaires d'indications diverses telles qu'anti-hyper glycémique, antiémétique et en cas de dégénérescence des organes (améliore la circulation dans les vaisseaux capillaires); variées en fonction de l'état de rhizome. Il se trouve sous forme d'extrait sec contenu dans des gélules, sous forme liquide, en teinture ou en ampoules buvables (Butin 2017).

I. 2. 3. *Saussurea costus*

I. 2. 3. 1. Historique

Fut décrit pour la première fois par Folcner en 1841 qui l'est baptisé *Aucklandia costus,* dans « Les Annales Et Magazines De L'histoire Naturelle », à l'honneur du Lord Auckland. Joseph Decaisme l'a décrit en nom d'*Aplotaxis lappa* en se basant sur la collection Jacquemont du Cachemire.



Fig. I. 15. Racine de *Saussurea costus*

En 1947, Carl Heinrich Schultz lui a transféré avec beaucoup d'autres espèces du genre *Aplotaxis*vers le genre *Saussurea* et a reconnu *Aplotaxis lappa* . Comme synonyme de *Saussurea lappa* Sch. En 1891, Kuntze a utilisé le terme *Theodorea* comme le nom correct de ce genre, à l'honneur de Theodore de Saussure. En 1964, le nom *Saussurea costus* a été accepté comme le nom correct de *Theodorea costus* (Kasana et al., 2018). Ses appellations diffèrent d'un pays à un autre (tableau I. 5).

I. 2. 3. 2. Etymologie

Les différents noms de costus sont résumés dans le tableau I .5.

Tableau I. 5. Etymologie de *Saussurea costus* (Kirtikar et Basu, 2001 ; Pandey et al., 2007; Tabata et al., 2015; Akbar, 2020; Nadda et al., 2020).

.

Langue	Appellation
Allemand	Indischekostuswurzel, Practigekostwurz
Anglais	arabian costus, kutroot
Arabe	القسط الهندي
Chine	Mu Xiang, Yunmuxiang
Français	costus, costus élégant
Hindi	Kut (Gujrati), Kur (Bengali), Postkhai (Kashmiri).
Japonnais	Mokko

I. 2. 3. 3. Taxonomie et classification botanique

La classification du costus est mentionnée dans le tableau I. 6 (Zahara et al., 2014).

Tableau I. 6. Classification taxonomique de *Saussurea costus*

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Classe	*Magnoliopsida*
Ordre	*Asterales*
Famille	*Asteraceae*
Genre	*Saussurea*
Espèce	*Saussurea costus*

I. 2 .3. 4. Description botanique

Saussurea costus est une plante vivace, dressée pubescente sa tige robuste droite et fibreuse (Akbar, 2020),mesure de 1 à 2m de haut et porte des feuilles charnues, alternes, lobées et irrégulièrement dentées, scabreuses au-dessus et glabres au-dessous, auréolées, triangulaires et larges à la base mesurant 0.5 à 1.25m de long avec un pétiole ailé. Elles deviennent plus petites et rondes au sommet et brièvement pétiolées avec deux lobes qui enserrent presque la tige (Pandey et al., 2007 ; Nadda et al., 2020).



Fig. I .16. Champs de costus



Fig. I .17. Partie florale du costus

Les capitules florales (fig. I .17) dépourvues de pédoncule sont d'un pourpre bleuté a presque noir, dures, arrondies, de 2.4 à 3.9cm de diamètre, elles se regroupent souvent en amas axillaires des feuilles ou en extrémité, en nombre de 2- 5 (Pandey et al., 2007 ; Nadda et al., 2020). Les bractées nombreuses, sont ovales ou lancéolées, rigides et glabres, longuement pointues, courbées en arrière, et de couleur violette, pubescentes quand elles sont encore jeunes, glabres à maturité (Pandey et al., 2007 ; Akbar, 2020) (fig. I. 17).

Les racines séchées, grosses et épaisses, ont une forme de doigts mesurent de 8 à 12 cm de long sur 1 à 3cm de diamètre (Hassan et Masoodi, 2020) jusqu'à 5.5cm (Khan et al, 2013) rétrécies au centre et parfois striées (Hassan et Masoodi, 2020) (fig. I .18).



Fig. I .18. Racines du costus

I. 2. 3. 5. Utilisation costus

- ✓ **Utilisation traditionnelle de la plante**

Les racines du *Saussurea costus* ont été largement utilisées dans la médecine traditionnelle pour traiter les maladies avec un syndrome inflammatoire tel que la gastrite, l'arthrite rhumatoïde, l'asthme et les bronchites. Dans la partie Sud du Cachemire, de l'Himalaya, et du Pendjab, les racines sont utilisées aussi pour traiter les dysenteries, les maux

de tête, la rage des dents, et les problèmes de peau (Amara et al., 2017).

- ✓ **Usage thérapeutique du *Saussurea costus***

Les recherches phytochimiques ont montré que les STL (Sesqui terpènes Lactones), constituant les composants les plus réactifs du *Saussurea lappa,* ont plusieurs activités pharmacologiques y compris l'effet antispasmodique, anti-inflammatoire, immuno-modulateur, antioxydant et antimicrobien….etc.(Amara et al., 2017).

I. 3. Activités biologiques des extraits végétaux

Les extraits végétaux sont largement utilisés pour leurs propriétés et activités biologiques à savoir : l'activité antibactérienne, antifongique, insecticides, anti-inflammatoire...etc (Silou et al., 2003). Des études sur les différents composants extraits ont montré d'importants modes d'action biologique pour éventuelle application en santé. Certains d'entre eux constituent des alternatives efficaces à des composés synthétiques de l'industrie chimique, sans qu'il y ait apparition d'effets secondaires (Bakkalia et al., 2007).

Les produits végétaux sont particulièrement riches en métabolites secondaires qui peuvent être exercé des rôles biologiques divers. Dans notre travail on s'intéresse à l'activité antimicrobienne et l'activité anti-inflammatoire des extraits végétaux des trois plantes médicinales : gingembre, curcuma et costus. Cette activité est liée à leur composition chimique.

I. 3. 1. L'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des extraits des plantes médicinales est principalement liée à leur composition chimique et en particulier à la nature de leurs composés majoritaires. En effet, il est admis que l'activité antimicrobienne de ces plantes se classe dans l'ordre décroissant suivant la nature de leurs composés majoritaires : Phénol >alcool >aldéhyde >cétone >oxyde >hydrocarbure >ester (Lee et al., 1971).

L'activité antimicrobienne a été attribuée à la fonction phénolique des flavonoïdes, cette activité est sensée augmenter avec le nombre de substituant hydroxyles, méthoxyles ou glucosyle. Les structures les plus efficaces étant les flavones et les flavanones. De nombreuses études ont montré l'effet antimicrobien des tanins sur différentes bactéries, virus et champignons, dans les infections pulmonaires ils agissent grâce à une action inhibitrice sur la croissance microbienne. Les flavonoïdes pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont de puissants inhibiteurs in vitro de l'ADN gyrase (Boudjelal, 2009).

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des plantes, il est probable que leurs activités antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Carson et al., 2002). Le mode d'action

dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leurs propriétés hydrophobe qui leurs permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions K^+ce qui entraîne une diminution du gradient ionique trans membranaire (Khedis et Aid, 2020). Ce mécanisme a été observé avec l'huile de l'arbre à thé sur les bactéries Gram positif (*S. aureus*) et Gram négatif (*E. coli*) et la levure (*Candida albicans*) in vitro (Cox et al, 2000 ; Carson et al., 2002).

Le mode d'action des extraits des plantes médicinales dépend aussi du type de microorganismes: en général, les bactéries Gram négatif sont plus résistantes que les bactéries Gram positif à cause de la structure de leurs membranes externes. La membrane extérieure des Gram négatif est plus riche en lipo-polysaccharides (LPS) et en protéines que celle des Gram positif qui la rend plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer. Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux LPS membranaires grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (Dorman et Deans, 2000).

Thongsson (2005) (Khedis et Aid, 2020) ont rapporté que l'huile essentielle de curcuma et de gingembre est efficace sur *Listéria monocytogenes* mais non sur les salmonelles. Il a été rapporté, également, que la fraction huileuse de *Curcuma longa* et la curcumine suppriment la croissance de plusieurs bactéries comme *Streptococcus*, *Staphylococcus* et *Lactobacillus*. La curcumine joue un rôle dans l'inhibition de la croissance de *Helicobacter pilori* (Khedis et Aid, 2020).

L'effet antibactérien des extraits de curcuma et gingembre et costus est évalué dans cette étude par la technique de diffusion sur l'agar.

L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par Mutai et al. (2009), ils ont classé les zones d'inhibitions de la croissance en 5 classes :

- ✓ D≥30mm : Très fortement inhibitrice.
- ✓ 21mm≤D≤29mm : Fortement inhibitrice.
- ✓ 17mm≤D≤20mm : Modérément inhibitrice.
- ✓ 11mm≤D≤16mm : Légèrement inhibitrice.
- ✓ D<10mm : Non inhibitrice.

I. 3. 2. L'activité anti- inflammatoire

I. 3. 2. 1. Définition de l'inflammation

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression d'origine physique, chimique ou biologique dans le but de maintenir son intégrité (fig. I.19). L'inflammation est un processus habituellement bénéfique, son but est de mobiliser le système immunitaire afin d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, ou encore de régulations anormales du processus inflammatoire (Zerbato, 2010).

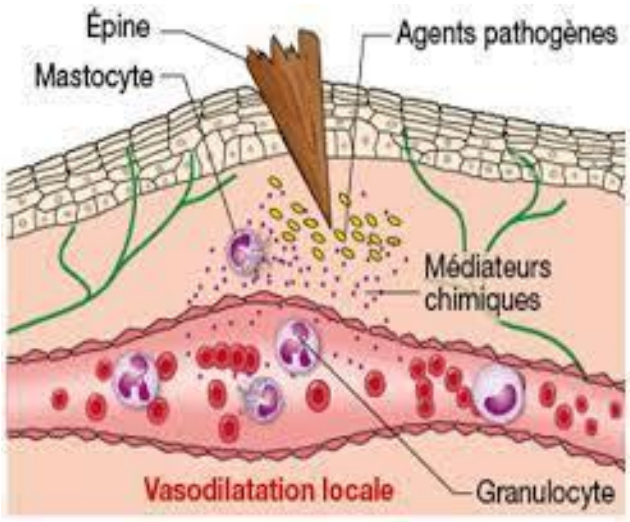


Fig. I. 19. Schéma présentant la réaction inflammatoire

I. 3. 2. 2. Les Types de la réaction inflammatoire

I. 3. 2. 2. 1. L'inflammation aigue

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (Zerbato, 2010).

Nous prendrons l'exemple d'une plaie avec coupure (brèche vasculaire).(fig. I. 20). Ceci va entraîner une réaction locale qui vise dans un premier temps à stopper l'hémorragie puis à recruter les cellules inflammatoires au niveau du tissu lésé, pour finir par réparer le tissu.

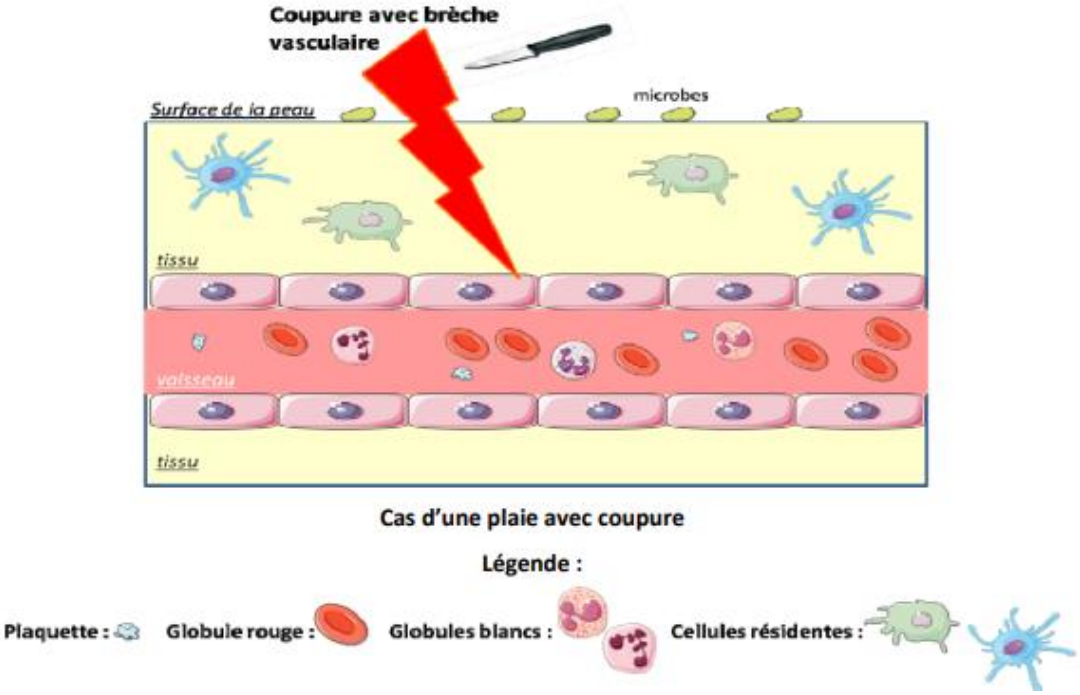


Fig. I. 20. Schéma représentatif d'une coupe au niveau d'une plaie

La réaction de l'inflammation aigue se déroule en trois principales étapes :

- ✓ **phase d'initiation : phase vasculaire et activation des cellules résidentes**

Suite à une lésion d'un, les plaquettes sont activées très rapidement : elles interviennent, avec l'aide de facteurs pro-coagulants présents dans le plasma, pour colmater la brèche et limiter l'accès des pathogènes à l'organisme (fig. I. 21). Les plaquettes activées libèrent aussi des protéines aux propriétés agrégantes et vasoconstrictrices (rétrécissement du diamètre des vaisseaux) puissantes. L'activité de vasoconstriction est extrêmement brève et sert à limiter les « fuites » de sang.

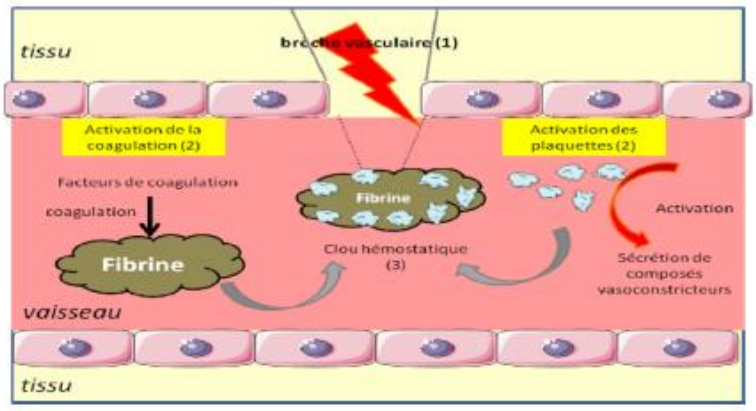


Fig. I. 21. Activation plaquettaire au cours des premières étapes de la phase vasculaire

Après la lésion et à l'entrée d'agents pathogène, les cellules sentinelles de l'immunité (les macrophages, les mastocytes et les cellules dendritiques : Ces cellules proviennent de la moelle osseuse et ont colonisé ensuite les différents tissus de l'organisme. Au niveau du tissu, elles sont les premières à être activées suite à la reconnaissance du microbe, détectent des signaux de danger. En effet, ces cellules sentinelles expriment sur leur membrane des récepteurs de l'immunité innée. Ces récepteurs reconnaissent les molécules « étrangères » : composants de la paroi ou de la membrane des bactéries ou des champignons, protéines virales,….etc. . (Fig. I. 22).

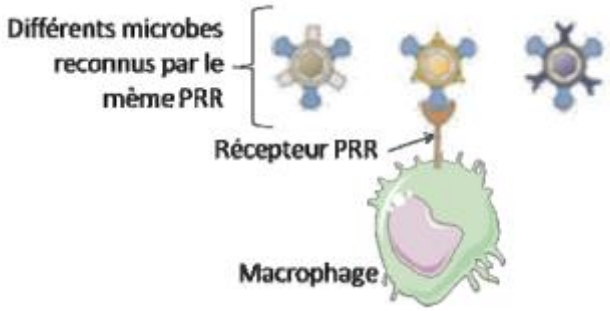


Fig. I. 22. Reconnaissance des pathogènes par les cellules phagocytaires : les macrophages et les cellules dendritiques expriment des récepteurs reconnaissant des motifs présents à la surface de nombreuses bactéries mais absents des cellules de mammifères (PRR : *Pattern Recognition Receptor*).

- ✓ **La phase d'amplification**

Les cellules sentinelles sécrètent des médiateurs chimiques de l'inflammation (l'histamine, les prostaglandines et les cytokines) (fig. I. 23). Les symptômes de la réaction inflammatoire, à savoir : rougeur, chaleur, gonflement et douleur, sont alors mis en place.

