



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Moléculaire et Cellulaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master 2

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie de la nutrition

Intitulé

Isolement et Caractérisation Structurale de Curcuminoïdes d'Origine Naturelle

Présenté et soutenu par : *BOUFEKER Sanaa*

Le : 28/06/2018

AGGOUNE Dallel Zouleikha

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Mr. Nouadri Tahar* (MCA- UFM Constantine1).

Rapporteur : *Mme MOUAS T.Nardjes* (MCA - UFM Constantine1).

Examineur : *Mme.Dallouche Aziza* (MCA- UFM Constantine1).

*Année universitaire
2017- 2018*

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier **DIEU tout puissant**, qui en son nom et avec sa protection, nous avons réussi à réaliser ce travail.*

*Nous souhaitons remercier Madame **Mouas Toma Nardjes** Maitre de conférences à l'UFM Constantine1, pour nous avoir accueillies au sein du département de Biochimie de l'Université des Frères Mentouri pour effectuer ce travail de recherche et le valoriser au mieux.*

Nous remercions également le président du jury Mr Nouadri Tahar Maitre de conférences classe A à l'Université des Frères Mentouri Constantine, et Mme Dalloche Aziza Maitre de conférences classe A à UMC , de nous faire l'honneur de juger ce travail.

*Un merci bien particulier est adressé à **Monsieur Khlelfi. D**, professeur à l'université Frères Mentouri, Constantine, pour nous avoir accueillis dans son laboratoire GBBV.*

Sans oublié Monsieur Eric Manoury directeur de recherche au LCC, Toulouse, France d'avoir eu l'amabilité d'effectuer nos analyses RMN dans son service.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions jusqu'à l'obtention du diplôme de master.

Nous finissons par remercier nos chers parents pour l'aide qu'ils nous ont apporté tout au long de notre vie.

Boufeker Sanaa

Aggoune Dallel Zouleikha

DEDICACE

Je remercie ALLAH le clément pour m'avoir aidé durant toute ma vie.

Je dédie ce modeste travail:

A mes parents .Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour Dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet : mon mari ADEL, et bien sur A mes enfants KOUSSAI, MAHTEB, TIN-HINANE et AMIR, sans oublier mes frères et ma chère sœur que j'aime.

A toute ma famille, et mes amis,

*A mon binôme SANAA et toute la famille BOUFEKER.
Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.*

Dalle!

DEDICACE

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents pour leur amour inestimable, leur confiance, leur soutien, leurs sacrifices et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.

Mon cher mari, pour sa précieuse compréhension

Mes plus belles filles pour leur présence dans ma vie

Mes sœurs et mes belles sœurs pour leur tendresse, leur complicité et leur présence, ainsi qu'à mon frère

Ma belle-mère qui ma soutenue tout au long de ce travail j'espère que la vie vous réserve le meilleur.

*Au reste de la famille **BOUFEKER** , Pour leur soutien jusqu'à la fin de ce travail, ainsi qu'à Tous mes collègues de travail pour leur aide et encouragements.*

Tous mes chers amis Pour leur soutien et leur amitié

Chaleureuse qui nous a réuni dans ce travail. Mon cher binôme Dallel qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail.

Table des matières

Tables des matières.....	I
Abréviations.....	II
Liste des figures.....	III
Liste des tableaux.....	IV
Introduction générale.....	01

Partie I : Aspects Bibliographiques CHPITRE I : L'espèce *Curcuma longa*.L

I. Historique de la plante	03
I. 2. Terminologie.....	03
I.3. Systématiques.....	05
I.4. Répartition géographique.....	06
I.5. Description botanique de la plante.....	06
I.5.1. Caractères morphologiques.....	06
I.5.2. Caractères microscopiques.....	08
I.6. Vertus.....	08
I.7. Composition chimique.....	11
I.8. Activités biologique de l'extrait brut du <i>Curcuma Longa</i> .L.....	13
I.8.1. Activité antioxydante.....	13
I.8.2. Activité anti-inflammatoire	13
I.8.3. Activité antimicrobienne.....	14

CHAPITRE II : Les Curcuminoïdes

II.1. Propriétés physicochimiques	15
II.1.1. Structure chimique.....	15
II.1.2. Solubilité.....	16
II.1.3. Biodisponibilité.....	17
II.1.4. Les analogues structuraux de la Curcumine.....	18
II.1.4.1. Les analogues naturels de la curcumine	18
II.1.4.2. Les analogues synthétiques de la curcumine.....	20
II.1.4.3. Les relations structure-activité (RSA)	22
II.2. Activités biologiques.....	23
II.2.1. Activité antioxydante.....	23
II.2.2. Activité anti-inflammatoire.....	23

CHAPITRE III : Techniques D'analyses

Introduction.....	25
III.1. Extraction.....	25
III.1.1. Extraction par solvant organique.....	26
III.1.2. Extraction par ultrason.....	26
III.1.3. Extraction par absorbance.....	26
III.1.4. Extraction par CO ₂ supercritique.....	27

III.2.Chromatographie.....	27
III.2.1.Bref Historique.....	27
III.2.2.Définition.....	28
III.2.3.Classification.....	28
III.2.4.Types de chromatographie.....	29
III.2.4.1.Chromatographie sur colonne.....	29
III.2.4.2.Chromatographie en couche mince.....	30
III.3.Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire.....	31
III.3.1. Différents Type de RMN.....	32
III.3.1.1.RMN ¹ H.....	32
III.3.1.2.RMN ¹³ C.....	33
III.3.1.3.Spectroscopie Corrélée Homonucléaire, COSY.....	33
III.3.1.4. Spectroscopie d'amplification nucléaire Overhauser, NOESY.....	34
III.4.Domaine d'application.....	34
III.4.1.Applications RMN en biologie végétale.....	34
III.4.2.Applications RMN en toxicologie.....	34
III.4.3.Applications RMN en Chimie Organique.....	35

Partie II : Aspects Expérimentaux

CHPITRE I : Matériel et Méthodes

I.1.Matériel.....	36
I.1.1.Matériels Végétal.....	36
I.1.2.Matériel et produits de laboratoire.....	36
I.2.Méthodes.....	37
I.2.1.Enquête ethnobotanique.....	37
I.2.2.Séchage.....	38
I.2.3.Extraction.....	38
I.2.4.Séparation.....	40
I.2.4.1.Chromatographie sur colonne.....	40
I.2.4.2.Chromatographie liquide sur couche mince.....	43
I.2.5.Caractérisation par RMN ¹ H.....	46

CHAPITRE II: Résultats et Discussion

II.1.Résultats.....	48
II.1.1.Enquête ethnobotanique.....	48
II.1.2.Séchage.....	51
II.1.3.Rendement de l'extraction.....	52
II.1.4.Séparation et identification.....	53
II.1.4.1.Chromatographie sur colonne.....	53
II.1.4.2.Chromatographie liquide sur couche mince.....	55
II.1.6.Caractérisation structurale par RMN ¹ H.....	59
II.2.Discussion.....	63
II.2.1.Enquête ethnobotanique.....	63
II.2.2.Séchage.....	64
II.2.3.Rendementde l'extraction.....	64
II.2.4.Séparation et isolement de la curcumine.....	66
II.2.4.1.Chromatographie sur colonne.....	66
II.2.5.Caractérisation structuralepar RMN ¹ H.....	68