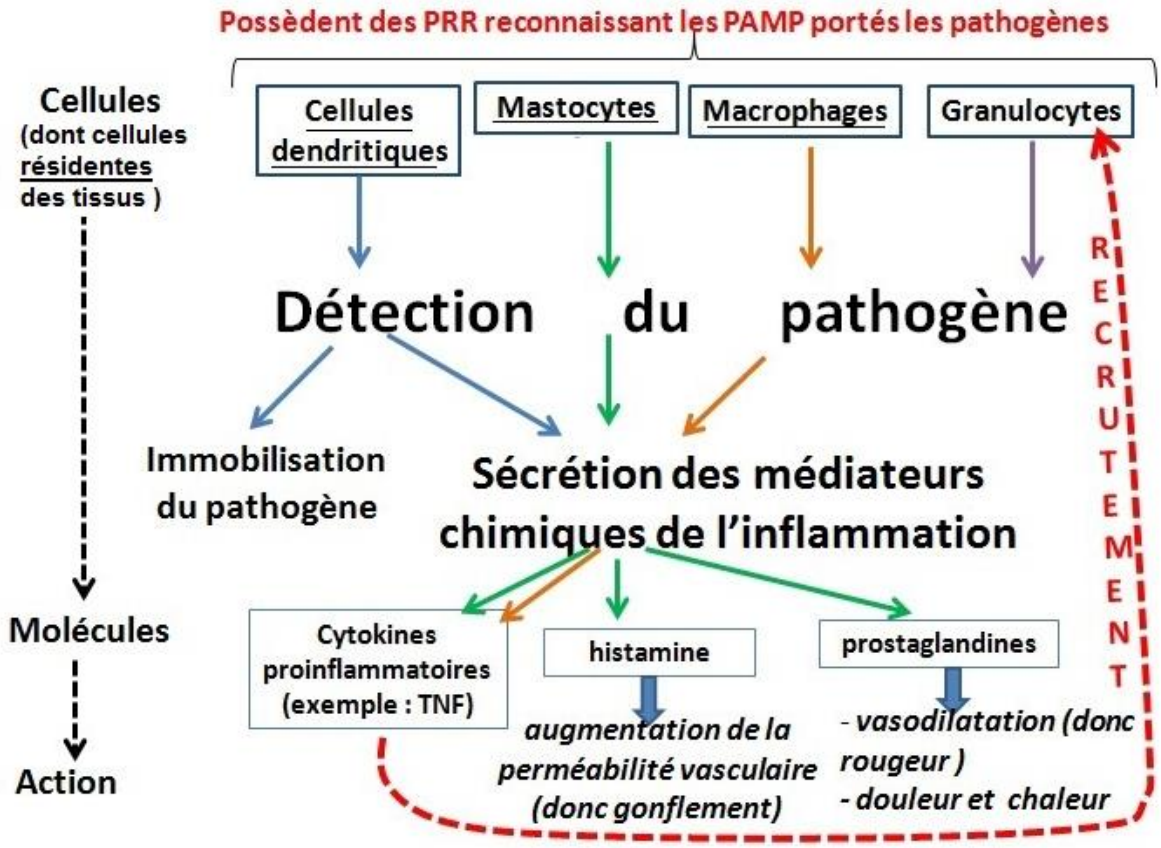


Fig. I. 23. Les diverses cellules et molécules impliquées dans le déclenchement de la réaction inflammatoire aigüe (PAMP : Pathogen Assiciated Molecular Pattern)

- **Les mastocytes :** libèrent de l'histamine et des prostaglandines qui permettent l'attraction par chimiotactisme des phagocytes.
- **Les macrophages :** libèrent des cytokines engendrant une hyperthermie qui augmente la mobilité des granulocytes.

Ainsi, des molécules libérées sue le lieu de l'agression facilitent la venue des éléments actifs du système immunitaire, en particulier les cellules phagocytaires qui franchissent la paroi des vaisseaux sanguins par diapédèse. La migration des cellules s'accompagne d'un transfert et accumulation locale de plasma qui crée l'œdème (Fig. I. 24).

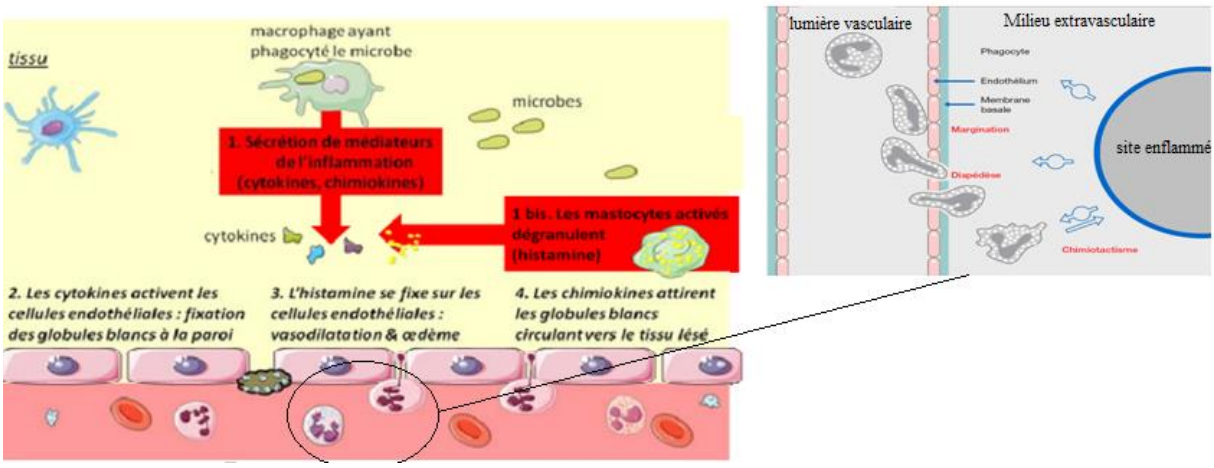


Fig. I. 24. Schéma montrant la vasodilatation et chimiotactisme induit par les messages sécrétés par le mastocyte et le macrophage activé

L'importance des symptômes de la réaction inflammatoire pour l'organisme réside dans l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins qui favorise un afflux de molécules et de cellules immunitaires sur le lieu de l'infection, la douleur alerte l'organisme d'une agression. Tandis que l'augmentation de la température favorise le déplacement des cellules immunitaires et inhibe par exemple de développement des microorganismes pathogènes.

Le tableau I.7, montre les différents médiateurs chimiques de l'inflammation et les effets physiologiques qui en résultent.

Tableau I. 7. Les médiateurs chimiques de l'inflammation

Molécules	Cellules sécrétrices	Effets physiologiques	Conséquence dans le corps
Histamine	Mastocytes Granulocytes	Vasodilatation Augmentation de la perméabilité vasculaire avec un afflux de sang dans les tissus et une sortie de plasma sanguin	Rougeur, chaleur et Gonflement (œdème)
Prostaglandines	Mastocytes	Vasodilatation, augmentation de la perméabilité vasculaire avec un afflux de sang dans les tissus et une sortie de plasma sanguin, Stimule les récepteurs sensoriels	douleur et fièvre
Interleukines	Mastocytes Macrophages Cellules dendritiques	Augmentation du recrutement et de la production des cellules et des molécules de l'immunité innée et engendrent une hyperthermie.	Responsable d'une sensation de chaleur

✓ **La phase d'élimination du pathogène et de réparation tissulaire**

La réaction inflammatoire doit être limitée dans le temps. Cette dernière phase de réparation dépend du degré de lésion au niveau du tissu et peut prendre 10 à 15 jours. Dans le meilleur des cas, les microbes ont été éliminés par les neutrophiles (Fig. I.25), et éventuellement les macrophages.

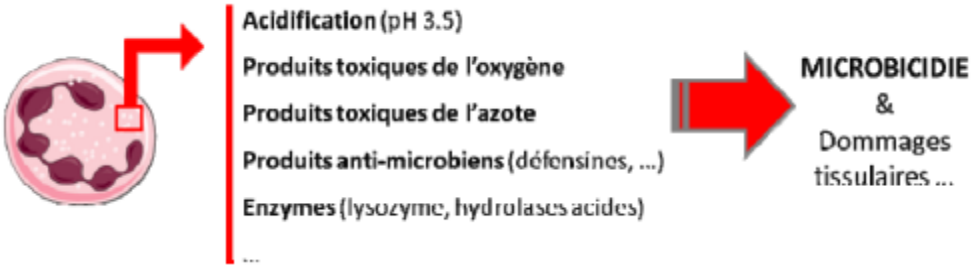


Fig. I. 25. Elimination des agents pathogènes par les neutrophiles

(Les neutrophiles, après ingestion du microbe, produisent et déversent, au niveau du tissu lésé, des composés hautement réactifs (un peu comme de l'eau oxygénée !), contenus dans leurs granules : il s'agit de formes réactives de l'oxygène, de monoxyde d'azote et de peptides antimicrobiens.)

Les produits de dégradation et les débris cellulaires sont phagocytés par les macrophages qui vont sécréter des cytokines induisant la phase de cicatrisation et de régénération tissulaire. Le retour à l'état normal nécessite une réparation des tissus lésés qui peut se faire :

• par les cellules endothéliales elles-mêmes (production de collagène, laminine,…) en cas de faibles dégâts ;

• par d'autres cellules, si l'atteinte est plus grave et des tissus détruits : les macrophages vont participer à la réparation des vaisseaux (angiogénèse) et les fibroblastes vont produire les protéines de la matrice extracellulaire (collagène, fibronectine, laminine) pour permettre la reconstruction du tissu. Cette réparation tissulaire met l'angiogénèse au repos. Après une blessure, l'angiogénèse (création de nouveaux vaisseaux sanguins) permet de restaurer le flux sanguin après réparation des tissus lésés.

I. 3. 2. 2. 2. L'inflammation chronique

La persistance de la réaction inflammatoire et la perturbation de son contrôle physiologique conduisent à la chronicité de l'inflammation. En effet, une infiltration excessive des leucocytes au niveau du site inflammatoire et une mauvaise élimination

de l'agent causal de l'inflammation sont à l'origine du développement de l'inflammation chronique (fig. I.26). L'inflammation chronique est également provoquée dans le cas de certaines maladies auto-immunes, où des antigènes du soit activent continuellement le système immunitaire. La réponse inflammatoire chronique est ainsi caractérisée par une longue durée. C'est ce qui arrive dans les crises de la goutte par exemple, causées par le dépôt de cristaux d'urate dans les tissus. La présence de ces cristaux attire les neutrophiles qui les phagocytent. Etant résistants à l'action des enzymes lysosomiales, les neutrophiles n'arrivent pas à s'en débarrasser et les rejettent avec leurs enzymes dans les tissus environnants. Ce qui conduit au recrutement de nouveaux leucocytes, essentiellement les macrophages et les lymphocytes et amplifie la réponse inflammatoire qui devient chronique (Sellal, 2009).

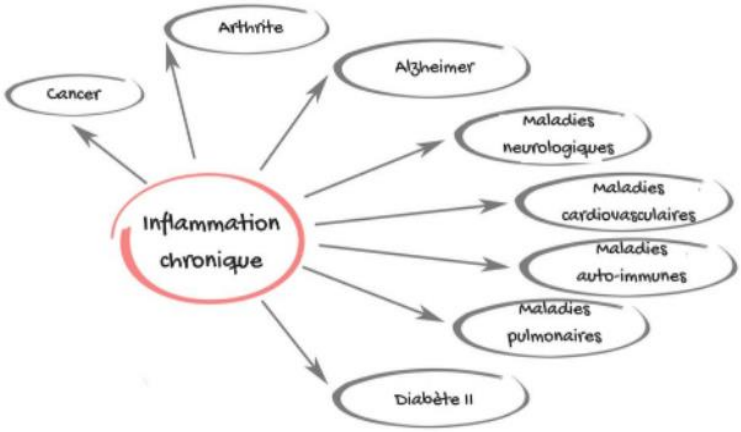


Fig. I. 26. Quelques exemples de maladies inflammatoires de type chronique

- **Rappel sur la synthèse des prostaglandines**

Les prostaglandines ont pour origine métabolique l'hydrolyse des phospholipides membranaires. Cette biotransformation fait intervenir les phospholipases A2 transformant ainsi ces phospholipides en acide arachidonique. Celui-ci sera ensuite métabolisé en produits oxygénés par l'intervention de plusieurs enzymes tels que les cyclo-oxygénases (fig. I.27).

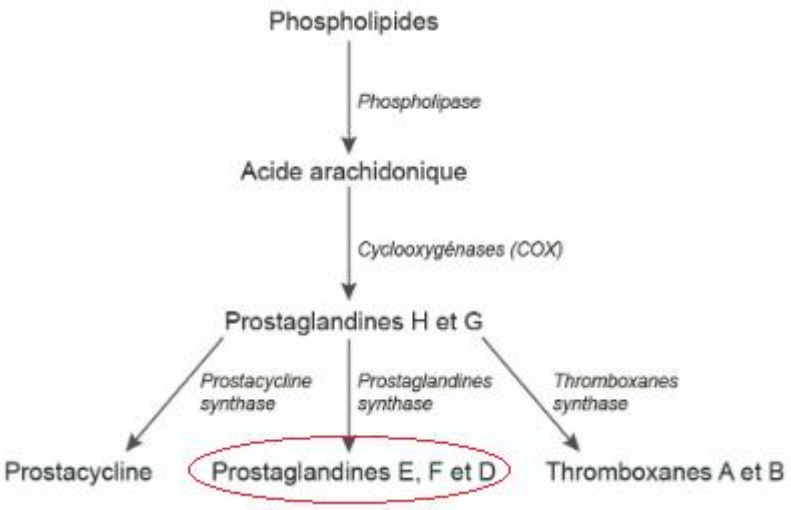


Fig. I. 27. Résumé du métabolisme de l'acide arachidonique

La COX-1 est constitutive c'est-à-dire qu'elle est présente de façon permanente dans une grande majorité des cellules. Elle permet un maintien de l'homéostasie de l'organisme. A l'inverse la COX-2 est inductible, et n'est activée que par les facteurs d'inflammation que sont les cytokines et les polysaccharides, en réponse à une réaction inflammatoire (tableau I.8). Les prostaglandines produites par la COX-1jouent surtout un rôle physiologique (en particulier la protection gastrique), alors que celles produites par la COX-2 sont surtout produites dans des conditions inflammatoires (Vonkeman et al, 2008).

Tableau I. 8. Différences entre les deux COX

	COX-1	COX-2
Type d'enzyme	**Consécutive**	**Inductible**
	Maintien l'homéostasie de l'organisme	Réponse à une réaction inflammatoire
Rôle	Présente dans l'estomac, le rein, le colon, les plaquettes et la plupart des autres tissus	Activité des stimuli comme les cytokines par exemple Présente dans les monocytes et les macrophages

I. 3. 2. 3. La thérapeutique anti-inflammatoire

Elle est généralement menée par des molécules de synthèses du type anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) ou stéroïdien (corticoïdes), médicaments largement utilisés mais dont les effets secondaires sont parfois graves, en particulier la toxicité sur le

système rénal et digestif (irritations digestives pouvant aller jusqu'à l'ulcération gastrique) (Das, 2011).

I. 3. 2. 3. 1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments à propriétés anti- inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques. Ils présentent une grande hétérogénéité chimique mais ils ont en commun l'inhibition non sélective de l'enzyme cyclo-oxygénase (COX) (Bidaut- Russel, 2001). Les AINS traditionnels inhibent les deux enzymes capables de synthétiser des prostaglandines : la COX-1 et la COX-2 (fig. I. 28).

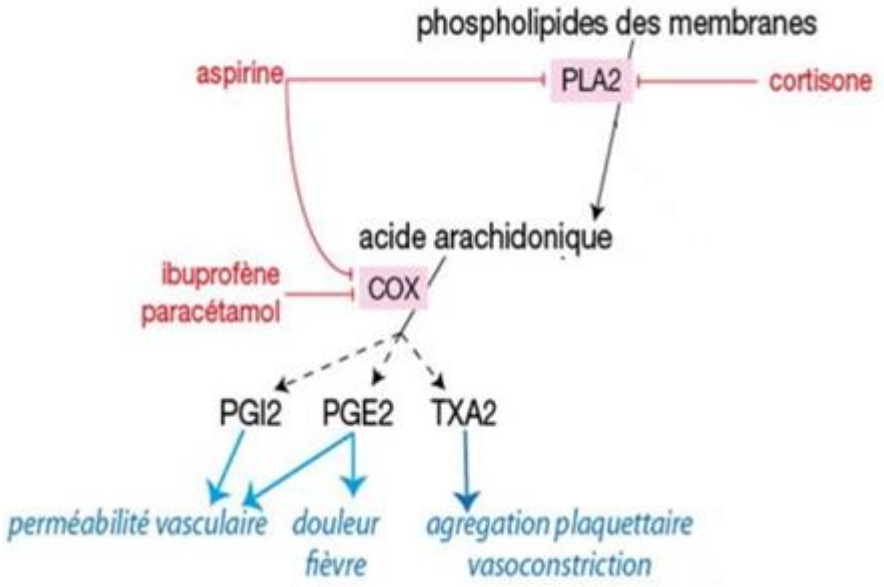


Fig. I. 28. Mode d'action des AINS

I. 3. 2. 3. 2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes sont des dérivés du cortisol. Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques tel que l'arthrite rhumatoïde et les maladies auto-immune (Payne et Adcock, 2001). L'usage des glucocorticoïdes est associé à de nombreux effets indésirables, le risque d'apparition de ces effets s'accroît avec le prolongement de la durée du traitement ; conduisant à des troubles aigus tels que l'hypertension artérielle et d'ulcères gastro-duodénaux (Henzen, 2003).

I. 3. 2. 3. 3. Les anti-inflammatoires naturelles

Les effets anti-inflammatoires des polyphénols, qui peuvent être exercées au niveau moléculaire, sont dépendants de la structure spécifique des composés polyphénoliques. Les

fonctions de macrophage, y compris la production de cytokines, peut également être affectée par certains flavonoïdes par la modulation de la cyclo-oxygénase inductible (COX-2) et l'oxyde nitrique synthase inductible. Plusieurs études expérimentales ont rapporté les effets immuno modulateur des composés polyphénoliques sur l'immunité humorale et cellulaire (Neyestani, 2008).

Les extraits du gingembre montrent également des activités pharmacologiques, notamment anti-inflammatoires, par l'inhibition d'importantes enzymes de régulation. En effet, le gingerol, le shogoal et le paradol sont des puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines, des leucotriènes et des molécules pro-inflammatoires très actives. Cet effet est dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la lipooxygénase et de la cyclooxygénase (Setty et Sigal, 2005 ; Lantz et al., 2007).

Partie II

Partie Expérimentale

Chapitre II

Matériels et Méthodes

Ce travail a été effectué dans les laboratoires du département de Sciences de la Matière (SM) de l'Université de Médéa et le groupement de SAIDAL Médéa pendant une durée de 3 mois : mars-avril –mai 2022 dont le but est d'évaluer le potentiel antimicrobien et l'activité anti-inflammatoire *in- vitro* de trois extraits végétaux (curcuma, costus indien et gingembre) utilisés dans la médecine alternative afin d'infirmer ces utilisations traditionnelles.

II. 1. Matériel et méthodes

II. 1. 1. Matériel biologique

II. 1. 1. 1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude correspond à l'espèce « *Zingiber officinale*», «*Curcuma longa* L» et «*Saussurea lappa*», reconnues sous les noms de gingembre, curcuma et de costus indien, respectivement. La partie utilisée est le rhizome (curcuma et gingembre) et les racines pour costus. Ces rhizomes et racines sont commercialisés chez les herboristes de la wilaya de Médéa sous forme de rhizome et racines secs .

II. 1. 1. 2. Les souches microbiennes

- **Les souches bactériennes**

L'activité antimicrobienne des extraits de curcuma , gingembre et costus a été testé contre :

- ✓ *Escherichia coli* ATCC 8739
- ✓ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
- ✓ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027
- ✓ *Bacillus Subtilis* ATCC 6633
- ✓ *Klebsiella pneumoniae* (souche sauvage)
- ✓ *Proteus mirabilis* (souche sauvage)

- **La levure**

- ✓ *Candida albicans* ATCC 10231
- ✓ *Saccharomyces Cerevisiae* ATCC 9763

Le matériel bactérien utilisé dans cette étude a été fourni par Laboratoire de Microbiologie de Service de Contrôle Qualité de groupe SAIDAL, Médéa. Ces souches de référence et souches sauvages ont été conservées au réfrigérateur à 4°C.

II. 1. 2. Produits chimiques

Tous les produits chimiques utilisés dans ce travail sont cités dans le tableau II. 1.

Tableau II. 1 : Réactifs, produits chimiques et milieux de culture

Réactifs et produites chimiques	**Milieux de culture utilisés**
Ethanol, propylène glycol, glycérine, chlorure Ferrique, hydroxyde de sodium, l'acide anhydride, l'acide sulfurique, liqueur de Fehling, réactif de Folin- ciocalte**u**, carbonates de sodium, tampon phosphate PBS, solution hypo salin, l'acide gallique, l'eau distillé**e**	Gélose Nutritif (G.N) Milieu Mueller Hinton (M.H).

II. 1. 3. Appareillages et verreries

Tous les appareillages et verreries utilisés dans ce travail sont cités dans le tableau II.2.

Tableau II. 2 : Appareillages et verreries

Appareillage	verreries	Autre consommable
balance électrique, bain marie, plaque chauffante, thermomètre, pH mètre, réfractomètre, densitomètre, étuve, Rota-évaporateur, broyeur domestique, autoclave, spectrophotomètre, vortex**,** centrifugeuse, micropipette, conductimètre .	cristallisoir, béchers, verre de montre, flacons, burettes graduées, erlenmeyer, entonnoirs, tubes à essais,	papier filtre, boites de pétri, disques en papier filtre, écouvillons, pince, bec bunsen.

II. 2. Méthodologie

II. 2. 1. Broyage

Les rhizomes secs de gingembre, curcuma et les racines de costus indien sont broyés à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Puis, ces poudres ont été conservées dans des boites en plastiques alimentaires, hermétiquement scellées, à l'abri de la lumière et de l'humidité pour des analyses ultérieures.



Fig. II. 1. Préparation de poudre des différentes plantes (photo originale)

II. 2. 2. Préparations des extraits

L'extraction solide-liquide par un solvant est une opération qui consiste à laisser macérer la matière végétale (broyat) des plantes étudiées, dans le solvant pour extraire les principes actifs.

Dans notre travail, différents solvants ont été utilisés à savoir : l'eau distillée, le glycérol, l'éthanol et le propylène glycol. Les conditions d'extraction sont présentées dans le tableau II. 3.

Tableau II. 3. Conditions de préparation des extraits végétaux de : curcuma, costus indien et gingembre

Solvant	La matière végétale (g)	Volume du solvant	Conditions	Temps
Eau distillé	100	1000 ml	Laisser macérer à T° ambiante	24 h
Glycérol/ED	100	420g/280ml	**Etape1 :** chauffez à 80°C	1h
			Etape 2 : Laisser macérer à T° ambiante et à l'obscurité	15 jours
Ethanol/ED	125	375ml/125ml	**Etape 1 :** Mettez dans un bain marie bouillant 80°C	30 mn
			Etape 2 : Laisser macérer à T° ambiante et à l'obscurité	15 jours
PG/ED	200	100g/900ml	Laisser macérer à T° ambiante et à l'obscurité	1 jours

ED : eau distillée, PG : propylène glycol

A la fin de chaque opération une filtration au papier wathman N°=9 a été réalisée à fin de récupérer l'extrait.



Fig. II. 2. La filtration de l'extrait (photo originale)

II. 2. 3. Détermination du rendement

Le rendement est déterminé à l'aide de rota-évaporateur (Fig. II.3) . Cet appareil permet d'éliminer rapidement le solvant, volatil, par évaporation. Le principe est basé sur l'abaissement du point d'ébullition avec pression.



Fig. II. 3. Montage expérimentale de rota évaporateur (photo originale)

Le rendement en extrait sec est définit comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse du matériel végétal traité en gramme. Ce rendement est

calculé via l'équation (1) (Carré, 1953) :

R (%)= (M/M0) x 100……(1)

R (%): Rendement exprimé en % ;

M: Masse en g de l'extrait sec résultant ;

M0: Masse en (g) de la matière végétale initiale utilisée pour l'extraction.

II. 2. 4. Caractérisation des extraits végétaux bruts

II. 2. 4. 1. Caractérisation organoleptique

Il s'agit de l'analyse sensorielle des caractéristiques des extraits obtenus. Elle consiste en l'observation des extraits bruts puis apprécier la couleur et l'odeur.

II. 2. 4. 2. Analyses physicochimiques

- **Détermination de la densité**

Le principe de fonctionnement est basé sur la mesure directe de la densité à l'aide d'un densitomètre avec présentation numérique des résultats en unités Mc Farland (Fig. II.4).



Fig. II. 4. Densitomètre (photo originale)

- **Détermination de l'indice de réfraction**

La mesure a été effectuée directement à l'aide d'un réfractomètre de type 2 waj abbe banche. Après avoir ajusté la ligne horizontale, les résultats apparait immédiatement (Fig. II.5).

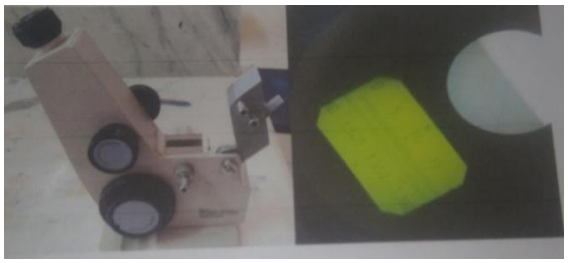


Fig. II. 5. Réfractomètre et la lecture de l'indice de réfraction (photo originale)

➢ **Détermination de pH**

La mesure de pH à température ambiante a été réalisée par le trempage directe de la sonde du pH mètre (Fig. II.6) dans l'extrait à caractériser.



Fig. II. 6. Mesure de pH des extraits végétaux obtenus

➢ **Détermination de la conductivité**

La mesure a été effectuée directement à l'aide d'un conductimètre.

II. 2. 4. 3. Screening phytochimique

Le screening phytochimique a été réalisé sur les différents extraits par des réactions usuelles à l'aide des réactifs de caractérisation classique.

Les différentes techniques de détection utilisables pour un screening des composés actives doivent être simples, rapides, reproductibles et sensibles. Ces méthodes sont donc qualifiée à la détection de quelques groupes chimiques (alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, saponines, terpènes, composés réducteurs,…). Elles n'ont d'ailleurs qu'une valeur indicative, et une affirmation ultérieure par des méthodes plus précises et plus sélectives est indispensable (Bruneton, 2009).

Nous avons utilisé la méthode de Haddouchi et ses collaborateurs (2016). Pour les tests suivants :

➢ **Test des Tanins**

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 2 ml de l'extrait aqueux, 1 à 2 gouttes de solution de chlorure ferrique ($FeCl_3$) diluée à 0,1%. L'apparition d'une coloration verte foncée indique la présence des tanins condensés ou bleu vert indique la présence des tanins hydrolysables.

➢ **Test des quinones**

À 2 ml de l'infusé, on ajoute quelques gouttes de NaOH à 10%. Le virage de la couleur de la phase aqueuse au jaune, rouge ou violet témoigne de la présence des quinones**.**

- **Test des terpénoides**

La détection des terpénoides est mise en évidence en mélangeant 2 ml d'extrait avec 2 ml d'acide anhydride, puis par l'ajout de 1ml d'H_2SO_4 au fond de tube sans agitation. La formation d'une coloration brune rougeâtre à l'interface du l'extrait révèle la présence des terpénoides.

- **Test des composés réducteurs**

Introduire 1 ml d'extrait dans un tube à essai, ajouter 1 ml de liqueur de Fehling et incuber l'ensemble 8 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs**.**

II. 2. 4. 4. Dosage des polyphénols totaux

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée par méthode colorimétrique avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de Folin-ciocalteu. Le mélange, d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et molybdène (MO_8O_{23}). La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (Boizot et al, 2006).

Pour évaluer la teneur des extraits végétaux en polyphénols, on a pris 0.1ml de chaque extrait auquel on a ajouté à 100 µl du réactif de Folin- ciocalteux (dilué 10 fois dans l'eau distillée). Après agitation, on a laissé le mélange reposer 5 minutes, puis on a ajouté 2ml de solution de carbonate de sodium (2%), fraichement préparée. Après incubation de 30 minutes à température ambiante et à l'obscurité, on a effectué une lecture de l'absorbance à 700 nm par un spectrophotomètre UV (Boumerfeg et al., 2009)(Fig. II.8.)

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0.1- 1 mg/ml).

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par milligrammes d'extrait (mg EAG/mg d'extrait).

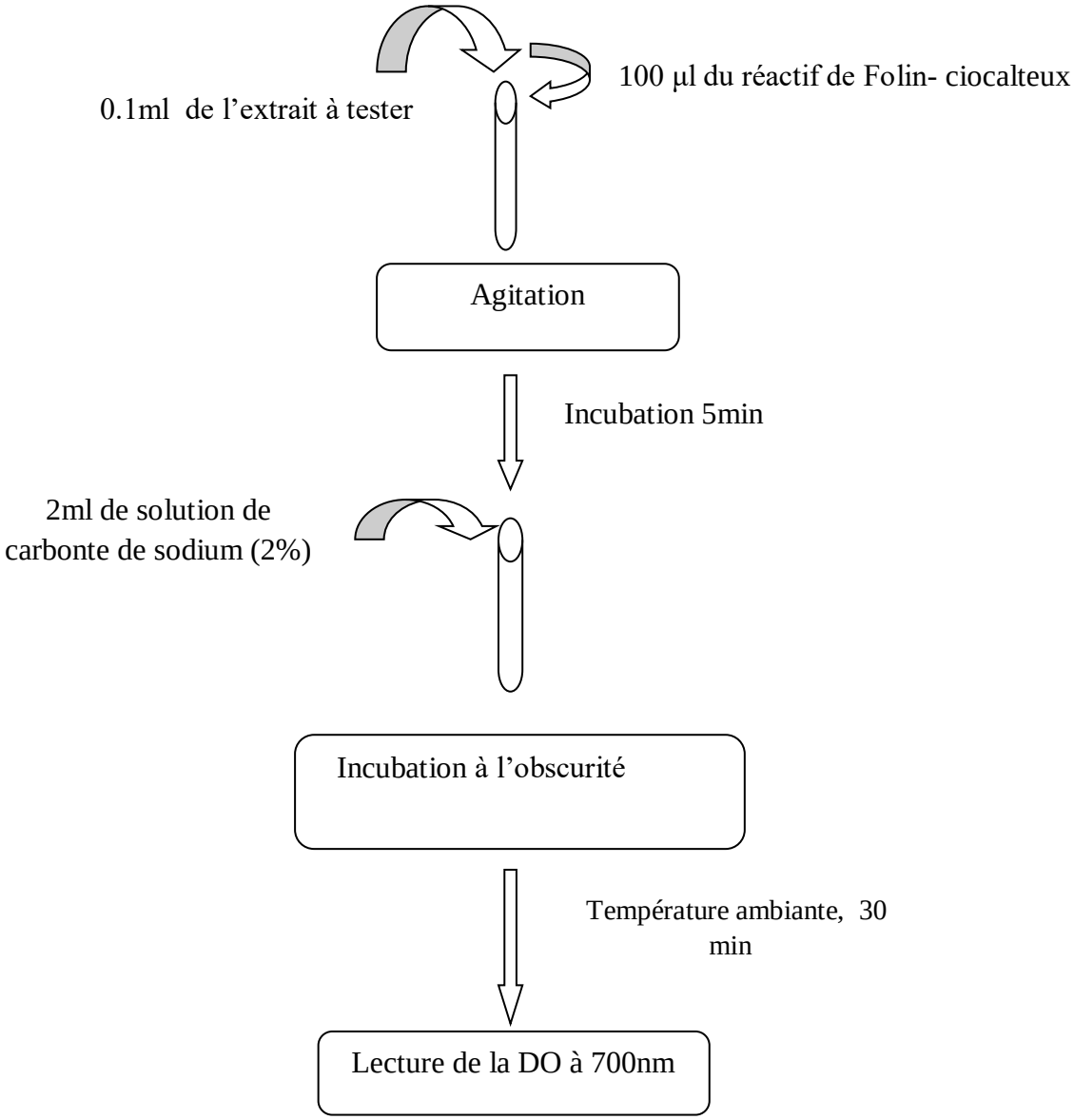


Fig. II. 7. Le protocole de dosage des polyphénols (originale)

II. 2. 5. Evaluation de l'activité biologique des extraits végétaux

II. 2. 5. 1. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Les tests de sensibilité et résistance antimicrobienne ont été effectués selon la méthode de diffusion sur milieu solide (Rota et al, 2008).

Le principe de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes consiste à réaliser une culture microbienne sur milieu Muller- Hinton (MH), en présence de disques imbibés d'extrait de plante. Si ces derniers ont une activité antimicrobienne, on observera une zone

d'inhibition autour du disque.

1- Revivification des souches

Les souches bactériennes ont été revivifiées et repiquées dans le bouillon nutritif (Fig. II.9), puis incubées à des températures optimales de développement (37°C) pendant 18 heures.

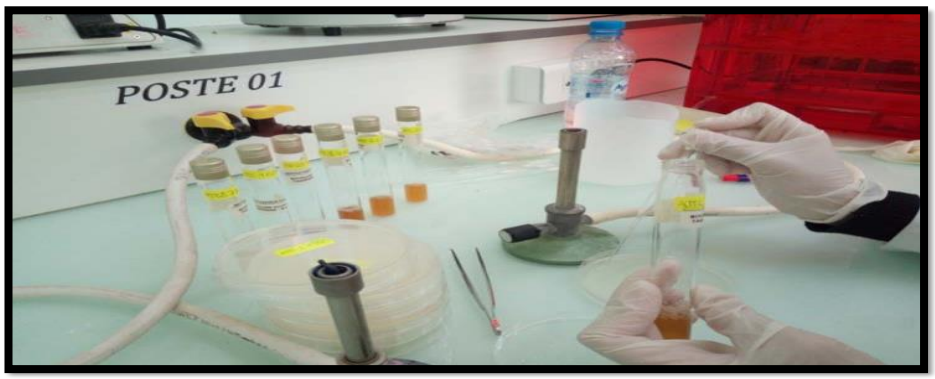


Fig. II. 8. Revivification des souches bactériennes et préparation de l'inoculum (photo originale).

2- Préparation de l'inoculum

Chaque souche est ensemencée au préalable sur une gélose nutritive puis incubées à 37°C pendant 24h, pour l'obtention d'une culture jeune. Par la suite, des suspensions microbiennes seront réalisées en prélevant 3 à 5 colonies jeunes, bien isolées et identiques. Tremper dans 5 ml d'eau physiologique stérile puis on agite au vortex à fin d'avoir une turbidité cellulaire (10^6 à 10^8UFC/ml) correspondant à une densité optique DO entre 0,08 à 0,12 lue à 625 nm. Préparation des milieux de culture

La gélose de Muller- Hinton (milieu spécifique pour la réalisation de l'antibiogramme (chez les bactéries), prêt à l'usage, a été coulée, une quantité équivalente à 18 ml dans des boites de pétrie stériles. Laisser les boites entrouvertes devant la flamme jusqu'à complète solidification avant leur emploi.

3- Ensemencement par écouvillonnage

L'écouvillon stérile, trempé et agité dans la suspension bactérienne, préalablement préparée, est essoré sur la paroi de tube à essai. L'ensemencement consiste en l'étalement par écouvillonnage d'un milieu Muller –Hinton (Fig. II.10**)**. L'écouvillon doit passer 2 à 3 fois sur toute la surface de manière à obtenir un ensemencement homogène et une culture abondante. Laisser sécher les boîtes 10 minutes avant de déposer les disques.

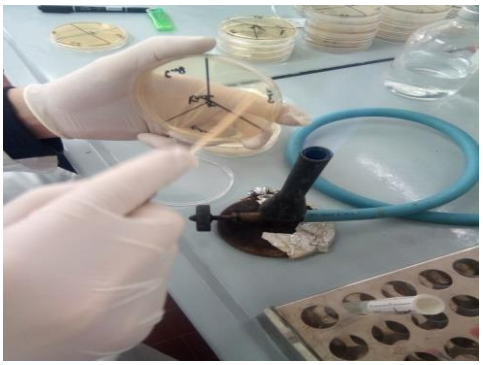


Fig. II. 9. Ensemencement par écouvillonnage de la suspension bactérienne (photo originale).

4- Préparation des disques

Des disques (en papier filtre type Wattman N°1) stériles de 6mm de diamètre ont été déposé stérilement à l'aide d'une pince stérile sur la boîte ensemencée, les disques sont préalablement imbibés de 10µl de chaque extrait brut de gingembre , de curcuma et de costus indien à la surface de la gélose Muller –Hinton ou la gélose Saboraud. Les boites de pétri sont placées à basse température (+4°C) pendent 2h afin de permettre aux extraits de diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier; Retirer les boites du réfrigérateur et les placer à l'étuve, à la température optimale de croissance du germe à étudier (37 °C) pendent 24 h.

5- Lecture des résultats

Après 24 heures d'incubation, mesurer à l'aide d'une règle graduée le diamètre de la zone d'inhibition des bactéries auteur des disques. Le diamètre (mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe vis- à- vis l'extrait végétal du germe.

II. 2. 5. 2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in - vitro*

- ✓ **Echantillons de sang humain**

Des échantillons de sang frais (environ 6ml) ont été récupérés dans des tubes héparinisés, à partir du laboratoire du SM où la prise de sang a été effectuée, sur des volontaires (20- 25 ans) n'ayant pas pris de médicaments anti-inflammatoires, durant les deux dernières semaines avant le prélèvement.

- ✓ **Préparation de la suspension des globules rouges humains**

Les échantillons de sang récupérés ont été centrifugés à 3000rpm, pendant 10min. Le surnageant est, par la suite, éliminé et le culot de globules rouges a été lavé trois fois avec de l'eau physiologique, jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair, en centrifugeant à chaque fois à la vitesse 3000 rpm, pendant 5 min (Fig. II.11). Le volume de globules rouges a été mesuré afin de préparer une suspension de 10% (v/v) de globules rouges humains, avec de l'eau physiologique.