Conclusion.....	70
Références.....	73
Annexes.....	79
Résumés	

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Classification phylogénétique du végétal <i>Curcuma</i> .	05
2	Aspect des rhizomes de <i>Curcuma Longa</i> .L.	08
3	Les composés de <i>Curcuma longa</i> peuvent influencer positivement plusieurs pathologies.	11
4	Structure chimique des différents curcuminoïdes.	16
5	Les analogues naturels de la curcumine.	18
6	Les analogues synthétiques de la curcumine.	22
7	Structures du curcumol et des curcuminoïdes retrouvées dans le <i>Curcuma sp.</i>	23
8	Développement historique de la chromatographie liquide.	28
9	Dessin d'une colonne de chromatographie liquide.	30
10	Exemple d'utilisation d'une CCM.	31
11	Diagramme schématique détaillant les principaux composants d'un spectromètre à résonance magnétique nucléaire (RMN).	32
12	Origine du <i>Curcuma longa</i> .L étudié.	36
13	Broyage du <i>Curcuma longa</i> .L.	38
14	Extraction au Soxhlet.	39
15	Préparation de la colonne.	42
16	Dépôt de l'extrait brut du <i>Curcuma longa</i> .L.	42

17	Migration des constituants du <i>Curcuma longa</i> L.	44
18	Lampe UV à 365 nm.	45
19	Bruker Avance 400.	47
20	Etages Bioclimatiques de l'Algérie.	49
21	Diminution du poids des rhizomes en fonction du temps.	52
22	Déroulement de la chromatographie sur colonne.	55
23	Les différentes fractions récupérées.	56
24	Résultats de l'analyse chromatographique de <i>Curcuma longa</i> .L avec les deux systèmes.	56
25	Chromatographie de <i>Curcuma longa</i> .L avec le système 1 après révélationUV.	57
26	Chromatographie de la quatrième fraction utilisant le 2ème système.	58
27	Spectre RMN du ¹ H de la F ₄ (400Mhz – CDCl ₃).	59
28	Spectre RMN du ¹ H de la F ₅ (400Mhz – CDCl ₃).	61
29	Spectre RMN du ¹ H de la F ₃ (400Mhz – CDCl ₃).	62
30	Comparaison entre les rendements du <i>Curcuma longa</i> .L étudié et la littérature.	65
31	Comparaison entre les CCM de la curcumine purifiée étudiée et celle rapportée par Kulkarni et al., (2012) ; Revathy et al.,(2011).	67
32	Structure potentielle de la curcumine F4.	69

Liste des tables

Tableau	Titre	Page
1	Les dénominations du curcuma.	04
2	Composition chimique de <i>Curcuma longa</i> . L	12
3	Sources et cibles des analogues naturels de la curcumine.	19
4	Les différents types des chromatographies.	29
5	Matériel et Réactifs chimiques utilisés.	37
6	Comparaison des conditions climatiques et géo-écologiques des pays producteurs de <i>Curcuma Longa</i> .L et celles relevées au Nord-est Algérien.	50
7	Progression du poids des rhizomes du curcuma en fonction du temps.	51
8	Couleur des fractions obtenues.	54
9	Calculs des R_f et des ΔR_f correspondants.	57
10	Lecture du spectre RMN du 1H de la F ₄ .	60
11	Lecture du spectre RMN du 1H de la F ₅ .	62
12	Lecture du spectre RMN du 1H de la F ₃ .	63
13	Comparaison entre les rendements du <i>Curcuma longa</i> .L extraite par	

	différents solvants.	
14	Comparaison entre le R_f de la F_4 avec la littérature.	67

Liste des abréviations

- AB : Agriculture Bio .
- AChE : Acétylcholinestérase.
- AKT : Serine/ Threonin Kinase.
- AMPc : Adénosine Monophosphate Cyclique.
- APG : Angiospermes Phylogénie Groupe.
- AP_1 : Activator protein 1.
- BCL2 : *B-Cell Lymphoma 2*.
- BDNF : Brain-Derived Neurotrophic Factor.
- CDCl₃ : Chloroform Deuterium .
- CLL : Curcuma Longa L.
- COX-1 : Cyclooxygenase-1.
- COX-2 : Cyclooxygenase-2.
- CREB : ResponseElement-binding Protein.
- DMSO : Diméthylsulfoxyde .
- DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.
- EOA : Espèces oxygènes activées.
- FAO/WHO : Organisation mondiale de la santé.
- FRO : Forme Réactive Oxygéné.
- HAT : Hypoxanthine Aminoptérine Thymidine .
- HC : Hydrazine Curcumine.
- HE : Huiles essentielles.
- HETE : HydroxyEicosaTetraEnoic.
- HIV : Virus de l'Immunodéficience Humain.

- HMBME : HydroxyMethoxyBenzoiqueMethiliqueEster.
- HPLC : Chromatographie Liquide sous Haute Pression.
- iNOS : Oxyde Nitrique Synthase Inductible.
- J.-C : Julien Proleptique.
- JECFA : Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Mn-SOD : superoxydedismutase avec le Magnesium comme cofacteur.
- NF-κB : Nuclear Factor-kappa B.
- NO : Oxyde Nitrique.
- ONM : Oraganistion Nationale de la Météo.
- PGE : Prostaglandine E.
- PGs : Prostaglandines.
- p38 MAPK : protein 38 *Mitogen-Activated Protein kinases*.
- RebA : Rebauside.
- RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.
- ROS : Reactivoxygenspaces.
- Ru : Rubuloside.
- Sp : Space
- Ste : Steviose
- TLC : Thin layer chromatograh
- TMS : Triméthylsil Proponique
- TMS : Tétraméthylsilane
- TPA : TetradecanoylPhorbol_13_Acétat
- TNF : Tumor Necrosis Factor
- UV : Ultraviolet
- VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*
- WBC : World Boxing Council

Introduction Générale

Introduction

Les préoccupations liées à l'alimentation ne sont plus seulement d'ordre quantitatif, elles sont également d'ordre qualitatif. En quelques décennies, l'agriculture et les acteurs de la chaîne de l'alimentation se sont modernisés et structurés, par ailleurs, l'aliment est passé d'un produit source de nutriments à un produit plaisir, santé et culturel (**Branger., 2007,2009**), (**Jeantet., 2006**).