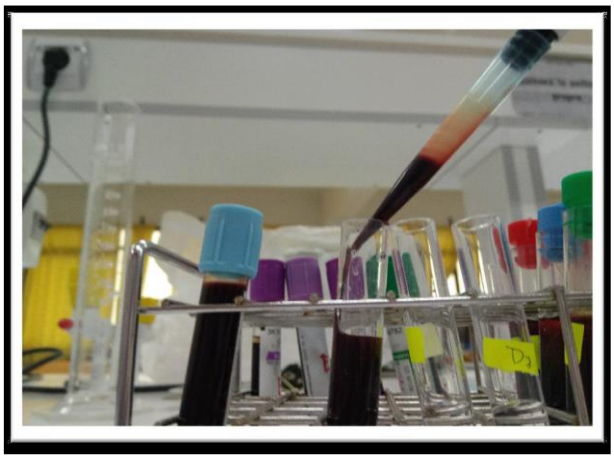


Fig. II. 10. Préparation de la suspension des globules rouges (photo originale)

- ✓ **Evaluation de l'activité hémolytique (la toxicité des extraits vis- à- vis des globules rouges)**

Le test d'effet hémolytique des extraits végétaux étudiés est réalisé selon la méthode de Haddouchi et ses collaborateurs (2016). Dans des tubes à hémolyse, 20µl de chaque extrait est ajouté à 1980µl de la suspension érythrocytaire préparée. Ces tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 60 minutes. Après l'incubation, des prélèvements de 250µl sont réalisés pour chaque tube pour être repris dans 750µl de PBS ; la mixture obtenue est mélangée délicatement et mise dans un bain glacé pour arrêter la réaction, puis centrifuger à 2500 tours/min durant dix minutes (fig. II. 12).

La lecture de des absorbances est effectuée à 548 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc contenant du PBS.

Dans les mêmes conditions et les mêmes démarches expérimentales, nous avons préparé un tube d'hémolyse totale (témoin positif) qui contient 100µl de la suspension érythrocytaire et 1900µl d'eau distillée et un tube témoin négatif composé de 250µl de la suspension érythrocytaire et de 750 µl de PBS.

Nous avons utilisés l'acide gallique comme molécule de référence avec les mêmes démarches expérimentales que les extraits des plantes.

Le taux d'hémolyse de différents extraits est calculé par rapport à l'hémolyse totale, après 60 minutes d'incubation selon la formule suivante :

Taux d'hémolyse (%) = (DO extrait – DO témoin négatif)/DO témoin positif

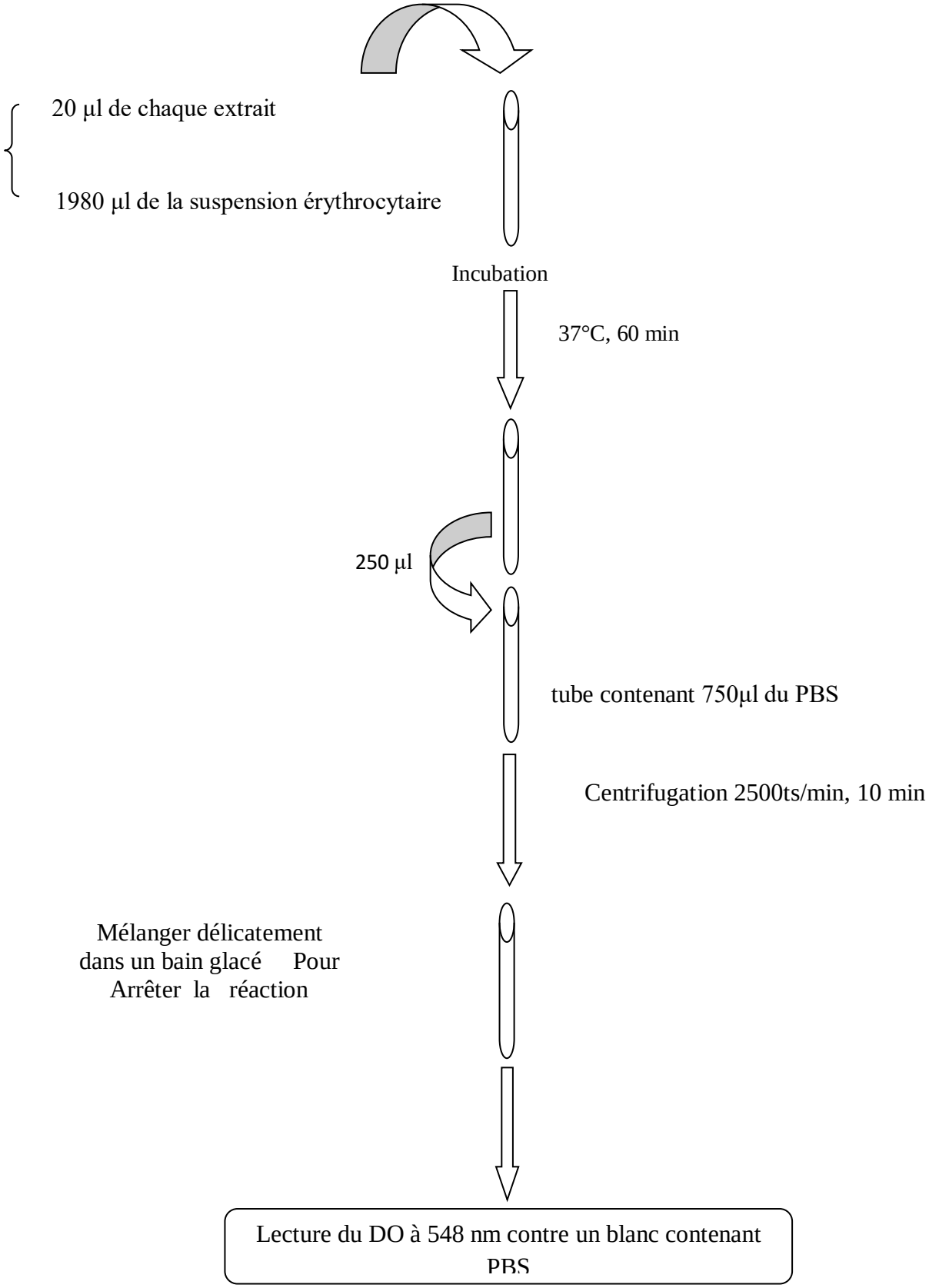


Fig. II. 11. Protocole expérimental de détermination de l'activité hémolytique

- ✓ **Evaluation de l'effet des extraits sur la stabilisation de la membrane des globules rouges**

Le test se base sur l'étude de l'effet des extraits végétaux, étudiés dans notre travail, sur la stabilisation des érythrocytes, après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique associée à une température élevée, selon le protocole de Ganesh et al. (2013).

Dans des tubes à hémolyse, 0.5 mL d'extraits, 1.5 mL du tampon phosphate (0.15 M, pH 7.4) et 2 ml de la solution hyposaline (NaCl à 0.36 %) ont été mélangés et incubés, à 37°C pendant 20 min (Fig. II.13). Par la suite, un volume de 0.5 ml de la suspension des érythrocytes (20%) a été rajouté pour chaque tube, enchainé d'une incubation, à 56°C pendant 30 min. Les tubes ont été mis dans de l'eau froide pendant 20 min, afin d'arrêter la réaction ensuite centrifugé, à 3000 rpm pendant 5 min. La lecture d'absorbance du surnageant est faite à 560nm, à l'aide d'un spectrophotomètre. Le contrôle consiste en un mélange de 2.5ml de la solution hyposaline, 1.5 ml du tampon PBS, 0.5 ml de la suspension de globules rouges.

Le diclofénac est utilisé comme molécule de traitement anti-inflammatoire, avec les mêmes concentrations que l'extrait. Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ de stabilité des membranes des GR} = 100-[At / Ac]$$

Ac : absorbance de control, At : absorbance de l'échantillon (test)

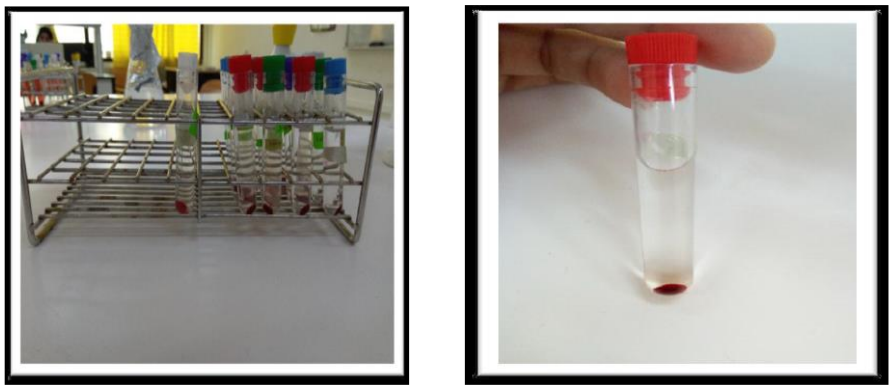


Fig. II. 12. Etude de la stabilité de membrane des GR (photo originale)

II. 3. Application : préparation de gel buvable

A la fin de notre travail, nous avons tenté à formuler un gel buvable à base des extraits végétaux préparés au début de cette étude. Les formules testées sont présentées dans le tableau II. 4.

Tableau II. 4. La formule du gel buvable préparé

La formule 1	La formule 2
Extrait de Curcuma10% Ou Extrait de Costus10 % ou Extrait Gingembre 10 %	Gomme xanthane
L'eau déminéralisée	Acide ascorbique (vit. C)
Alpha amylase	Colorant
Sorbitol	Para- Hydroxy benzoate de Méthyle
Vitamine E	Benzoate Sodium
Acide ascorbique (vit. C)	Sorbitol
Saccharose	Arôme de mandarine
NaOH	L'eau déminéralisée
------	Saccharose
------	NaOH

Le but de cette partie est la formulation d'un complément alimentaire sous forme d'un gel buvable anti-infectieux.

II. 3. 1. Méthode de préparation du gel buvable

Le mode opératoire se résume comme suivant :

Nous mélangeons les deux formulations dans un bécher de 250 ml, tous les excipients sont mis sous agitation mécanique à température environ de 25°C pendant dix minutes puis homogénéisé à l'aide d'un homogénéisateur de type (IKAT25ULTRA-TURRAX) (Fig. II.13), à fin d'assurer une bonne stabilité de gel formulé.



Fig. II. 13. Homogénéisateur de type IKAT 25ULTRA-TURRAX (Originale)

Chapitre III
Résultats et discussion

III. 1. Les taux d'extraction

Les procédés d'extraction des plantes médicinales constituent une étape cruciale, car elle est déterminante de la qualité et de la quantité de principes actifs recherchés, qui reflètent directement leurs activités pharmacologiques (Ben Sghaier et al., 2011). Plusieurs facteurs peuvent influencer les taux d'extraction : la structure chimique des composés, la granulométrie, le temps de macération, la température, la nature du solvant et les conditions de stockage et de la culture (climat et sol), ainsi que la méthode d'extraction (Wu et al., 2011 ; Tag et al., 2016). De plus, le broyage et le tamisage ont été réalisés de façon à pouvoir récupérer le maximum de poudre fine ayant un diamètre inférieur à 63µm, car ce diamètre augmente la surface de contact du solvant avec la poudre pour un meilleur rendement (Chen et al, 2012).

Les différentes plantes utilisées dans notre travail à savoir : *Curcuma*, Costus indien et Gingembre ont été soumis à des extractions par macération en utilisant quatre solvants de polarité différente, donc de nos résultats (fig. III. 1), on constate que les extraits de l'eau distillée, glycérine et propylène glycol ont un rendement plus faible que celui obtenu par les extraits de l'éthanol.

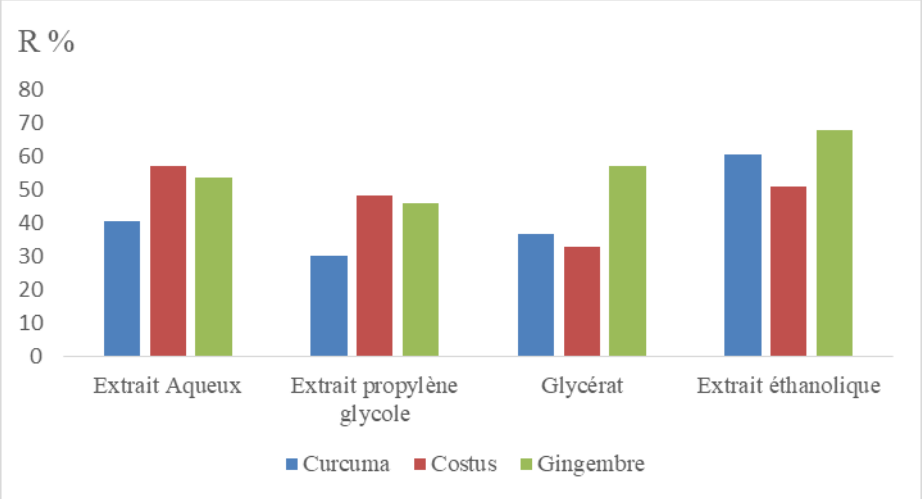


Fig. III. 1 : Les rendements d'extraction en fonction de la plante et le solvant

La figure III. 1, montre que, le meilleur rendement d'extraction du gingembre et le curcuma a été obtenu en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction dont on a obtenu 68% et 60,51%, respectivement. Tandis que, le meilleur rendement d'extraction de costus indien, 57.11%, est obtenu en utilisant l'eau distillée comme solvant d'extraction. Nos résultats corroborent avec ceux obtenus par Naz et al. (2010), qui ont travaillé sur trois variétés de

Curcuma longa. Leurs résultats montrent que l'extraction par l'éthanol a permis l'obtention d'un rendement de 67,04% contre 55,27% d'extraction en utilisant l'eau distillée.

Le rendement n'est que relative et semble être lié aux propriétés génétiques des plantes, l'origine géographique, conditions et la durée de stockage, de la récolte et aussi des conditions dans les quelles l'extraction a été effectuée (nature de solvant et la méthode d'extraction…).

Les variations de rendements des extractions peuvent se justifier par l'effet de solvant, la nature des composés, l'espèce et l'origine de la plante, le rapport poids de la plante/Volume du solvant et la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (Lee et al., 2003).

III. 2. Caractérisation physico-chimique et organoleptique

III. 2. 1. Screening (Criblage) phytochimique

Les analyses phytochimiques qualitatives ont été réalisées sur tous les extraits de costus indien, gingembre et *Curcuma* pour détecter ses métabolites secondaire. Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions, sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau III. 1.

D'après les résultats obtenus aussi ; pour le Gingembre, nous remarquons la présence des tanins, des quinones libres, des composés réducteurs et Les terpénoides pour l'extrait aqueux et absence pour les autre extrait sauf les quinones.

Le tableau III. 1, montre que l'extrait aqueux du costus indien possède une forte concentration en tanins, terpenoides et les composés réducteurs. Tandis que les extraits éthanolique, glycérat et glycolique possèdent de fortes concentration en tanins et terpénoides. L'analyse phytochimique montre également que tous les extraits du costus indien présente une faible concentration en quinones. Pour les composés réducteurs, l'extrait alccolique et le glycérat possèdent une quantité moyenne tandis que l'extrait glycolique en possède une faible quantité.

Tableau III. 1. Résultats du criblage phytochimique costus, Curcuma et Gingembre

Tests	Réactif	Plante	aqueux	Hydro alcoolique	Hydro glycolique	PG/eau
Tanins	$Fecl_3$	Costus	+++	+++	+++	+++
		Curcuma	+	-	-	+
		gingembre	+	-	-	-
Les terpénoides	Chloroforme + H_2SO_4	Costus	+++	+++	+++	+++
		Curcuma	+	-	-	++
		gingembre	++	+	++	+++
Les quinones	NaOH	Costus	+	+	+	+
		Curcuma	++	+++	+++	++
		gingembre	+	++	-	+
Les composés réducteurs	Liquide de Fehling	Costus	+++	++	++	+
		Curcuma	+	+	-	++

+++ : forte quantité ; ++ : moyenne quantité ; +: faible quantité ; - : absence totale

Une étude réalisée par Rasha et al. (2015) sur plusieurs extraits de costus montre en plus de la présence de ces mêmes principes actifs, d'autres métabolites comme des alcaloïdes, des coumarines, des stérols et des glycosides. On conclut que la costus présente une diversité de constituants chimiques.

Ce tableau montre également, que l'extrait aqueux du curcuma possède une faible quantité en tanins, terpenoides et les composés réducteurs. Par contre on note l'absence des terpenoides dans l'extrait éthanolique, et les tanins dans l'extrait aqueux et glycérat du curcuma. Ce dernier ne contient pas de composés réducteurs. Pour les quinones on remarque qu'il y a une forte quantité dans les extraits éthanolique et glycérat du curcuma et une moyenne quantité dans les extraits aqueux et glycolique. Ce dernier possède une forte concentration et terpenoides.

Pour l'extrait glycolique du gingembre possède une forte quantité en terpenoides. Ces derniers sont présents en faibles quantité dans l'extrait éthanolique et en quantité moyenne dans l'extrait aqueux et le glycérat du gingembre. Ce dernier, ne contient ni quinones ni tanins. On note, également, l'absence des composés réducteurs dans tous les extraits du gingembre. De même que, les tanins sont absents dans l'extrait glycolique du gingembre. Les résultats obtenus sont analogues à ceux trouvés par Amari (2016), ces derniers ont montré que la Gingembre contient des quinones libres, des flavonoïdes, des tanins et absence des composés réducteurs dans tous les extraits de gingembre.

Donc l'analyse qualitative montre que tous les extraits du costus indien présente la proportion la plus élevées en polyphénols (toute classe confondue), dont l'extrait aqueux est

le meilleur. Suivi par les extraits du curcuma et du gingembre qui présente les proportions les plus faibles. Cette différence est due au fait que la composition, ainsi que la quantité des métabolites secondaires d'un extrait végétal, peuvent être influencées par plusieurs facteurs tel que le mode et le temps d'extraction, la température, la nature du solvant ainsi que sa polarité qui permet de solubiliser et extraire les composés de polarité similaire au solvant (Green, 2004 ; Ncube et al., 2008). De même, le choix d'un solvant pour l'extraction de la matière végétale, doit répondre à un certains nombres de critères dont la faible toxicité et la facilité de l'évaporation à basse température (Hughes, 2002 ; Ncube et al., 2008).

III. 2. 2. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques des différents extraits végétaux sont présentées dans le tableau III. 2.

Tableau III. 2. Caractéristique organoleptiques des extraits végétaux préparés

Les plantes	Les solvants	Le caractère organoleptique
Gingembre	Eau	Un liquide de couleur jaune claire avec une odeur aromatique caractéristique de gingembre.
	Ethanol/eau	
	Glycérol/eau	
	Propylène glycol/eau	
Curcuma	Eau	Un liquide de couleur jaune foncée avec des reflets orange avec une odeur aromatique acre caractéristique de *Curcuma*.
	Ethanol/eau	
	Glycérol/eau	
	Propylène glycol/eau	
Costus	Eau	Un liquide de couleur marron avec une odeur aromatique piquante, caractéristique de costus.
	Ethanol/eau	
	Glycérol/eau	
	Propylène glycol/eau	

On remarque que quel que soit le solvant, l'aspect de l'extrait végétal ne change pas ; il dépend de la plante elle-même.

III. 2. 3. Caractéristiques physicochimiques

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau III. 3.

Tableau III. 3. Les caractéristiques physicochimiques

	La densité				pH				La conductivité (µS/cm)				L'indice de réfraction			
	Ext. aq	Ext. PG	Glycérat	Ethanolique	Ext. aq	Ext. PG	Glycérat	Ethanolique	Ext. aq	Ext. PG	Glycérat	Ethanolique	Ext. aq	Ext. PG	Glycérat	Ethanolique
Costus	1.012	1.025	1.171	0.956	4.65	4.89	4.91	5.07	2414	1910	296	897	1.337	1.349	1.415	1.365
Curcuma	1.004	1.023	1.138	0.938	6.1	6.5	6.55	6.78	3502	4171	999	988	1.335	1.346	1.404	1.361
gingembre	1.006	1.031	1.0143	0.932	4.31	4.42	4.34	4.72	3105	3545	1016	614	1.335	1.348	1.4	1.361

L**e** tableau III. 3, montre que la densité des extraits végétaux sont tous au même ordre de grandeurs pour les extraits aqueux et PG/ED. L'extrait GL/ED est plus dense par rapport les autre extraits, avec une valeur maximale de 1.171 de l'extrait de Costus. D'autre part, l'extrait éthanolique apparait le moins dense.

On remarque également, que l'indice de réfraction varie en fonction de la plante et le solvant utilisé. On remarque que tous les extraits hydro-glycoliques ont un indice de réfraction supérieur aux autres extraits, dont le plus élevé est celui de costus qui est égale à 1.415. Le tableau III. 3, nous montre que tous les extraits aqueux et PG/ED de costus, *Curcuma* et Gingembre ont des valeurs d'IR très proches.

La mesure de pH des différents extraits végétaux préparés, montre qu'ils ont un pH acide qui varie entre 4.31 et 5.07 et sont tous au même ordre de grandeurs sauf pour les extraits de *Curcuma* qui ont un pH légèrement acide et qui varie de 6.1 à 6.78. Ces variations des valeurs de pH peuvent être expliquées par la nature des plantes utilisée, les conditions expérimentales des méthodes appliquées et aussi les solvants utilisés et des métabolites extraits.

Enfin, le tableau III. 3, montre que la conductivité des extraits préparés varie entre 614 µS/cm et 4171 µS/cm. Les valeurs des extraits aqueux et PG/ED sont plus supérieurs par rapport aux autres extraits. Ces variations peuvent être expliquées par la nature des solvants utilisés et les conditions d'extraction.

III. 2. 4. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrie adaptée avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait de plante (mg EAG/gES), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée en utilisant l'acide gallique comme molécule étalon (voir l'annexe) (fig. III. 2).

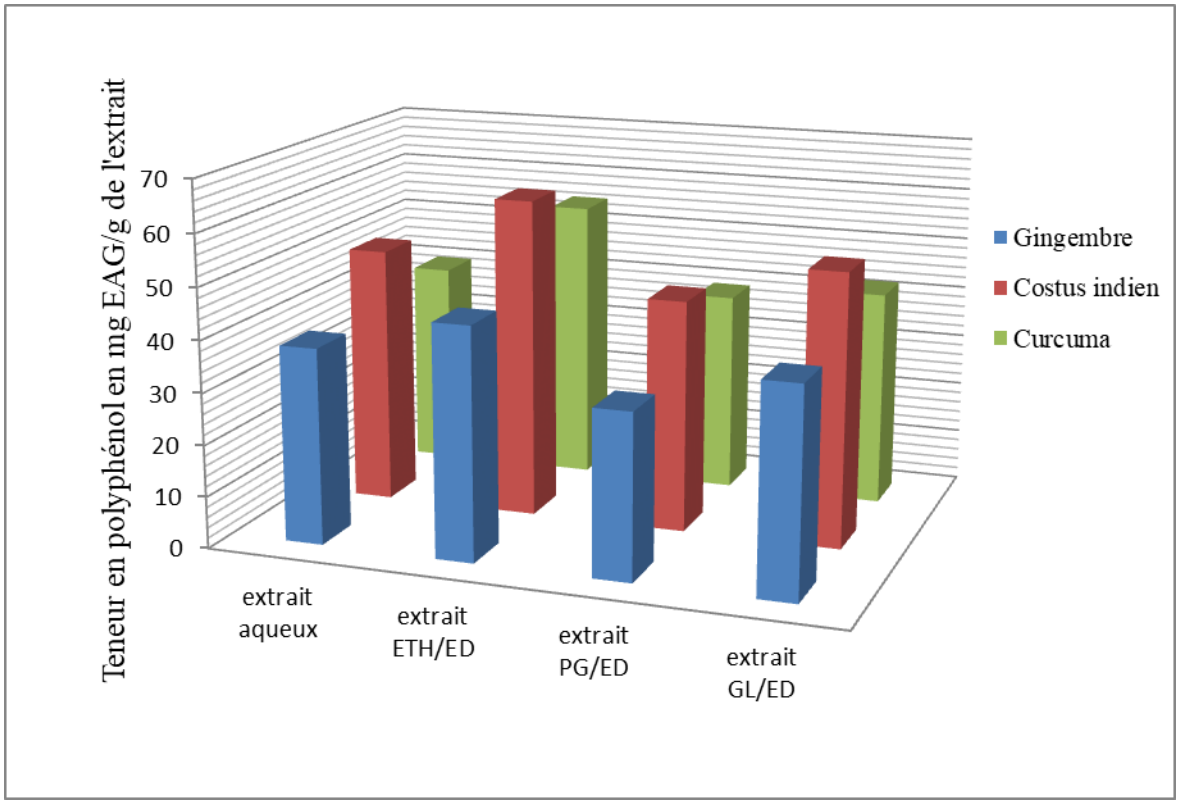


Fig. III. 2. Teneur en polyphénols en mg EAG/g d'extrait sec des différents extraits végétaux

L'évaluation quantitative de ces composés phénoliques montre que l'extrait éthanolique est le plus riche en ces composés avec une teneur de 62, 55 et 45 mg EAG/g ES pour le costus indien, curcuma et gingembre, respectivement.

Les extraits du costus indien ont donné des quantités plus élevées que les autres extraits végétaux, quel que soit le solvant utilisé.

D'après les résultats obtenus, la quantité des composés phénoliques totaux dans les extraits extrait hydro-éthanolique brut du costus (62 mg EAG/g ES) est proche de celle obtenue par Hocini (2019), qui a trouvé une concentration de 70 mg EAG/g ES dans l'extrait éthanolique du costus indien. Par contre Turki et ses collaborateurs, ont enregistré de faible quantité de polyphénols dans le *curcuma longa* L de l'ordre de 4.14 mg EAG/g ES et qui est très faible comparant à ce qu'on a trouvé dans la présente études dont les extraits du *Curcuma* préparés contient 55, 42, 40 et 39 mg EAG/g d'extrait sec dans les solvants ETH/ED,GL/ED,ED et PG/ED respectivement.

De même les extraits de gingembre présentaient des teneurs proches de celles retrouvées dans le *Curcuma* et qui sont de l'ordre de 45, 40, 38 et 32 mg EAG/g d'extrait sec dans les solvants ETH/ED,GL/ED,ED et PG/ED respectivement. Ces concentrations sont faibles par

rapport à celle trouvée par Fnides et ses collaborateurs (2018), dont la quantité était de l'ordre de 75.56 mg EAG/g d'extrait sec.

Ces différences sont, principalement, dues à la faible spécificité du réactif de «Folin-Ciocalteu». Ce réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composes phénoliques, mais également de certain sucres et protéines…etc (Vuorela., 2005).

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante, ceci peut être liée aux conditions climatique dures (température, sécheresse…) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tel que les polyphénols (Falleh et al., 2008).

L'isolement des composés phénoliques des plantes par extraction est généralement un processus très difficile compte tenu de la variété de composés qu'il est possible de trouver dans les échantillons naturels. L'obtention de teneur élevée est parfois compliquée. Il est possible de constater que les solvants jouent un rôle très important dans plusieurs méthodes d'extraction. En effet, les composés phénoliques sont soluble généralement en utilisant des solvants polaires tels que l'eau, le méthanol, l'éthanol ou l'acétone (Hocini, 2019).

III. 2. 5. Evaluation de l'activité biologique des extraits végétaux

Le présent travail s'intéresse à l'étude de l'activité biologique des extraits végétaux préparés à voir l'activité antimicrobienne et l'activité anti-inflammatoire.

III. 2. 5. 1. L'activité antimicrobienne

L'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de trois plantes a été étudiée vis-à-vis 6 souches bactériennes de référence et 2 souches sauvages. Les résultats sont présentés dans la figure III .3.

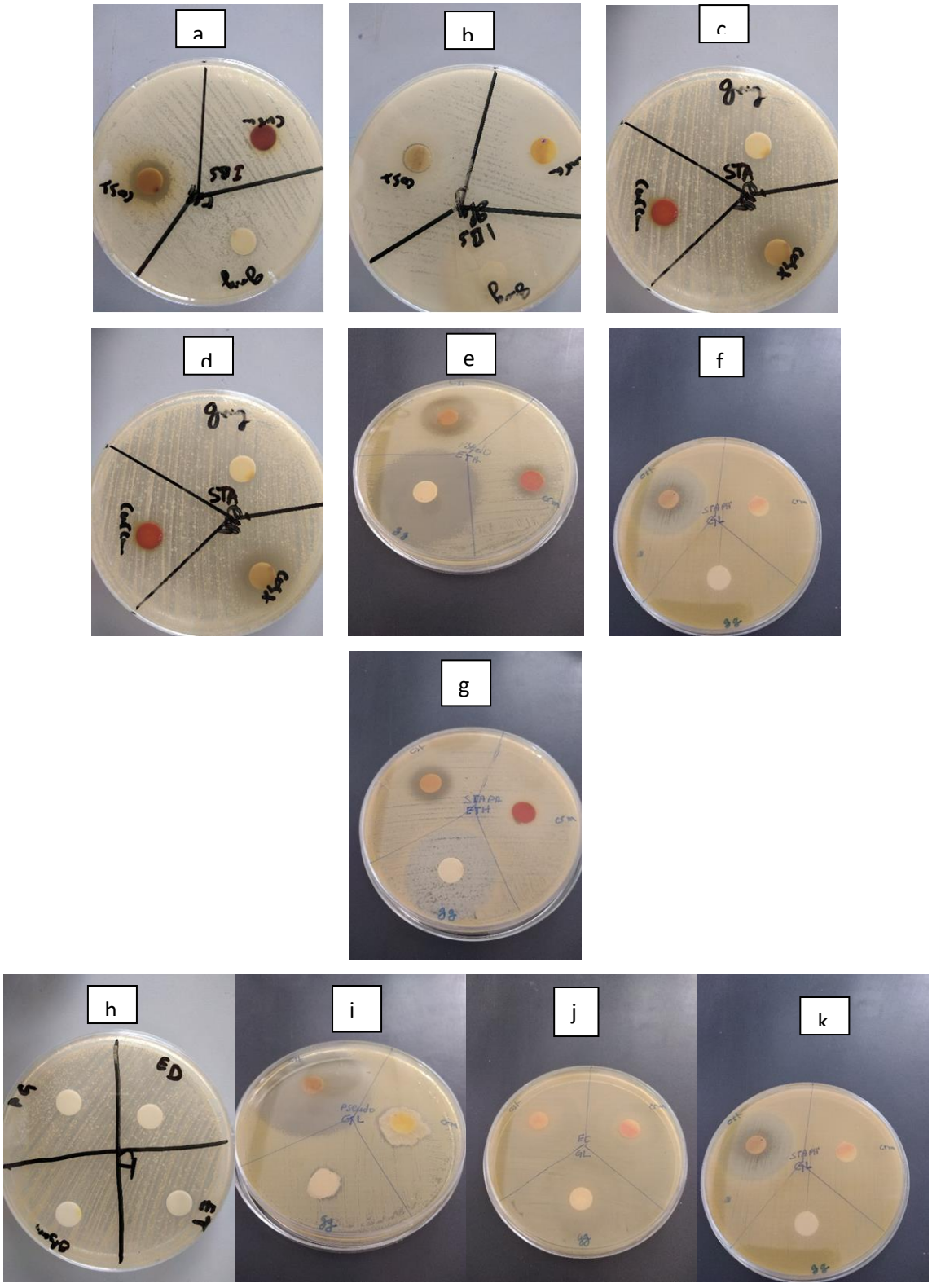


Fig. III. 3. Résultats de l'étude de l'effet antimicrobien des extraits de *Curcuma*, costus et gingembre (photo originale) (a) (b) (c) (d) (e) (f) (g) (h) (i) (j) (k) .

La mesure des diamètres des zones d'inhibition nous a permis de tracer des histogrammes qui présentent ces diamètres en fonction des extraits végétaux et les souches microbiennes. Les résultats obtenus montrent que, l'extrait éthanolique du *Curcuma* présente un large spectre d'activité antimicrobienne (Fig. III. 4). Il présente une légère activité antimicrobienne contre toutes les souches bactériennes étudiées y compris la levure *Candida albicans* avec des diamètres compris entre 9- 12mm (Mutai et al., 2009). Par contre *Pseudomonas aeruginosa* et la levure *Sacharomyces cerevisae* ont montré une résistance à cet extrait (Fig. III. 4).

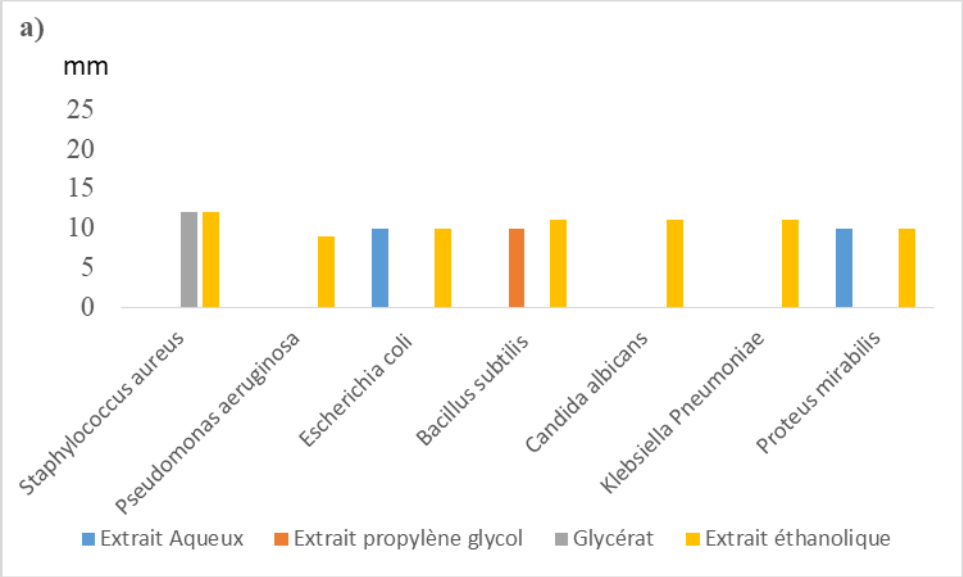


Fig. III. 4. L'activité antimicrobienne des extraits de *Curcuma*

La figure III. 4, montre également que l'extrait aqueux du curcuma présente une activité légèrement activité inhibitrice contre *E. coli* (10mm) et *Proteus mirabilis* (10mm) (Mutai et al., 2009). Tandis que le glycérat montre une légère activité inhibitrice contre seulement *Staphylococcus aureus* (12mm). De même, l'extrait éthanolique montre le même spectre d'activité contre *Candida albicans* (11mm). Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Khaing et al. (2020), qui ont montré que l'extrait éthanolique du curcuma a une activité légèrement à forte inhibitrice contre *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus pumilus* et *Candida albicans.* L'huile de curcuma a peu de pouvoir pour empêcher tous les micro-organismes.

L'étude de l'activité antimicrobienne de Costus indien, montre que l'extrait éthanolique présente une activité fortement inhibitrice contre *Pseudomonas aeruginosa*

(17mm), *Staphylococcus aureus* (21mm) et la levure *Candida albicans* (21mm) ; avec une légère activité inhibitrice contre *Bacillus subtilis* (16mm) (fig. III. 5).

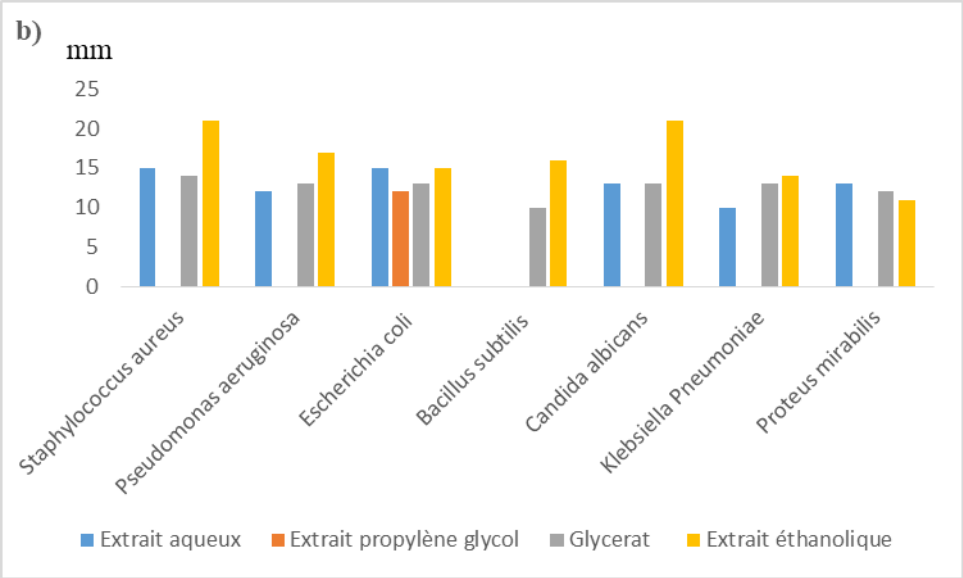


Fig. III. 5. Activité antimicrobienne des extraits de Costus indien

La figure III. 5, montre également que les autres extraits du costus à savoir : l'extrait aqueux, le glycérat et l'extrait propylène glycole présentent une activité légèrement inhibitrices des souches microbiennes étudiées (tableau III.4). D'après Omer et son équipe (2019), les résultats de l'activité antimicrobienne contre des souches de *Staphylococcus aureus* (Gram positif) et des souches (Gram négatif) révèlent que l'extrait d'éthanolique de costus a une activité antimicrobienne significative contre l'isolat de *Staphylococcus aureus*, avec une zone d'inhibition de 18-20 mm, ce qui est en accord avec nos résultats. Alors qu'ils n'ont observé aucun effet contre *Klebsiella pneumonia* ce qui est en désaccord avec nos résultats ou on a constaté une légère activité inhibitrice avec tous les extraits sauf l'extrait au propylène glycole qui était inefficace contre cette souche pathogène.