La perspective de substituer les additifs alimentaires (colorants, conservateurs, agents de texture,...) synthétiques de plus en plus largement controversés par la communauté scientifique à cause de leur caractère toxique ou cancérigène par des analogues naturels issues d'épices, fruits, légumes, algues... afin de redonner confiance aux consommateurs dans les produits agroalimentaires, est à l'ordre du jour des préoccupations actuelles, portée par une volonté politique internationale et nationale, et cela aura forcément des retombées économiques locales pour les agriculteurs, et les bio-industries de transformation (alimentaires et pharmaceutique).

De puis toujours, les hommes ont été fascinés par les épices. Porteurs de parfums envoutants et de saveur subtiles, symboles de luxe et de distinction sociale, vecteurs de bienfaits pour le corps, ... ces humbles végétaux ont été aussi convoités que l'or (**Birlouez., 2012**).

Parmi les épices les plus utilisées et prisées au monde, le *Curcuma longa* .L, plante miraculeuse de part ses larges bienfaits, et les curcuminoïdes principales constituants du curcuma sont responsables de sa couleur jaune mais aussi de son grand pouvoir anti-inflammatoire, antioxydant, antibactérien et antiparasitaire.

En effet, le curcuma était très estimé des anciens Indo-Européens pour la teinture d'un beau jaune doré qu'on en tirait. Toute fois son importance c'est vraiment révélée lorsqu'on a découvert, il y a longtemps, qu'ajouté aux aliments le rhizome réduit en poudre permettait d'en conserver la fraîcheur, la sapidité et la valeur nutritive. Ainsi, bien avant l'époque des conservateurs synthétiques bon marché, le curcuma jouait un rôle primordial comme additif alimentaire. C'est précisément ce pouvoir, qu'on lui attribuait jadis de préserver la fraîcheur des aliments, qui sert aujourd'hui de modèle pour l'étude de ses applications possibles dans le domaine des soins de santé, c'est-à-dire comme antioxydant. C'est pourquoi ces dernières années, les connaissances scientifiques accumulées en laboratoire de recherche ont attiré l'attention de nombreuses équipes de chercheurs dans des domaines divers et variés. Les études expérimentales se sont intensifiées à tel point que sur les 1 500 articles référencés dans la base de données de Medline en 2002, près de 900 articles ont été publiés sur le curcuma.

Introduction

Le curcuma a commencé à livrer ses secrets et les mécanismes d'action, multiples, commencent à être connus. Sur la base de ces acquisitions nouvelles, des études cliniques de phase I et II, encore rares, ont vu le jour, en particulier dans le domaine de la cancérologie (**Loap., 2008**) .

Ainsi, le travail présenté dans ce manuscrit est la prolongation d'une étude antérieure (**Seguani et al.,2017**) qui a suscité notre intérêt pour cette plante et ses constituants pour :

- La découverte de nouvelles sources de biomolécules et/ou originales et la possibilité à court terme de maîtriser l'usage des techniques mises en œuvre dans la Phytochimie, les différentes méthodes d'extraction, de séparation et de caractérisation structurale de biomolécules originales ou déjà connues.
- Isoler les curcuminoïdes à partir des rhizomes de la plante certifiée AB, et les caractériser par RMN ¹H,

Quand aux perspectives à long terme :

- Identifier les molécules potentiellement actives pour mieux comprendre leur mode d'action et les transformer dans une approche de pharmacomodulation afin d'optimiser leur effet thérapeutique (biodisponibilité orale, demi-vie...).
- Proposer des formes analogues pour les différentes industries de biotransformation agroalimentaires et pharmaceutiques.
- Proposer un projet entrepreneurial à visées socioéconomiques afin de promouvoir la bio culture de cette plante dans notre pays.

Pour se faire le présent manuscrit est divisé en trois parties :

- La première partie est une revue bibliographique dans les différents domaines (botanique, chimique et pharmacologique) sur la plante en général et les curcuminoïdes en particulier.
- Une seconde partie sur le matériel utilisé et la méthodologie de travail.
- Et une troisième partie regroupant les principaux résultats obtenus et leurs discussions.
- Notre travail est achevé par une conclusion concernant la caractérisation structurale des curcuminoïdes et les perspectives avenir de recherche.

Partie I :
Aspects
Bibliographiques

CHAPITRE I :
L'espèce *Curcuma*
longa.L

I. 1. Historique de la plante

Le curcuma (*Curcuma longa*.L) est originaire du sud ou du sud-est de l'Asie. Il est le résultat de nombreuses sélections successives au point que l'existence même d'une espèce sauvage de curcuma est remise en question (Sopher.,1964).

Depuis des siècles, le curcuma a tenu une place importante dans la médecine traditionnelle indienne, connue sous le nom de médecine ayurvédique. (Loap.,2008).

IL a été mentionné dans l'Atharva Veda de l'Inde et dans les anciens écrits sanskrits. En Chine, il est mentionné dans le Pent-sao du VII siècle, et dans les pays arabes, il est mentionné à partir du X^{ème} siècle. Cependant, son utilisation a commencé à diminuer au moyen Âge. Dioscorides l'a appelé Cyperus ,il le décrit dans son ouvrage *De MateriaMedica* comme « une plante indienne proche du gingembre, au goût amer et qui donne une belle couleur jaune ».(Kumaret al, 2011).

Le rhizome était a priori très rare en occident à l'époque, Il semble avoir été introduit en Europe au XIII^{ème} siècle par des marchands arabes, si bien qu'au XVI^{ème} siècle, il lui a été donné d'autres noms : Crocus indicus, turmerack et actuellement, curcuma, qui est dérivé du kurkum arabe et du Karkom hébreu qui signifie «jaune» (Kumar et al., 2011).

En 1450, on le retrouve à Francfort sur une liste de drogues à côté du gingembre et du zédoaire. Les premières descriptions de la plante et de l'origine de l'épice arrivent en Europe au XVI^{ème} siècle. On le trouve aussi en Afrique.

Le curcuma a été introduit en 1783 en Jamaïque ou il s'est naturalisé. Au milieu du XIX^{ème} siècle il est cité àTrinidad, à la Dominique et Haïti dans le livre : « Principales plantes cultivées introduites en Amérique latine depuis 1492 ». (Battistini., 1975).

I.2.Terminologie

La terminologie générale de « curcuma » se réfère à un groupe de pigments polyphénoliques provenant de plantes, à la couleur jaune canari caractéristique, qui sont à l'origine de ses propriétés multiples bénéfiques pour la santé. (Loap., 2008). Le terme «Longa » se réfère à la forme allongée de son rhizome. Le fait qu'il s'agisse d'une plante domestique a conduit le botaniste, Valetton, à donner le nom *Curcuma domestica*, par contre le nom anglais de curcuma est tiré du sanskrit et signifie «jaune», en référence à la couleur qui

provient des substances colorées du rhizome, et avec lesquelles les Hindous ont coloré leurs vêtements pour des actes de cérémonie (Lecerf., 2012).

La ressemblance de sa poudre avec l'ocre minéral précieux a donné le terme turmérique (turmeric en anglais) souvent utilisé aux Indes et par les Anglais et qui dérive du latin terra-mérita et du français médiéval terre-mérite (Lecerf., 2012).