Des résultats similaires ont été obtenus par Hasson et ses collaborateurs (2013). Ces chercheurs ont étudié l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique de *Saussurea lappa* (costus) pour vérifier son utilisation médicinale dans le traitement des infections microbiennes. Ils ont montré que l'extrait éthanolique brut de *Saussurea lappa* a un large spectre d'activité, suggérant qu'il pourrait être utile dans le traitement des infections causées par les isolats de *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa , Escherichia coli et Klebsiella pneumoniae*.

Les analyses chromatographiques, effectuées par Omer et son équipe (2019), leur a permis de conclure que l'extrait d'éthanol contient des métabolites secondaires actifs qui peuvent avoir une activité spécifique susceptible d'avoir des effets de synergie avec d'autres métabolites contre les bactéries Gram positif, mais pas contre les bactéries Gram négatif.

Tableau III. 4. Activité antimicrobienne des extraits de Costus.

	solvants			
Souche bactérienne	ED	ETH/ED	GL/ED	PG/ED
Proteus mirabilis (sauvage)	L. I	L. I	L. I	N. I
Klebsiella pneumoniae (Sauvage)	L. I	L. I	L. I	N. I
Pseudomonas aeruginosa ATCC 6633	L. I	M. I	L. I	N. I
Escherichia coli ATCC8739	L. I	L. I	L. I	L. I
Staphylococcus aureus ATCC6538	L. I	F. I	L. I	N .I
Bacillus subtilis ATCC 6633	N. I	L. I	N. I	N. I
Saccharomyces Cerevisiae ATCC9763	L. I	N. I	N. I	N. I
Candida albicans ATCC10231	L. I	F. I	L. I	N. I

N.I= non inhibiteur (D<10mm), L.I= légèrement inhibiteur (11≤D≤16mm), M.I=moyennement inhibiteur (17≤D≤20mm), F.I=fortement inhibiteur (21≤D≤29mm), T.F.I= très fortement inhibiteur (D≥30mm).

Les extraits de gingembre, propylène glycole et éthanolique ont montré un faible spectre d'activité antimicrobienne avec une légère activité inhibitrice contre *E. coli* (15mm), *Staphylococcus aureus* (13mm), *Bacillus subtilis* (10mm) et *Saccharomyces cerevisiae* (11mm) (fig. III. 6).

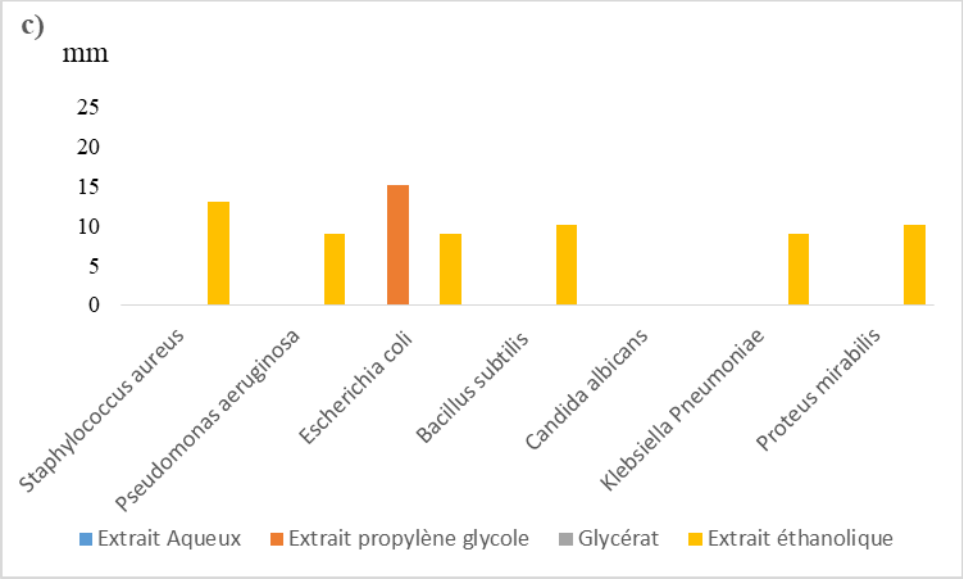


Fig. III. 6. Activité antimicrobienne des extraits de gingembre

Ces différences dans les résultats obtenus, au sein de la même plante, sont dus au fait que l'activité antibactérienne dépend de plusieurs facteurs à savoir : l'espèce de la plante, la préparation de l'extrait, le solvant utilisé, et la sensibilité des bactéries (Loziene et al., 2006).

D'autre part l'extrait à l'éthanol de *Zingiber officinale* exprime une activité fortement inhibitrice contre 215 souches d'entérocoque résistantes à la gentamicine, avec une zone d'inhibition de 27–30 mm (Revati et al., 2015).

En effet, Hala et ses collaborateurs (2000) ont rapporté que les composés responsables de l'action antibactérienne peuvent être les terpénoïdes phénoliques, qui sont les composés principaux de la fraction apolaire des extraits des plantes. Ces composés sont hautement lipophile est par conséquent sont extraits par des solvants de faible polarité tel que le chloroforme (Albano et Miguel, 2010). Ceci corrobore avec nos résultats de criblage des métabolites secondaires qui ont montré que tous les extraits du costus indien présentent une forte quantité des terpnoides (tableau III. 1). Ainsi le dosage des polyphénols totaux (fig.III.2) que tous les extraits renferment des quantités importantes de l'ordre de 38- 62 mg EAG/g d'extrait sec, dont la teneur la plus élevée a été retrouvée dans l'extrait éthanolique du costus indien (62 mg EAG/g d'extrait sec), ce qui explique son activité moyennement inhibitrice contre les germes *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis* et *Candida albicans.* Par contre l'extrait aqueux a montré une activité modeste voire nulle pour l'extrait de costus indien et les autres extraits, respectivement. Cette modeste activité des extraits aqueux envers la plupart des souches utilisées pourrait être expliquée par le fait que les substances hydrosolubles ne peuvent pas accéder aux substances non hydrosolubles des cellules bactériennes. En effet, l'eau est un solvant utilisé pour extraire les principes végétaux ayant une activité antimicrobienne plus au moins importante. En médecine traditionnels, on utilise principalement l'eau mais l'extraction à partir des solvants organiques donne une activité antimicrobienne plus significative (Parekh et al., 2005 ; Das et al., 2010) ; car selon, Candan et ses collaborateurs (2003), les substances hydrosolubles exercent un effet plus faible comparé à celui des substances non hydrosolubles ; Elles n'ont pas la même capacité des molécules liposolubles qui s'intercalent dans les membranes des cellules bactériennes et les endommagent.

Par ailleurs, dans une étude comparative entre différents solvants utilisés dans l'extraction de la matière végétale, l'éthanol s'est révélé être un meilleur solvant pour l'extraction de substances antimicrobiennes à partir des plantes médicinales par rapport à d'autres solvants (Abu-Shanab et al., 2004). De même, Kristina et ses collaborateurs (2007), ont montré que les solvants éthanol et acétone sont les meilleurs solvants pour l'extraction des

composés phénoliques non volatiles, y compris les flavonoïdes et les phénols, qu'ayant une activité antibactérienne contre diverses bactéries pathogènes.

III. 2. 5. 2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in – vitro*

III. 2. 5. 2. 1. Evaluation de l'activité hémolytique

Certaines plantes utilisées à visée thérapeutique peuvent présenter une menace pour la santé de l'homme,Il est donc nécessaire d'effectuer un test hémolytique, qui un indicateur de cytotoxicité (Haddouchi et al.,2016).

Les résultats des tests d'hémolyse des différents extraits végétaux préparés dans notre travail et de l'acide gallique sont illustrés dans la figure III.7.

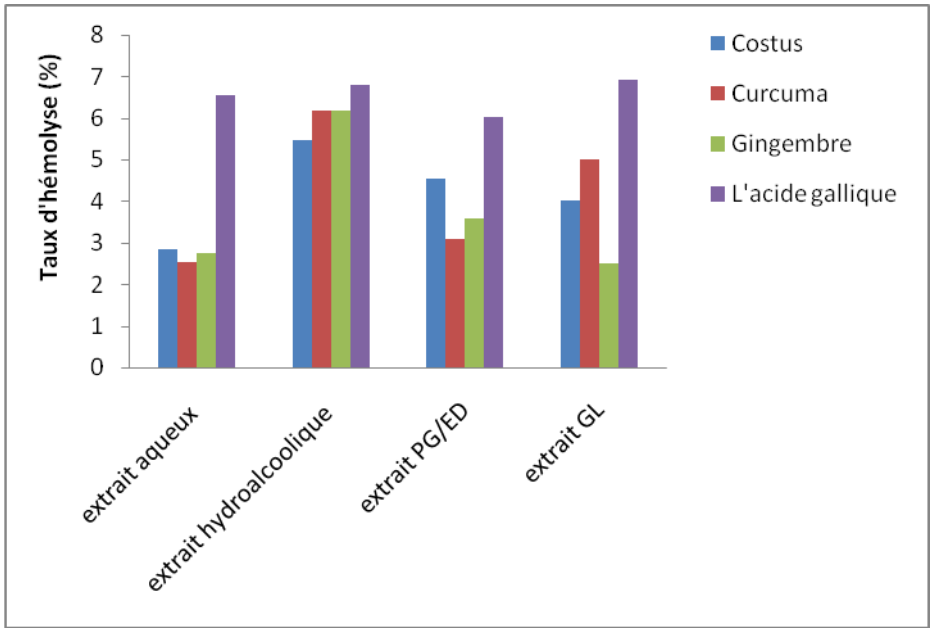


Fig. III. 7. Effets hémolytiques des extraits végétaux

Les résultats obtenus montrent que l'effet hémolytique est lié à la nature de solvants et la plantes elle-même. On remarque que l'extrait éthanolique de toutes les plantes testées y compris l'acide gallique, présente l'effet hémolytique le plus élevé par rapport aux autres extraits, dont on note des taux de 5.468%, 6.171%, 6.172% et 6.8% pour costus, *Curcuma*, gingembre et l'acide gallique, pour des concentrations en polyphénols de l'ordre de 62,55 et 45mg EAG/g ES(fig. III.2 celle de dosage de polyphénols),respectivement.

Après 60 minutes de contact avec les érythrocytes humains, l'effet hémolytique des différents extraits testés, sont classés comme suit : à la même concentrations que l'AG

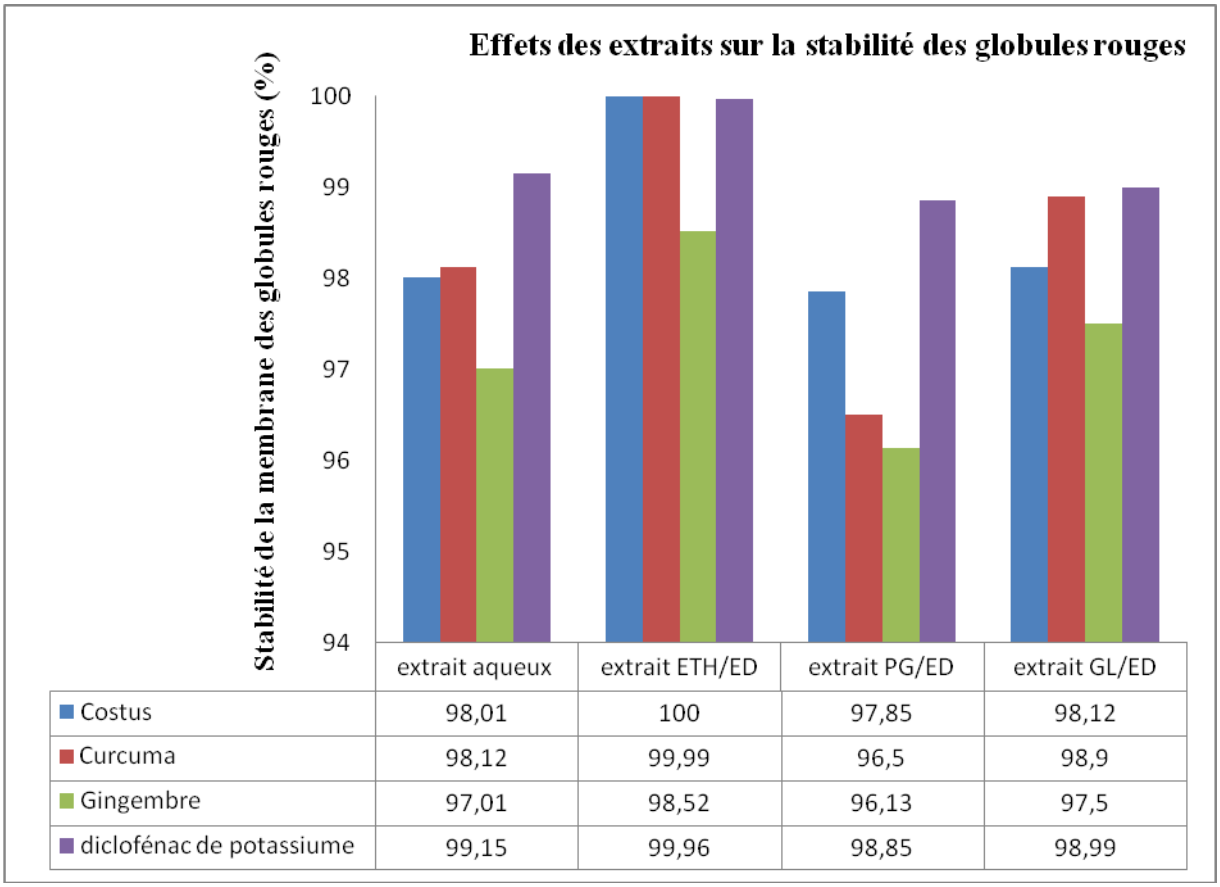
- Pour l'extrait aqueux : le graphe montre que pour les trois plantes testées le taux d'hémolyse est au même ordre de grandeur et qui de 2.53%, 2.73% et 2.85% pour *Curcuma*, gingembre et costus, respectivement.
- Pour l'extrait PG/ED : on remarque que l'extrait de *Curcuma* et gingembre sont proches 3.07% et 3.57%, respectivement. Tandis que celui du costus est plus important est de 4.53%.<gingembre<costus.
- Pour l'extrait GL/ED :on remarque que le gingembre a l'effet hémolytique le plus faible (2.51%) comparant à celui de costus (4.00%) et du *Curcuma* (4.99%).
- Pour l'extrait ETH/ED :le graphe montre que le gingembre et le *Curcuma* ont des effets hémolytiques de même ordre de grandeur 6.17% et 6.17%, respectivement. Alors que l'extrait de costus 4.53% d'hémolyse.

Notons que les taux d'hémolyse obtenus, restent très faibles par rapport au taux d'hémolyse obtenu par l'acide gallique qui est de l'ordre de 6.8%.Ces résultats sont en accord avec ceux obtenu par Haddouchi et ses collaborateurs (2016), qui ont étudié le pouvoir hémolytique des plantes saharienne d'Algérie *Asteriscus graveolens* et *Piturants scoparius*. Les mêmes résultats ont été obtenus par Ganesh et son équipe (2013), qui ont travaillé sur la plantes de *Mimusops elengi L*.

III. 2. 5. 2. 2. Evaluation de la stabilisation de la membrane des globules rouges

Le test de stabilité de la membrane est basé sur la découverte qu'un certain nombre d'agents anti-inflammatoires non stéroïdiens inhiber la lyse des érythrocytes induite par la chaleur, probablement en stabilisant la membrane de la cellule.. La membrane érythrocytaire peut être considéré comme un modèle de la membrane lysosomale qui joue un rôle important dans l'inflammation. La composés qui empêchent la lyse de la membrane provoquée par la libération des enzymes hydrolytiques contenues dans le les lysosomes peuvent soulager certains symptômes de l'inflammation. Lorsque le GR humain est soumis à une hypotonie le stress, la libération d'hémoglobine par les globules rouges, sera prévenue par les anti-inflammatoires en raison de la stabilisation membranaire.

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire des extraits de costus, *Curcuma* et gingembre dans différentes solvants, un test de stabilisation membranaire de globules rouges humains a été réalisé. Ce test consiste à incuber une suspension de globules rouges humains, traitée avec une solution hypotonique associée à une température élevée, avec les extraits ou la molécule de référence (le diclofenac comme anti-inflammatoire). Les résultats sont représentés dans la figure III.8.



	extrait aqueux	extrait ETH/ED	extrait PG/ED	extrait GL/ED
Costus	98,01	100	97,85	98,12
Curcuma	98,12	99,99	96,5	98,9
Gingembre	97,01	98,52	96,13	97,5
diclofénac de potassiume	99,15	99,96	98,85	98,99

Fig. III. 8. Résultats de l'effet des extraits de costus, *Curcuma*, gingembre et le diclofénac de potassium sur la stabilité de la membrane des GR

La stabilisation de la membrane des globules rouges a été utilisée comme méthode pour étudier l'activité anti-inflammatoire *In- vitro* parce que la membrane érythrocytaire est analogue à la membrane lysosomale (Marliyah et Ananthi, 2015).Les lysosomes sont des organites cellulaires, présents dans le cytosol de toutes les cellules eucaryotes animales à l'exception des hématies. Ils ont pour fonction d'effectuer la digestion intracellulaire grâce à une quarantaine d'enzymes (lipases, protéases, nucléases, glycosidases, phosphatases, sulfatases), dont le relargage est impliqué dans le processus inflammatoire. Vu les similitudes existant entre la membrane érythrocytaire et la membrane lysosomale, l'effet de l'extrait sur la stabilisation des hématies pourrait être extrapolé à la stabilisation de la membrane lysosomale. Cette stabilisation est importante pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant la libération des constituants lysosomaux (Kumaret al., 2011).

Les résultats obtenus montrent que tous les extraits présentent une stabilisation très hautement significative de la membrane des globules rouges avec un pourcentage de

stabilisation de 96.13% à 100%.

Le pourcentage de stabilité maximale est obtenu avec l'extrait hydro-éthanolique pour toutes les plantes et même la molécule de déclofinac avec l'ordre suivante 100%,99.99%,98.52% et 99.96% pour costus indien, *Curcuma*, gingembre et le déclofinac, respectivement. C'est-à-dire que l'extrait de costus indien et de *Curcuma* ont donné un effet plus important par rapport à la molécule de référence le diclofinac.

D'après la figure III.8 on peut déduire que le pourcentage de stabilité est fonction de la plantes, le solvant utilisé et la concentration en polyphénols (fig. III. 2). Donc on peut classer ces plantes, selon l'effet anti-inflammatoire, par ordre croissant comme suit :

Costus indien >*Curcuma*>gingembre pour les solvants ETH/ED>GL/ED> aqueux> PG/GL, respectivement.

Ces résultats sont compatibles avec les résultats de dosages des polyphénols où on a trouvé que le costus est le plus riches en ces derniers, suivi par curcuma et gingembre.

Les résultats obtenus avec tous les extraits sont plus proches à ceux obtenus par Kumari et ses collaborateurs (2015), qui ont travaillé sur l'extrait de *Rhizophora mucronata*, qui a donné une stabilisation significative de la membrane de 95%.

D'après Gershfeld et Murayama (1988) les érythrocytes exposés à des températures relativement élevées, se déforment progressivement pour devenir sphériques. Ainsi la perturbation de leurs membranes diminue leur capacité à résister à l'hémolyse. L'effet protecteur contre la lyse érythrocytaire induite par la chaleur peut s'expliquer par l'interaction de l'extrait végétal avec les protéines membranaires inhibant ainsi leur dénaturation (Lepock et al., 1989). De plus, les polyphénols retarderaient la solubilisation et inhiberaient l'oxydation de la trame lipidique.

Selon Vidhya et al. (2016), l'activité anti-hémolytique des extraits végétaux serait probablement due à leur effet inhibiteur sur les enzymes impliquées dans la production des médiateurs chimiques de l'inflammation ainsi que sur le métabolisme de l'acide arachidonique. Certains polyphénols se fixent sur les protéines membranaires induisant un changement de leur conformation (Chaudhuri et al., 2007). D'autres se lient à la PLA2 par desinteractions hydrophobes avec trois acides aminés du site actif de l'enzyme (Da Silva et al., 2008).

Ganesh et ses collaborateurs, ont rapporté que certains saponines et les flavonoïdes peuvent exercer un effet stabilisant profond sur la membrane lysosomale à la fois *In-vivo* et *In- vitro*, tandis que les tanins et les saponines possèdent la capacité de lier les

cations, stabilisant ainsi les membranes érythrocytaires et autres macromolécules biologiques (Ganesh et al., 2013).

III. 3. Préparation et caractérisation physicochimique de gel buvable

A la fin de notre travail, on voulait faire une petite formulation pharmaceutique pour montrer la possibilité de faire une préparation telle qu'un gel buvable en utilisant un macérât aqueux. Cette formulation a été réalisée au niveau du laboratoire SM de la faculté des sciences. Le résultat obtenu est présenté dans la figure III.9. .

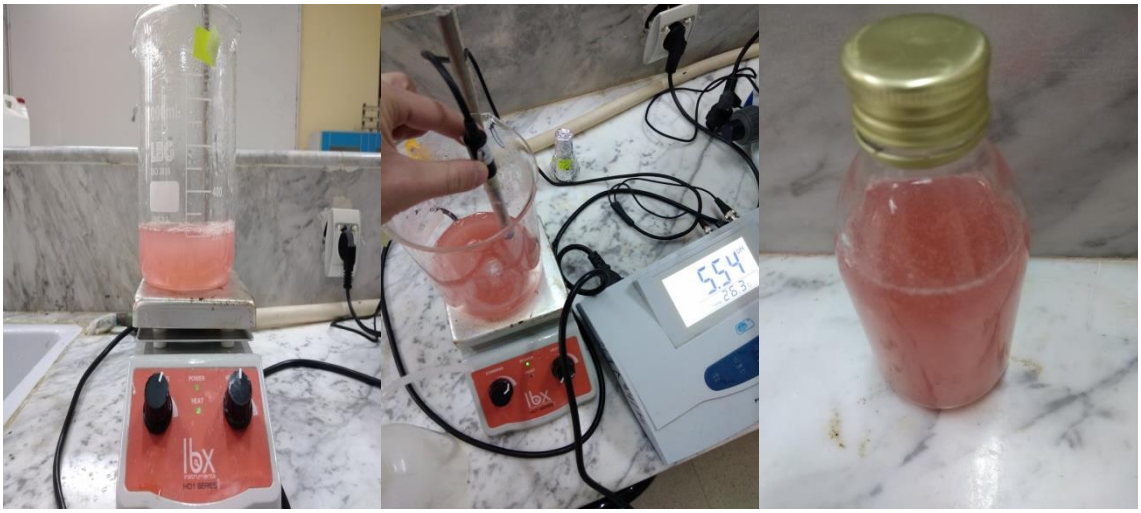


Fig. III.9: Le gel buvable préparé dans la présente étude (Original)

III. 3. 1. Caractérisation physico-chimique du gel buvable

Les caractères physicochimiques du gel buvable à base de l'extrait aqueux de costus, gingembre et curcuma sont présentés dans le tableau III. .

Tableau III.5 . Caractéristiques physicochimiques du gel buvable préparé

Le paramètre	La valeur
pH	5.56
Conductivité	196.10 µs/cm
Indice de réfraction	1.435
Densité	1.031 g/ml
Viscosité	152 mPa.s

Le tableau montre que la valeur de pH acide c'est la preuve de la propriété de gel sur anti-inflammatoire, Quant au la valeur de viscosité il se situe dans les normes réalise un pansement adhérant sur la paroi des muqueuses digestives.

Pour les essaies d'efficacité de gel, nous voulions le faire *in- vivo* sur des souris. Mais la fin de la période de stage nous en a empêché.

Conclusion

À l'heure actuelle, la recherche des biomolécules dotées d'activité antimicrobiennes et anti-inflammatoires comme substituants des molécules de synthèse a émergé et l'exploitation des divers métabolites secondaires de la plante a été souligné ces dernières années. L'objectif de notre travail est d'évaluer l'activité antimicrobienne et anti-inflammatoire des extraits végétaux préparés en utilisant différents solvants, afin d'étudier l'influence de ces derniers sur l'activité biologique des différentes plantes utilisées à savoir *Zingiber officinalis, Curcuma longa* L *et Saussurea costus.* Les solvants utilisés sont l'eau distillée (extrait aqueux), propylène glycole/eau (PG/ED), glycérine/eau (extrait glycolique) et éthanol/eau (extrait hydro- éthanolique).

La détermination des rendements d'extraction a montré que :

- Le solvant éthanol/eau a permis d'obtenir un rendement d'extraction de 68% et 60.51% de métabolites secondaires du gingembre et *Curcuma* ;
- L'eau distillée a permis d'obtenir un taux d'extraction de 57.11% de métabolites de costus.

Le criblage phytochimiques des métabolites secondaires, dans les extraits préparés, tels que : les tanins, les terpenoides, les quinones et les composés réducteurs a montré que :

- Pour *Saussurea costus* : les tanins et les terpenoides sont présents à fortes concentration dans tous les extraits préparés. Par contre ces extraits présentent de faibles concentrations en tanins et en composés réducteurs, sauf l'extrait aqueux qui contient une forte proportion de composés réducteurs ;
- Pour *Curcuma longa* L : l'extrait éthanolique et glycolique présentent de forte concentration en quinones. On note que les tanins et les terpenoides ne sont pas détectés dans les extraits aqueux et propylène glycole du curcuma, de même que les composés réducteurs dans l'extrait glycolique ;
- Pour *Zingiber officinalis* : tous les extraits préparés sont pauvres en ces métabolites, sauf l'extrait aqueux qui présente de faible concentration en composés réduteurs.

Le dosage des polyphénols totaux a montré que tous les extraits végétaux préparés sont riches en polyphénols. Cependant, l'extrait éthanolique est le plus riche en ces composés avec une teneur de 62, 55 et 45 mg EAG/g ES pour le *Saussurea costus, Curcuma longa* L et *Zingiber officinale.*

Les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits préparés ont montrés que les extraits de *Saussurea costus* ont une activité contre la plupart des souches testées dont la très forte activité inhibitrice était contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sublisis* et *Candida albicans*.

L'évaluation de l'activité hémolytique qui est considéré comme un signe de cytotoxicité de nos extrait a révélé que tous les extraits possèdent un taux d'hémolyse très faible qui ne dépasse pas 7%, ce qui prouve que *Zingiber officinalis*, *Curcuma longa* L *et Saussurea costus* ne sont pas toxique.

L'étude de l'activité anti-inflammatoire *In-vitro*, des extraits végétaux préparés, par la méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges a montré que tous les extraits préparés, permettent une haute stabilisation de ces membranes. Le pourcentage de stabilité maximale est obtenu avec l'extrait hydro-éthanolique pour toutes les plantes qui est de l'ordre de 98%- 100%, ces résultats sont similaires à ceux obtenus par le déclofinac de potassium.

A la fin, nous avons préparé une formulation sous forme d'un gel buvable, à base des extraits aqueux des trois plantes. Le manque de temps et les moyens nous ont empêché d'évaluer son efficacité.

En perspectives, on propose de :

- Etudier l'effet synergique ou antagoniste entre les différents extraits ;
- Faire une étude toxicologique chez un modèle animal afin de s'assurer de son innocuité ;
- Faire une étude *In- vivo* pour confirmer l'effet anti-inflammatoire des extraits préparés;
- Séparer et caractériser les différentes substances présentes dans ces extraits .

Références

Bibliographiques

-A-

Abu-Shanab B, Adwan G, Abu-Safiya D, Jarrar N, Adwan K. **(2004).** Antibacterial Activities of Some Plant Extracts Utilized in Popular Medicine in Palestine.Turk J Biol, 28:p: 99-102.

Akbar, S. (2020). Handbook of 200 medicinal plants: A comprehensive review of their traditional medical uses and scientific justifications. P: 1609-1617.

Albano SM, Miguel MG.(2010). Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. Industrial Crops and Products 33(2): p: 338-343

Ali Z. C. (2013). Études chimiques et biologiques d'Aframomum sceptrum (Zingiberaceae) et de la curcumine. Thése du doctorat : UNIVERSITÉ PARIS-sud, 154 p.

Amara U, Khan A, Laraib S, Wali R, Sarwar U, Ain Q. T, Shakeel S. (2017). Conservation status and therapeutic potential of Saussurea lappa: An overview. American Journal of Plant Sciences, 8(03), p :602.

AMARI SIHEM .(2016). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante de deux extraits de la plante Zingiber officinale.

Araujo, C, Leon L.(2001). Biological activities of Curcuma longa L Mern Inst Oswaldo Cruz. p: 723-728

Attou A . (2001). Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante Ruta chalepensis (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire de Magister. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

-B-

Bakkalia F. (2007). Averbeck. S, Averbeck. D, Idaomar.M. Biological effects of essential oils A review.Food and Chemical Toxicology. 46, p : 446–475.

Barka I . (2017). Mémoire sur l'inventaire des plantes médicinales de la réserve de Chasse de Moutas à Tlemcen. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master. Université Abou Bakr Belkaid. Tlemcen.

Beggas Lynda et Bendoukhane Meryem (2017). Etude de l'activité antioxydante de gingembre « *Zingiber officinale* ». Mémoire Master en Sciences Biologiques Spécialité : Biochimie Moléculaire et Santé.

Ben Sghaier M, Bhouri W, Neffati, A, Boubaker J, Skandrani I, Bouhlel I, Kilani S, Chekir- Ghedira, L, and Ghedira K. (2011) .Chemical investigation of different crude extracts from Teucrium.

Benmakhbi L. (2004). Etude phytochimique et biologique de l'extrait butanolique et des huile essentielle des grains et des tiges de l'espèce endémique de chabka du m'zaba « *pituranthos scoparius* » (apiacéas). Mémoire.de magister en chimie. Université Mentouri Constantine.

Bidaut-Russell M. (2001). Adverse gastro intestinal effects of NSAIDs: consequences and costs. Best Practice &Research Clinical Gastroenterology 15,p: 739-753.

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

Boudjellal Khamssa. (2009). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'Elaeagnusangustifolia L. Mémoire de Magister, Université de Batna, Algérie.

Boumerfeg S, Baghiani A, Messaoudi D, Khennouf S and Arrar L. (2009) .Antioxidant Properties and Xanthine Oxidase Inhibitory Effects of Tamus communis L. Root

Bouzouita N., F. Kachouri , M. Ben Halima , M. M. Chaabouni. (2008).composition chimique et activités antioxydants ,antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperusphœnicea*. Journal de la Société Chimique de Tunisie, 10, p : 119-125.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. 3eme édition Lavoisier Technique & documentation. Paris.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. 4eme édition. Lavoisier. Paris

Butin A. (2017). Le gingembre : de son utilisation ancestrale à un avenir prometteur. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université de Lorraine : faculté de Pharmacie, 117p.

-C-

Callery E. (1998). Le grand livre des herbes. Le guide pratique de la culture du séchage et des vertus de plus de 50 herbes. Edition Koinemancologue. p.128.

Carson C. F, Mee B. J et Riley T. V. (2002). Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt

tolerance assays and electron microscopy. In : métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 46:p : 1914–1920.

Chabrier J-Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Sciences pharmaceutiques. p.22.

Chaudhuri S, Banerjee A, Basu K, Sengupta B et Sengupta P. K. (2007). Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: antioxidant and antihemolytic effects. International Journal of Biological Macromolecules; 41(1), 42-48.

Chen H, Inbaraj, B and Chen B .(2012) .Determination of Phenolic Acids and Flavonoids in Taraxacum form osanum Kitam by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Coupled with a Post-Column Derivatization Technique. Int. J. Mol. Sci.13: 260-285

Chevalier A. (2001). Encyclopédie de plantes médicinales. Larousse. p.335.

Chira K, Suh J .H Saucier C .Teissèdre P –L. (2008). Les polyphénols du raisin.

Chouleur F, Gilson C, Salell M. (2009). Le gingembre : Des bienfaits prouvés.DUT Génie Biologique Option Diététique, 32 p.

Christine Bii, **Constantinos Vagias, DennisAbatis. (2009).** Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpenes. Journal of Ethnopharmacology.Volume 123 :p : 143-148.

Cos P, Ying L, and Calomme M. (1998). Structure activity relationship and classification of flavonoids as inhibition of Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers. J. Nat. Prod. 1998.61.1.71-76.

Cowan M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews. 10.1128/CMR.12.4.564.

Cox S. D, Mann C. M, Markham J. L, Bell H. C, Gustafson J. E, Warmington J. R et Wyllie S.G. (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). In : métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Journal of Applied Microbiology 88: p :170-175.

-D-

Da silva S. L, Calgarotto A. K, Chaar J. S. et Marangoni S. (2008). Isolation and characterization of ellagic acid derivatives isolated from Cas eariasylvestris SW aqueous extract with anti-PLA2 activity. Toxicon, 52(6), 655–666.

Das k, Tiwari RKS , Shirvastava DK. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent. current methods and future tends . journal of medicinal plants. 4(2):p: 104-111.

Das K, Tiwari RKS, Shrivastava DK. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. Journal of Medicinal Plants Research.4(2):p: 104-111.

Delaveau P. (1987). Les épices: Histoire, description et usage des différents épices,

Dorman H.J et Deans S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plants volatile oils. In : métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Journal Application Microbiology, 88(2): p :308-316.

Dutertre J . (2011). Enquête prospective au seine de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'ile de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec la médecine généraliste .Thèse. Doc. Univ. Bordeaux 2 –Victor Segalan. U.F.R des sciences médicale .120p

Dymock W, Warden C. J. H, Hooper D. (1890). Pharmacographia indica history. Extracts Phytotherapy Research 23 .p : 283-288.

-F-

Faivre Cl, Lejeune R, Staub H. et Goetz P. (2006). *Zingiber officinale* Roscoe Phytotherapie. Vol.2, p : 99-102.

Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M. and Abdelly Ch. (2008). Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities, J. C. R. Biologies.Vol. 331, p. 372-379.

Fnides K, Bensalem I , Khirdin S. (2018). Etude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait brut du zingiber officinale in vitro. Mémoire master en biologie. Université Guelma.

Fouché J G, Marquet A and Hambuckers A. (2000). Les plantes médicinales, de la plante au médicament. Observatoires du monde des plantes Start-Tilman.

-G-

Gàbor M. (1988). Plants flavonoids in biology and medicine. Biochemical cellular and medicinal properties. Edition 5.cody. New York.

Ganesh G, Saurabh M, Sarada N.C. (2013). Antioxidant and Anti- inflammatory

Activities of the Methanolic Leaf Extract of Traditionally Used Medicinal Plant Mimusops elengi L. Pharm. Sci. & Res. Vol.5(6).p : 125 – 130.

Ghestem A , Seguin E Paris M, Orecchioni A M. (2008). Le préparateur en pharmacie. Dossier 2 : botanique-Pharmacognosie-Phytothérapie-Homéopathie. Ed. Tec & Doc. Lavoisier. Paris.

Gigon F. (**2012).** Le gingembre, une épice contre la nausée. Springer-Verlag, vol.10, p:87-91.

Green R. J. **(2004).** Antioxydant activity of peanut plant tissues. Master's Thesis. Department Of Food Science. Faculty of North Carolina State University (USA).

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

Guettiche A, Abdeddaim F, Benyoucef M, Chabane N. (2018). Mémoire sur Les plantes aromatiques de l'Algérie, étude pharmacognosique et potentiel anti- inflammatoire. Université de Constantine.

-H-

Haddouchi. F, Chaouch. T. M, Halla. N. (2016). Screening phytochimique, activités anti oxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. Phytothérapie.

Hala G.M, Christ H, Carla K. (2000). Traditional uses of *Salvia libanotica* (East Mediterranean sage) and the effects of essential oils. In : étude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum.* Journal of Ethnopharmacology**,** 71(3): p. 513- 520.