De nos jours, on connaît pour cette plante diverses appellations suivant les langues :

Tableau 1 : Les dénominations du Curcuma (Loap,2008)

Langue	Dénomination
Français	Curcuma longa, safran des Indes, souchet de Babylone, terre-mérite
Arabe	Kurkum
Allemand	Kurkumawurzel
Anglais	Turmeric , Indian saffron
Chinois	Wong geung, yu chin
Hindi	Haldi
Indonésien	Kunyit, daun Kunyit (feuilles)
Japonais	Ukon
Javanais, Malais	Temoe lawak
Sanskrit	Haridra
Thailandais	Kha min
Vienamien	Cu nghe (frais), bot nghe (sec et moulu)

I.3.Systématique

Selon la classification phylogénétique (APG 3 en 2009), la plante du *Curcuma longa*.L appartient à La famille des Zingibracés est classée comme suite :

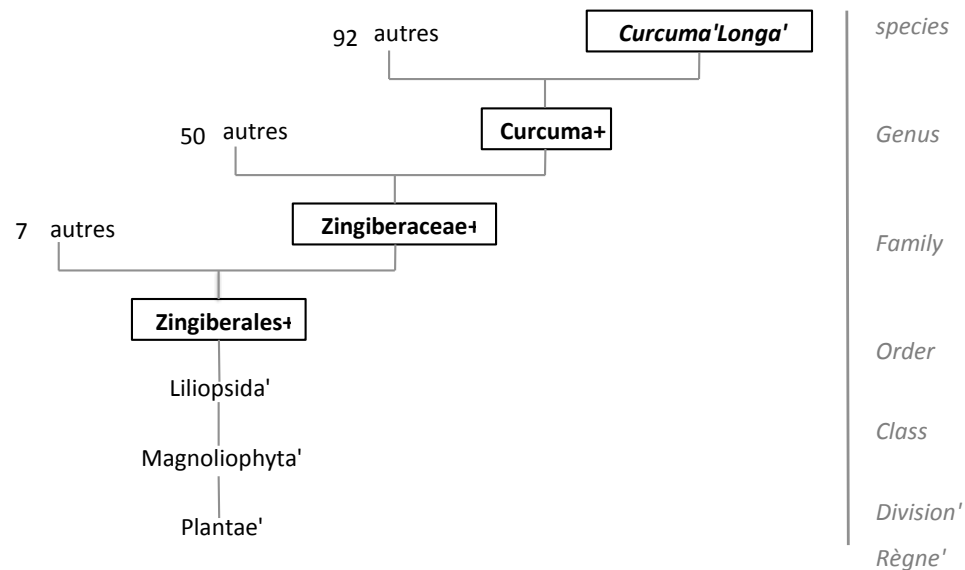


Figure 1 : Classification phylogénétique du végétal *Curcuma* (Jayaprakasha et al., 2005).

L'ordre des Zingibérales descend de la Subclasse des Commelinids (Kumar et al., 2011).

D'après la classification phylogénétique, il existe de nombreuses espèces de *Curcumma* dont les propriétés sont exploitées en Santé. Parmi lesquelles : le *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma amada*, *Curcuma aromatica*, *Curcuma brog*, *Curcumma malabarica* ou encore *Curcuma sylvaticas* (Angel et al., 2013).

I.4.Répartition Géographique

La famille Zingiberaceae est une espèce végétale dotée de propriétés anti-oxydatives. C'est la plus grande famille de l'ordre Zingiberales qui est largement distribué dans les régions tropicales, en particulier en Asie du Sud-Est. On estime qu'il existe 150 espèces de gingembre appartenant à 23 genres trouvés dans la Malaisie péninsulaire (Holttum., 1950) dont au moins

20 espèces en Chine, certaines d'entre elles ont été qualifiées de plantes médicinales ou alimentaires (Xiao et al., 2008).

Les espèces de Zingiberaceae poussent naturellement dans une partie humide, ombragée de la plaine ou sur les pentes des collines, en tant que plantes dispersées ou fourrés.

Zingiberaceae produit des rhizomes aromatiques qui sont au-dessus du sol ou souterrains (Soepadmo., 1976)

La plus grande diversité est concentrée en Inde et en Thaïlande, avec au moins 40 espèces dans chaque région, suivie de la Birmanie, du Bangladesh, de l'Indonésie et du Vietnam.

Daod et Aslam (1996) ont mentionné que le curcuma était réparti dans les zones de Kasur, Sahiwal et Okara dans les zones de Punjab et de Bannu, Pubbi et Haripur dans la province de Khyber Pakhtunkhwa. (Agrawal et al., 2007).

I.5. Descriptions botaniques de la plante

I.5 .1. Caractères morphologiques

Différentes descriptions de chaque partie de la plante sont présentées :

➤ La partie supérieure

- **Les tiges**

Erigées, verticales, de 1 m de hauteur portant 6-10 feuilles, dont les gaines recouvrent la tige. L'articulation du pétiole sur la tige est marquée par une languette (ligule). A ce niveau, la gaine est cilice. (Maisonneuve et Larose., 1991).

- **Inflorescences**

Epi cylindrique, naissant au pied d'une tige 10-15 cm x 5-7 cm formé de bractées imbriquées vert foncé, à l'aisselle desquelles naissent des fleurs, une pour chaque bractée. (Maisonneuve et Larose., 1991)

L'inflorescence est issue du rhizome et sort du sol à côté des hampes foliaires. Les fleurs sont regroupées en inflorescences coniques sous forme d'épis protégés par de grandes bractées, dressées au sommet de hampes florales, entre les feuilles. (Loap., 2008)

- **Les feuilles**

Souples, alternes, distiques, pétiolées. Limbe lancéolé 30-50 cm x 7-8 cm. (Maisonneuve et Larose., 1991)

Ces plantes portent de larges feuilles lancéolées ressemblant aux cannas pouvant former de grosses touffes d'environ 1m de hauteur, qui dépérissent généralement pendant la saison sèche tropicale et exhibent de courts épis dressés de petites fleurs aux couleurs souvent éclatantes, ou jaune pale (**Loap., 2008**).