Hassan R, Masoodi M. H. (2020). Saussurea lappa: a comprehensive review on its pharmacological activity and phytochemistry. Current Traditional Medicine, 6 (1) : p. 13-23.

Hasso mahmoud Z. Subhi H Khalaf. (2013). Resistance of some gram negative enteric bacilli isolated from lower respiratory tract infection to B-lacton Antibiotics. Rafidian journal of science. (24) .

Henzen C. (**2003)**. Traitement aux glucocorticoides: risques et effets secondaires. Forum médical suisse, 19:p :442-446.

HOCINI Farid. (2019). Etude phytochimique, biologique et comportement électrochimique d'extrait brut d'une plante médicinal (*Costus indien*). Mémore master en chimie organique. Université M'sila .

Hombourger C. (2010). Le curcuma,De l'épice au médicament. Thèse du doctorat en Pharmacie: Universite henri poincare - NANCY 1, 182 p.

-J-

Jansen P. C. (2005). Ressources végétales de l'Afrique tropicale 3 Colorants et tanins. Wageningen: Fondation PROTA / Backhuys Publishers / CTA, 238 p.

Jourdan J.P. (2015). Curcuma et curcumine: de l'histoire aux intérêts thérapeutiques. Thèse du doctorat en Pharmacie: UNIVERSITE DE CAEN, 115 p.

-K-

Kasana S, Dwivedi M. D, Uniyal P. L. (2018). Taxonomic Status of Saussurea costus (Falc.) Lipsch.(Asteraceae: Cardueae): a critically endangered species from Himalaya, India. Pleione, 12 : p :81-84.

Khaing Y. K, Htoo K, Win K. H. (2020). Determination of antimicrobial activities of turmeric oil, curcumin and ethanol extract from *Curcuma longa* linn. (turmeric). Technological University Lashio Journal of Research & Innovation 1(3): 70-131.

Khan M.A, Alam A, Husain S, Ahmed S, Ahmed Z. (2013). Qust (Saussurea Lappa Clarke.) - A Potent Herb Of Unani Medicine: A Review.

Khedis Ludmila, Aid Amira. (2020). Caractérisation phytochimique et activité antibactérienne de curcuma longa. Mémoire de Master, Université de Bouira, Algérie.

Kirtikar K.R, Basu B.D. (2001). Orient enterprises, *Aucklandia costus* (syn. *Saussurea costus*) : Ethnopharmacology of an endangered medicinal plant of the Himalayan region. Journal of Ethnopharmacology, p :113-199

Kristina Lozˇiene, Petras R. Venskutonis, AusˇraSˇipailiene, Juozas Labokas (2007). Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotype, Food Chemistry 103.p:546–559.

Kuete V. (2017). Medicinal spices and vegetabels from africa . Cameroon: Academic press .

Kumar V, Bhat Z.A, Kumar D, Bohra P, Sheela S. (2011). In vitro anti-inflammatory activity of leaf axtracts of *Basella alba* llin. Var. Alba; international Journal of Drug Developpement &Research. 3(2): 176-179.

-L-

Lamouche C. (2011). Etude des condition de mise en ouvre d'une indication geographique sur le curcuma d'ANIVORANO-est-MADAGASCAR-. Ecole supérieure d'Agro-Développement International.

Lantz RC. Chen GJ. Sarihan M. Solyom AM. Jolad SD. Timmermann BN. (2007). The effecte of extracts from ginger rhizome on inflammatory mediator production.phytomedicine. (14) :p :123-128.

Laouer H, Arnold N, Valentini G, Bellomaria B. (1997). Comparative studyof the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & from Algeria and *R. officinallis* L from other countries. J essent. Oil Res. 9 : p : 167-175.

Lecerf J. M. (2012). Effets métaboliques du Curcumin obésité, lipides circulants.

Lee K.H, Huang E.S, Pagana J.S, Geissman T.A. (1971). Cytotoxicity of sesquiterpenes lactones. In Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum* . Cancer.Reasearch., 31:p :1649-1654.

Lepock J, Frey H.E, Bayne H.E, Markus J. (1989). Relationship of hyperthermia-inducedhemolysis of humanerythrocytes to the thermal denaturation of membrane proteins. Biochimica and Biophysica Acta (BBA); 980(2), 191-201.

Loap S. (2008). *Curcuma* (partie I). Phytothérapie, 6(1) **:** 22-28.

Loziene K. Petras R .Ausra S. jouzas L. (2006). Radical scavening and antibacterial properties of the extracts from different Thymus Pulegioides L, chemotypes. Food chemistry.(103) :p :546-559.

Lugasi A, Hovari J, Sagik V, Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases Acta Biologica Szegedientsis.47(1-4) : p:119-125.

-M-

Macheix J –J, Fleuriet L A, Jay-allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux, un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Parution. Montrial. Canada. p. :101-121.

Marliyah M, Ananthi T. (2015). In vitro anti-inflammatory activity of seed extract of Zea Mays (L.). J. Journal of Global Biosciences. Vol. 4, n°5, p. 2168-2173.

Mazid M, Khan T.A, Mohammad F. (2011). Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants, Mémoire Master En Sciences Biologiques 3 (2).p :232-249.

Messaoudi, Darragi. (2005). Élaboration d'un processus de fiabilité des équipements : application à l'espacement des arrêts planifiés. Mémoire. Trois-Rivières, Université du Québec à Trois-Rivières, 205 p.

Minker, Carole C, Pinson. (2012). A la découverte du gingembre**.** In Gingembre et Curcuma. Paris : Groupe Eyrolles, p : 14,18.

-N-

Nadda R. K, Ali A, Goyal R. C, Khosla P. K, Goyal R. (2020). Aucklandia costus (syn. Saussurea costus): Ethnopharmacology of an endangered medicinal plant of the Himalayan region. Journal of Ethnopharmacology, 113-199.

Naz S, Jabeen S, Ilyas S, Manzoor F, Aslam F, Ali A. (2010). Antibacterial activity of *Curcuma longa* varieties against different strains of bacteria. Pakistan Journal of Botany .42 (1) : 455- 462.

Ncube N. S, Afolayan A. J, Okoh A. I. (2008). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. African Journal of Biotechnology Vol. 7 (12), p : 1797-1806.

Neyestani TR. (2008). Polyphenols and Immunity. Chapitre 28.Dans: Wild-Type Food in Health Promotion and Disease Prevention. Humana Press Inc., Totowa, NJ. P : 413-434.

Nostro A, Germano M p, D'Angelo V, Marino A and Cannatelli Mm A. (2000). Extraction methods and bioautigraphy for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. Lettre en microbiologie appliquée. 30 (5): 379-385.

-P-

Parekh J, Nair R, Chanda S. (2005). Preliminary screening of some folklore medicinal plants from western India for potential antimicrobial activity. Indian Journal of Pharmacology 37: p:408-409.

Payne DNR, Adcock IM. **(2001).** Molecular mechanisms of corticosteroid actions. Paediatric Respiratory Reviews 2: p: 145-150.

Philips R Foy N. (1991). Herbes, cueillette, culture, utilisation, pour la santé par l'herboriste, pour la beauté par la cosmétologie, pour la cuisine Edition la maison Rustique Paris. p.191. Phytothérapie. 6. p :75–82.

Pandey M. M, Rastogi S, Rawat A. K. S. (2007). *Saussurea costus*: botanical, chemical and pharmacological review of an ayurvedic medicinal plant. Journal of ethnopharmacology, 110(3) : p :379-390.

-Q-

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

-R-

Ramar P.S, Ponnampalam G. (2010). Therapeutic Potential of Plants as Anti- microbials for Drug Discovery, Evid Based Complement Alternat Med 7 (3) : p :283-294.

Rasha Mohamed Hussein Ayoub. Saad, Mohamed Osman Alaagib. (2015). on the chemicalcomposition and antibacterial activity of Saussurea lappa (Asteraceae). The Pharma Innovation Journal, p :73-76.

Revati Sharma, Bipin Chapagain, Chitra Pai, Minakshi Bhattacharjee. In vitro antibacterial activity of seven Indian spices against high level gentamicin resistant strains of *enterococci.* Arch Med Sci, 2015, vol 11, no 4, p 863–868.

Rota M.C, Herrera A, Martinez R.M, Sotomayor J.A, Jordan M.J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. Food control. 19.p : 681-687.

-S-

Salagno A G. (1989). Le séchage solaire des plantes aromatiques et médicinales. p.80. **Sellal, (2009)**. Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique du gingembre. Mémoire de Magister, Université de Sétif, Algérie.

Setty AR. Sigal L H. (2005). Herbal medication commonly used in the practice of Rhumatologie ,mecanisms of action,efficacy and side effecte . seminars in Arthritis and Rheumatism.34 :p :773-784.

Sérémé A, Millogo Rasolodimby J, Guinko S, Nacro M. (2008). Concentration en tanins des organes de plantes tannifères du Burkina Faso. J. Soc. Ouest-afriq. Chim ,25,p : 55–61.

Sérémé A, Millogo-Rasolodimby J, Guinko S. Nacro M. (2010). Anatomie et concentration des tanins des plantes tanniferes du Burkina Faso. Journal des Sciences.10 (2) .p : 24-32.

Silou T., Malanda M, Loubaki L, (2003). Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle de Cymbopogon citrarus grâce à un plan factoriel complet 23 – Journal of Food Engineering, Vol 65, p : 219-223.

Sofowora A. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Edition KARTHALA. p.22.

Sree Kumari C, Yasmin N, Raffiq Hussain M, Babuselvam M. (2015). *in vitro* anti-inflammatory and anti-arthritic property of *rhizopora mucronata* leaves, J. International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR). Vol. 6, p. 482-485.

-T-

Tabata K, Nishimura Y, Takeda T, Kurita M, Uchiyama T, Suzuki T. (2015). Sesquiterpene lactones derived from Saussurea lappa induce apoptosis and inhibit invasion and migration in neuroblastoma cells. Journal of pharmacological sciences, 127(4) .p: 397-403.

-U-

Ujang Zanariah, Nordin Nurul Izza, Subramanam Thavamanithevi. (2015). Ginger species and their traditional uses in modern applications. Journal of Industrial Technology, vol 23, 1 , p : 59-70.

-V-

Valnet J. (1986). La Phytothérapie : Se soigner par les plantes. p.639.

Vandi, D, Nga E. N, Betti J. L, Loe G. M. E, Ottou P. B. M, Priso R. J, Foze T. N,Boumsong P. C. N, Dibong S. D, Mpondo E. M. (2016). Contribution des populations des villes de Yaoundé et Douala à la connaissance des plantes à tanins et à anthocyanes. Journal of Animal &Plant Sciences, 30(3), 4797–4814.

Verbois Sylvie. (2015). La phytothérapie. Édition Eyrolles. Paris. p.19.

Vidhya R, shobana S. (2016). Evaluation of in vitro hemolyticactivity of different parts of *Abutilon indicum* (LINN.). World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences; 5(5), 1182-1196.

Vonkeman HE, Braakman-Jansen LM, Klok RM, Postma MJ, Brouwers JR, van de Laar MA. **(2008)**. Incremental cost effectiveness of proton pump inhibitors for the prevention of non-steroidal anti-inflammatory drug ulcers: a pharmacoeconomic analysis linked to a case-control study. Arthritis Research Therapy 10(6): p:1-7

Vuorela S. (2005). Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. université Helsinki.

-W-

Wichtl M, Anton R. (2009). Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris, p : 38-41.

Wu X, Yu X, Jing H. (2011). Optimization of Phenolic Antioxidant Extraction from Wuweizi (Schisandr achinensis) Pulp Using Random-Centroid Optimazation Methodology. Int. J. Mol. Sci, 12,p: 6255-6266.

-Y-

Yagmur Zeynep, Caru Silvana. (2015) Zoom sur le gingembre. Réseau sante diabète. **Gurib-Fakim Ameenah. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine, vol 27, p : 93.

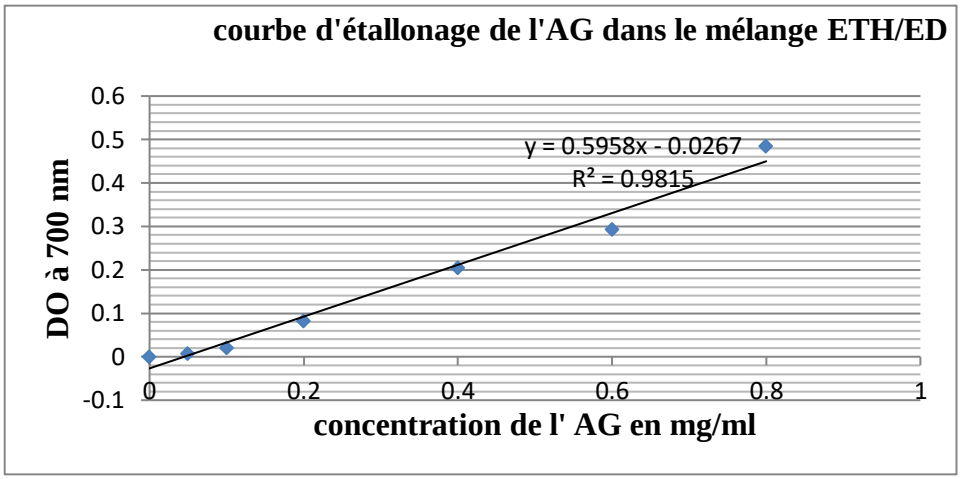
-Z-

Zeghad N. (2009). Etude de contenue polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt Economique Thymus vulgrais, Rosmarinus officinalis et évaluation de leur activité antibactérienne. Thèse de magister. Université Mentouri Constantine .

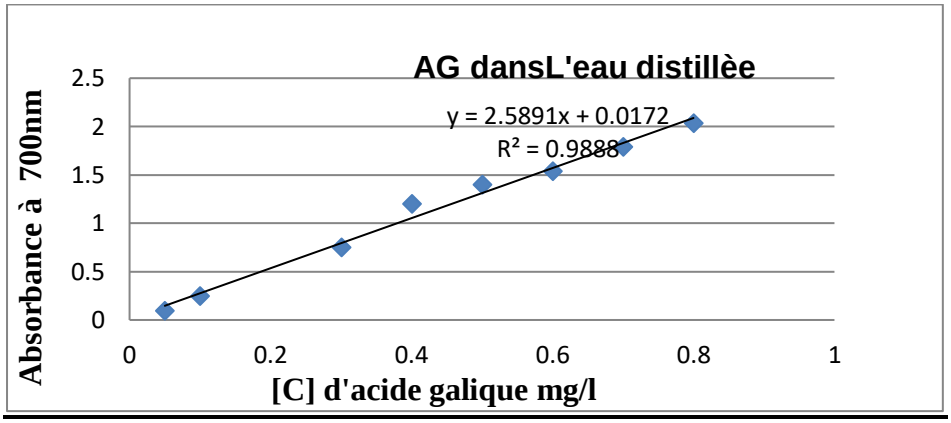
Zerbato Mélina. (**2010).** Intérêt du dosage par microméthode de la Protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie. Thèse de doctorat**.** Université de Lorraine .France

Annexes

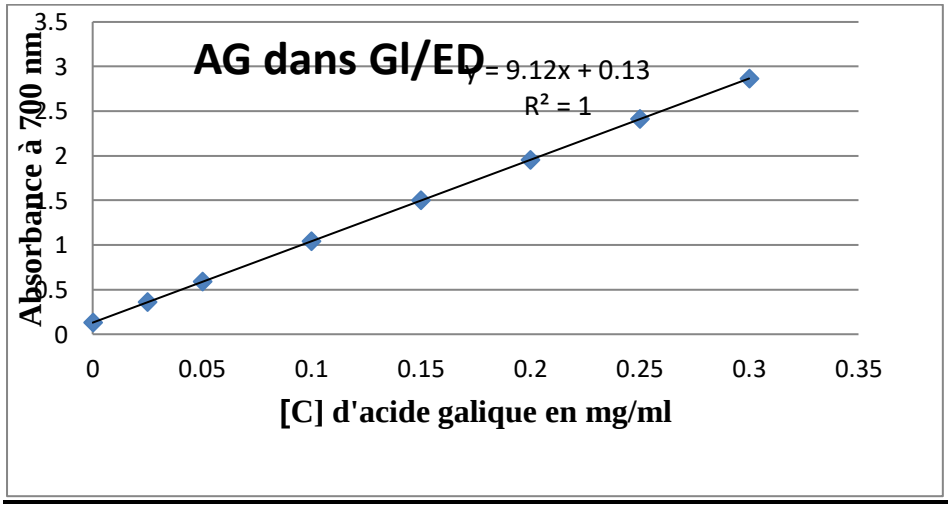
Annexe 01 :



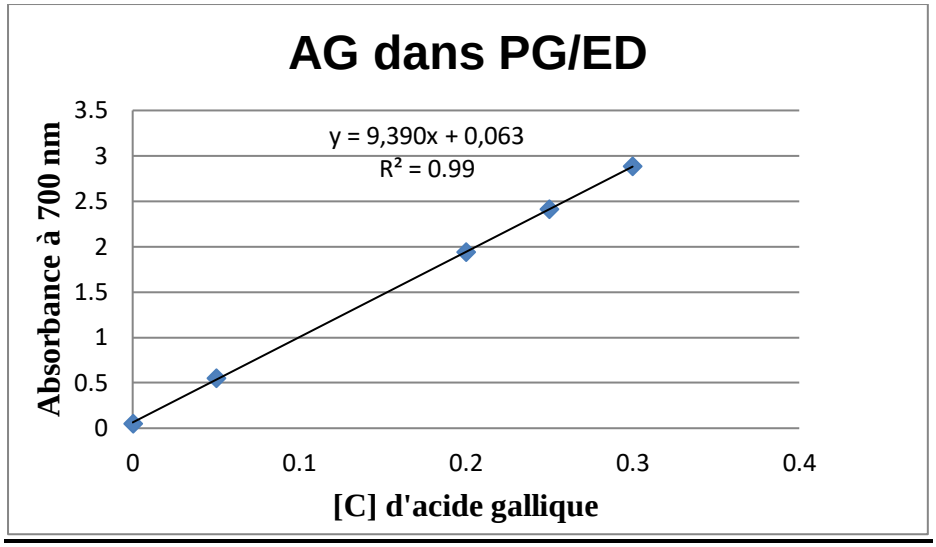
Annexe 02 :



Annexe 03 :



Annexe 04 :


AG dans PG/ED
y = 9,390x + 0,063
R² = 0.99
Absorbance à 700 nm
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0
0.1
0.2
0.3
0.4
[C] d'acide gallique