- **Les fleurs**

Calice court. Corolle tubulaire à sa base, puis divisée en 3 lobes jaunes inégaux. Ovaire infère à trois loges ; ovules nombreux. (**Maisonneuve et Larose., 1991**)

Les fleurs sont situées, par paires (une seule s'ouvrant à la fois) à l'aisselle de bractées poilues. Elles sont verdâtres ou blanches à sommet rose. Longues de 5 à 6 cm, tubulaires, zygomorphes, bisexuées, les fleurs sont composées de 3 sépales pétaloïdes, d'un pétale postérieur développé et de staminodes formant un labelle pétaloïde. L'androcée est réduit à une étamine fertile et aux staminodes. Le gynécée est tri-carpelle. (**Cheikh Ali et al., 2013**)

- **Les fruits**

Le fruit du *curcuma* est une capsule globuleuse, mais il n'est pas produit chez l'espèce *Curcuma longa*, plante stérile disséminée par division de son rhizome. (**Loap., 2008**)

- **Les graines**

Étant rarement rencontrés et non décrit (**Maisonneuve et Larose., 1991**)

➤ **Le système racinaire**

La plante comporte des rhizomes d'où naissent des tubercules primaires ellipsoïdes de 5 cm x 2,5 cm portant de nombreux rhizomes cylindriques de 5 cm x 8 cm x 1,5 cm, droits ou un peu courbés dont l'odeur et le parfum sont caractéristiques. (**Maisonneuve et Larose., 1991**)

Le rhizome peut être globuleux, ou cylindrique et ramifié, ce qui permet de différencier *Curcuma xanthorrhiza* (*curcuma rond*) de *Curcuma longa*.L. La surface externe est gris-jaune, marquée par la cicatrice des racines. La section est franche et finement granuleuse, variant du jaune à l'orange sombre (**Loap., 2008**).



Figure 2: Aspect des rhizomes de *Curcuma longa* .L (Rivera-Espinoza Y. *et al.*, 2009)

I.5.2. Caractères microscopiques

Sur le plan microscopique, on distingue des cellules parenchymateuses entre lesquelles circule un réseau vasculaire. Les cellules des tissus profonds sont remplies de nombreux grains amylicés. (**Loap., 2008**)

I.6. Vertus

Les plantes sont rassemblées chaque année pour leurs rhizomes, et propagées à partir de certains de ces rhizomes à la saison suivante, lorsqu'ils ne sont pas utilisés frais, les rhizomes sont bouillis pendant plusieurs heures puis séchés dans des fours chauds, après quoi ils sont broyés dans une poudre orange-jaune profond couramment utilisée comme épice au curry (**Kumar et al.,2011**)

L'utilisation du curcuma apparaît de l'ancienne connaissance et se manifeste dans de nombreux domaines, si bien que la classification de ces usages est devenue difficile. Ainsi on lui trouve diverses utilisations suivant les traditions ou les connaissances des nations :

- **Usages traditionnels**

Le curcuma a été utilisé dans les médicaments traditionnels comme remède pour diverses maladies, y compris les troubles biliaires, l'anorexie, la toux, les plaies diabétiques, les troubles hépatiques, les rhumatismes et la sinusite (**Ammon et al., 1992**). Dans la vieille médecine hindoue, il a été largement utilisé pour le traitement des entorses et le gonflement causé par une lésion (**Ammon et Wahl., 1991**).

Dans la médecine orientale, le rhizome de curcuma est utilisé comme stimulant et digestif,

en Inde, le curcuma est une épice sacrée, signe de bon augure. Un mélange de poudre de curcuma avec du beurre chaud s'utilise comme antiseptique sur les petites blessures. Les hindous vénèrent le curcuma et l'associent à la fertilité. En Chine, on l'utilise pour améliorer la circulation.

En Thaïlande c'est un antidote contre la morsure du cobra et un répulsif anti moustiques. En France, il est inscrit à la pharmacopée comme cholérétique et cholagogue, et est traditionnellement utilisé dans les troubles fonctionnels digestifs d'origine hépatique et pour stimuler l'appétit (**Loap., 2008**).

Dans le Nord-Est du Brésil, on en forme un cercle autour des yeux des enfants qui souffraient de rougeole, afin de les empêcher de contracter une conjonctivite.

Aux Antilles françaises, l'extrait bouilli sert à prévenir le scorbut et dans la Guadeloupe comme antidote contre l'empoisonnement par l'arbre, le manzanillo-Hippomane mancinella. En Haïti, ils préparent l'extrait du rhizome avec du sel pour traiter l'ictère. De nos jours, il est utilisé comme aliment, étant le constituant principal du curry, (**Kumar et al. 2011**).

- **Usage industriel**

Vavilova (1990) a rapporté que la racine en poudre du curcuma a été utilisée pour fabriquer un colorant jaune profond pour les tissus.

- **Usage alimentaire**

Le curcuma est largement utilisé dans les aliments pour sa saveur et sa couleur. Les rhizomes du curcuma sont broyés dans une poudre orange-jaune profond couramment utilisée comme épice au curry et d'autres spécialités de l'Asie du Sud et de l'Est, il est également utilisé pour donner de la couleur aux condiments et à la moutarde. Son ingrédient actif est la curcumine et il présente une saveur piquante distinctement terreuse, légèrement amère et chaude et une odeur de moutarde (**Habbachi et al., 2013**).

- Usage médical :

Le curcuma est également utilisé comme colorant pour les médicaments (Scartezzini et Speroni., 2000).

Le curcuma a attiré beaucoup d'attention en raison de son potentiel médical important (Cousins et al., 2007). Les curcuminoïdes des composés présents dans le curcuma agissent comme un inhibiteur de l'intégrase du Virus de l'Immunodéficience Humaine1 (HIV-1) (Mazumder et al., 1995).

Les principales activités biologiques du curcuma sont carminatives, anti-inflammatoires, antifongiques et anti-plaquettaires(Lee., 2006). En plus d'aider à guérir certaines maladies courantes, les espèces de curcuma présentent également des propriétés médicinales pour le traitement des piqûres de serpent (Ratanabanangkoon et al.,1993) et comme antitumoral(Baatout et al., 2004). L'Organisation mondiale de la santé a recommandé l'utilisation de cette épice (Vavilova., 1990).

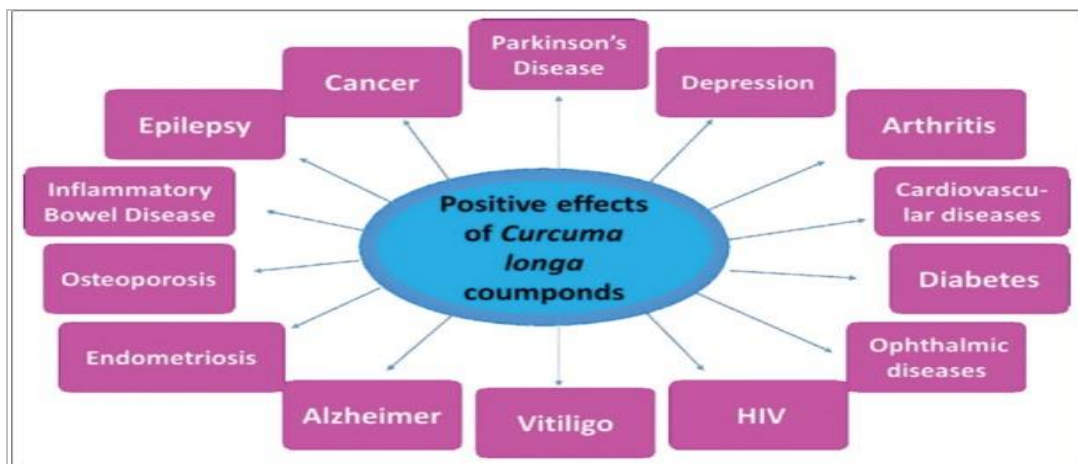


Figure 3 :Les composés de *Curcuma longa*. L peuvent influencer positivement plusieurs pathologies (Akuri et al., 2017)

I.7. Compositions chimiques

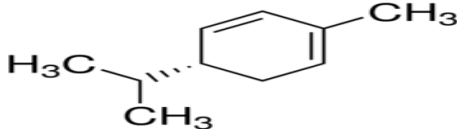
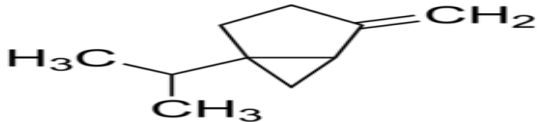
Le rhizome de cette espèce, riche en amidon, est composé de sucres simples et d'une huile essentielle à sesquiterpènes monocycliques. Ces derniers regroupent des carbures (comme la zingibérène) et des cétones (comme les turmérone et le curlone).

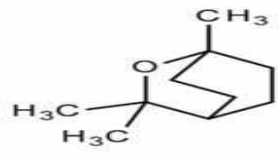
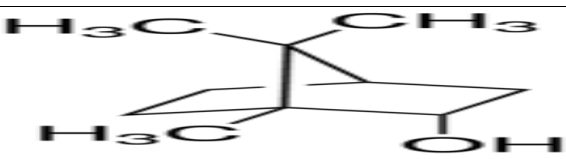
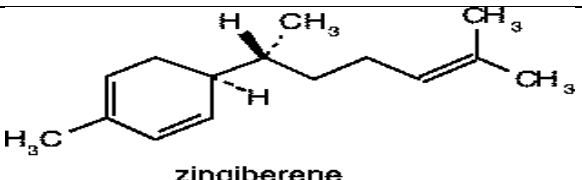
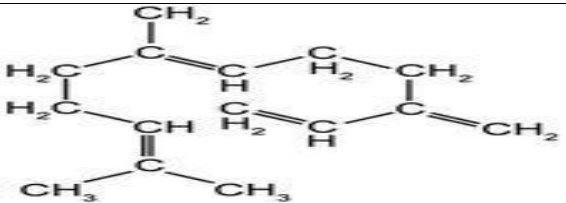
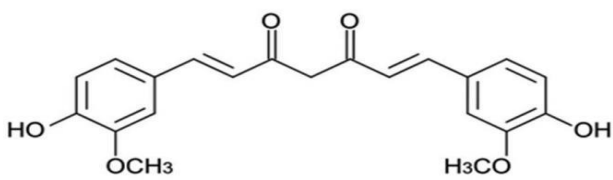
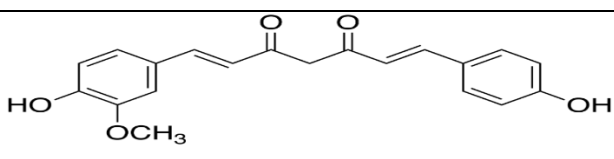
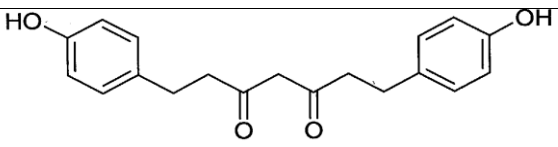
Cette composition fut déterminée progressivement aux grés de bon nombre d'études, une première dans les années 1980, permit d'identifier un sesquiterpène oxygéné le curlone (Suzuki *et al.*, 1983).

Une dizaine d'année plus tard, furent découverts deux ketoalcool sesquiterpènes, les turmérone A et B (Morikayo *et al.*, 1990) et cinq nouveaux sesquiterpènes (Ohshiro *et al.*, 1990) propres au *Curcuma longa*.L.

Ces études prouvent et démontrent les fortes concentrations de sesquiterpènes présentent chez l'espèce *Curcuma longa*, cependant, une limite survient en effet, les études s'accordent et se rejoignent sur les composés chimiques identifiés de la fraction volatile mais diffèrent en terme de taux de présence. (Loap, 2008)

Tableau 2 : Composition chimique de *Curcuma longa*. L (Kumar *et al.*, 2011)

Composants	Pourcentage	Structure chimique
Protéines	6.3 %	/
Graisses	5.1 %	/
Minéraux	3.5 %	/
Glucides	69.4 %	/
Humidité	13.1 %	/
Phellandrene	1 %	
Sabinène	0.6 %	

Cineol	1 %	
Borneol	0.5 %	
zingibrène	25 %	
Sesquiterpènes	53 %	
Curcumine	94 %	
Curcumine II	6 %	
Curcumine III	0.3 %	

Deux composants actifs du curcuma sont l'huile volatile et les curcuminoïdes et les deux sont présents dans l'oléorésine extraite de la racine du curcuma. Les huiles essentielles sont principalement constituées de sesquiterpènes, dont beaucoup sont spécifiques au genre *Curcuma*. L'arôme de cette épice est principalement dérivé des turmomères α et β et de la turmerone aromatique (Ar-turmerone). Les groupes aromatiques fournissent une hydrophobie et le leur donne une flexibilité. Les structures tautomériques influencent également l'hydrophobicité et la polarité (Amalraj *et al.*, 2017).

I.8. Activités biologiques de l'extrait de *Curcuma longa* .L

I.8.1. Activité antioxydante

Le rôle des radicaux libres a été établi dans différentes maladies telles que l'athérosclérose, le cancer, le diabète, la cirrhose, le vieillissement, etc. (Halliwell et Gutteridge., 1985). Par conséquent, les composés qui peuvent balayer ces radicaux libres ont de grands potentiels pour prévenir ou inhiber ces maladies dégénératives. Les antioxydants sont un tel composé avec une activité de piégeage des radicaux.

Augustine Amalraj et al.(2016) ont révélés que des extraits étudiés avec le test de DPPH présentaient une capacité de piégeage des radicaux libres, la plus élevée étant observée chez *Curcuma longa* et *Zingiber officinale*, ce qui est en accord avec les travaux antérieurs de (Aruoma et al., 1997).

I.8.2. Activité anti-inflammatoire

Le curcuma inhibe *in vivo* le NF-B articulaire, un facteur de transcription activé dans l'endothélium vasculaire et les cellules synoviales dans les articulations RA, et des principaux gènes inflammatoires directement ou indirectement activés par NF-B, tout cela suggère que l'inhibition de NF-B est un mécanisme critique de l'effet protecteur antiarthritique du curcuma. Des résultats d'études *in vitro* antérieures démontrant l'inhibition de l'activation de NF-B par le blocage de voies en amont par des produits à base de curcumine (c'est-à-dire l'inactivation du complexe IB kinase) (Funk et al.,2006).

I.8.3. Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles sont des produits de composition généralement complexes, renfermant des métabolites secondaires représentés par des principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de leur extraction. Les huiles essentielles (HE) sont biosynthétisées par les végétaux supérieurs en réponse à des conditions de stress et surtout pour combattre les agents infectieux ou parasitaires (Goetz et Ghedira.,2012).

L'huile essentielle de *Curcuma longa*. L inhibe le développement de plusieurs micro-organismes. La curcumine a une action bactériostatique sur le staphylocoque, alors que l'extrait alcoolique ainsi que l'huile essentielle sont bactéricides. L'intérêt grandissant pour le curcuma est lié à son efficacité sur les staphylocoques multi-résistants, fréquents dans les infections nosocomiales, et sa capacité à rendre l'oxacilline efficace quand il est administré concomitamment.

Thongsson(2005) a rapporté que l'huile essentielle de curcuma et de gingembre est efficace sur *Listéria monocytogènes* mais non sur les salmonelles.**(Loap.,2008)**.

CHAPITRE II :

Les Curcuminoides

Introduction

La curcumine est le principal composé actif de *Curcuma longa*. L., elle a été isolée pour la première fois par Vogel et Pelletier en 1815 (Kumar *et al.*, 2011), puis caractérisée par Milobedeska et ses collaborateurs en 1910, sa structure chimique a été déterminée par Roughley et Whitingen en 1973, et a été synthétisée pour la première fois par Lampe et ses collaborateurs, en 1913 (Augustine *et al.*, 2016).

Les curcuminoïdes ont également été isolés à partir d'autres espèces du genre *Curcuma* : *C. phaeocaulis* Val., *C. aromatica* Salisb., *C. mangga* Val. Et *C. xanthorrhiza* Roxb. Elles contiennent une quantité assez importante de curcumine. Les curcuminoïdes ont aussi été isolés de plusieurs genres de Zingiberaceae n'appartenant pas au genre *Curcuma* : *Aframomum*, *Alpinia*. *C. longa* et *C. xanthorrhiza* sont des espèces médicinales en France et en Europe (Shishodia *et al.*, 2005).

II.1. Propriétés physicochimiques

II.1.1. Structure chimique

Les curcuminoïdes sont un mélange de curcumine: un différuoylméthane [1,7-bis (4-hydroxy-3-méthoxyphényl) -hepta-1,6-diène-3,5-dione] mélangée avec ses deux dérivés, la déméthoxy [4-hydroxycinnamoyl- (4-hydroxy-3-méthoxycinnamoyl) méthane] et bis-déméthoxy curcumine [bis- (4-hydroxy cinnamoyl) méthane], de formules chimiques brut $C_{21}H_{20}O_6$, $C_{20}H_{18}O_5$ et $C_{19}H_{16}O_4$ respectivement. (Amalraj *et al.*, 2017).

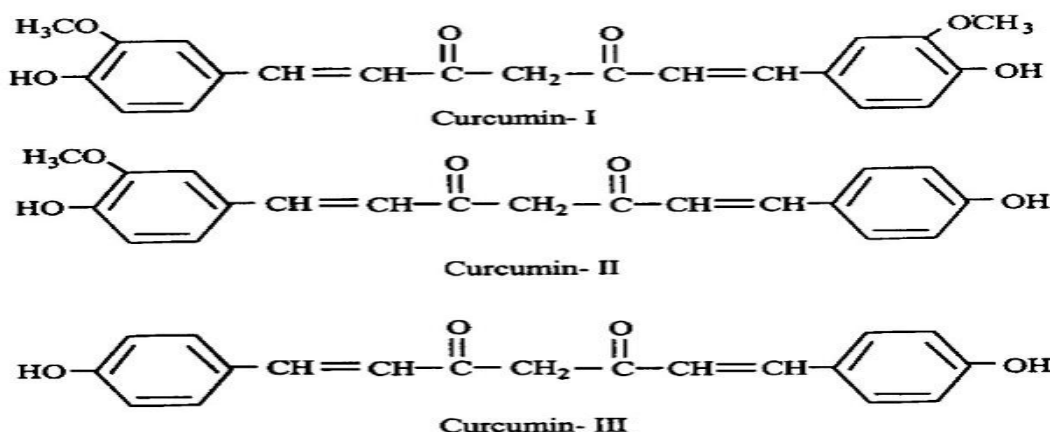


Figure 4 : Structures chimiques des différents curcuminoïdes (Kumar *et al.*, 2011) .

II.1.2.Solubilité

Les structures chimiques des curcuminoïdes les rendent beaucoup moins solubles dans l'eau à pH acide et neutre, mais solubles dans le méthanol, l'éthanol, Le diméthylsulfoxyde et l'acétone. Les curcuminoïdes donnent une coloration jaune-orange à la poudre de curcuma en raison de la large délocalisation électronique à l'intérieur des molécules qui présentent une forte absorption entre 420 à 430 nm dans un solvant organique. . L'hydrophobicité des curcuminoïdes les rend peu solubles dans l'eau. Trois constantes d'acidité (pKa) ont été mesurées pour les curcuminoïdes comme suit, $pK_{a1} = 8,38 \pm 0,04$, $pK_{a2} = 9,88 \pm 0,02$ et $pK_{a3} = 10,51 \pm 0,01,25$. La composition typique des curcuminoïdes des variétés indiennes populaires se trouve dans la gamme CUR 52- 63%, DMC 19-27% et BDMC 18-28% .17 (Amalraj et al.,2017).

Plusieurs glycosides terpéniques, tels que le mogroside V, la paenoiflorine, le géniposide, le rubusoside (Ru), le stéviose (Ste), le rebaudioside (RebA) et le monoside de stéviol, ont montré la capacité d'améliorer la solubilité d'un certain nombre de composés pharmaceutiquement et médicalement importants avec faible solubilité dans l'eau (Nguyen et al., 2014 ; Zhang et al., 2011). Les glucosides de Steviol, tels que Ru, Ste et RebA, sont les principaux composants sucrés des feuilles de *Rubus suavissimus* S. Lee (Rosaceae) et de *Steviarebaudiana*Bertoni(Upreti et al., 2011). Ru peut augmenter la solubilité de la curcumine de 0,6 mg / ml à 2,3 mg / ml avec une solution de 10 à 10% (p / v) dans l'eau (Zhang et al., 2011).

II.1.3.Biodisponibilité

Les essais cliniques de phase I ont montré que la curcumine est non toxique même à des doses élevées (12 g / jour) chez les humains, mais présentent une faible biodisponibilité, les principales raisons semblent être dues à :

Une mauvaise absorption, un métabolisme rapide et une élimination systémique rapide. Pour améliorer la biodisponibilité de la curcumine, de nombreuses approches ont été entreprises. Ces approches impliquent :

- 1-L'utilisation d'adjuvant comme la pipérine qui interfère avec la glucuronidation
- 2-L'utilisation de la curcumine liposomale
- 3-Les nanoparticules de curcumine

4-L'utilisation du complexe phospholipide de curcumine

5-L'utilisation d'analogues structurels de curcumine (par exemple EF-24). On a signalé que ce dernier avait une absorption rapide avec une demi-vie plasmatique maximale. Malgré la faible biodisponibilité, l'efficacité thérapeutique de la curcumine contre diverses maladies humaines, y compris le cancer, les maladies cardiovasculaires, le diabète, l'arthrite, les maladies neurologiques et la maladie de Crohn, a été documentée. La biodisponibilité améliorée de la curcumine dans un proche avenir est susceptible d'amener ce produit naturel prometteur à l'avant-garde des agents thérapeutiques pour le traitement des maladies humaines (Anand *et al.*, 2008).

II.1.4. Les analogues structurels de la Curcumine

II.1.4.1. Les analogues naturels de la curcumine

Plusieurs analogues de la curcumine ont été identifiés à partir d'autres plantes, dont : le 6- et 8-gingérol, le 6-paradol, la cassumunine, les galangals, les diarylheptanoïdes, les yakuchinones, l'isoeugénol et le dibenzoylméthane (Fig 05 , Tab 03). Bien que ces analogues manifestent des activités similaires à la curcumine (Hombourger., 2010)

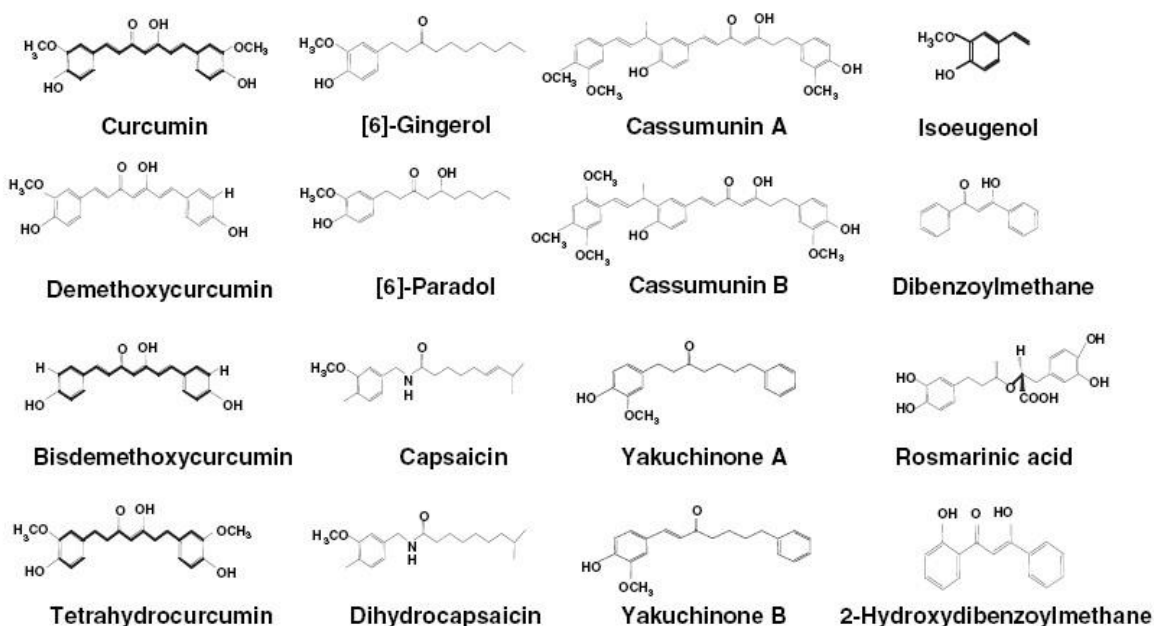


Figure 05 : Les analogues naturels de la curcumine (Aggarwal *et al.*, 2006).

Tableau 03: Sources et cibles des analogues naturels de la curcumine d'après Aggarwal et al., (2006).

<i>Analogues</i>	<i>Source</i>	<i>Cibles</i>
6-Gingérol	Gingembre (<i>Z. officinale</i>)	TNF, NF-κB, AP-1, COX2, iNOS, p38MAPK, antifongique
8-Gingérol	Gingembre (<i>Z. officinale</i>)	
6-Paradol	Gingembre (<i>Z. officinale</i>)	Activation des caspases
Shogaol	Gingembre (<i>Z. officinale</i>)	<i>Helicobacter pylori</i>
Cassumunine A et B	Gingembre (<i>Z. cassumunar</i>)	Antioxydant
Diarylheptanoïdes	Gingembre (<i>Zingiber sp.</i>)	PGE2
Dibenzoylméthane	Réglisse (<i>Glycyrrhiza echinata</i>)	COX2, VEGF
Galangals A et B	Gingembre (<i>Z. mioga</i>)	Caspase 3, BCL 2
Garcinol	Garcinia (<i>Garcinia indica</i>)	NF-κB, COX-2, iNOS, HAT
Isoeugénol	Giroflier (<i>Eugenia caryophyllus</i>)	NF-κB, antioxydant
Yakuchinone A et B	Galanga (<i>Alpinia officinarum</i>)	PG synthétase, COX2, iNOS, NF-κB, insecticide, molécules d'adhésion, TNF, AP-1, 5-HETE

II.1.4.2. Les analogues synthétiques de la curcumine

Les curcuminoïdes extraits des rhizomes de *Curcuma longa* L. sont répartis de la façon suivante : 77% de curcumine, 17% de déméthoxycurcumine et 3% de bisdéméthoxycurcumine. La curcumine et la déméthoxycurcumine sont aussi puissantes l'une que l'autre en tant qu'inhibiteurs de la promotion tumorale induite par le TPA (12-Otetradecanoylphorbol-13-acétate) sur la peau de souris, alors que la bisdéméthoxycurcumine est un peu moins active (**Huang et al .,1997**). A côté de la curcumine, plusieurs analogues ont été synthétisés et testés. La tétrahydrocurcumine, une substance antioxydante, qui est dérivée de la curcumine par hydrogénation, possède un effet protecteur sur le stress oxydatif chez les lapins recevant un régime riche en cholestérol. (**Hombourger.,2010**)

Un autre analogue a été développé, l'ester méthylique de l'acide 4-hydroxy-3méthoxybenzoïque (HMBME), qui cible les voies de signalisation AKT et NF-κB. Ce nouveau composé est capable d'inhiber la prolifération des cellules de cancer de la prostate de l'homme et de la souris. La surexpression de l'AKT constitutive annule l'inhibition de la croissance et l'apoptose. L'inhibition de l'activité de l'AKT par l'HMBME pourrait présenter un intérêt dans la suppression ou la diminution de l'activité des voies de survie et antiapoptotiques.

L'effet protecteur du [bis-1,7-(2-hydroxyphényl)-hepta-1,6-diène-3,5-dione] sur la peroxydation lipidique hépatique et le statut antioxydant a été examiné lors d'une carcinogénèse colique induite par l'1,2-diméthyl-hydrazine chez des rats Wistar mâles. Il a été observé que cet analogue de la curcumine exerce des effets chémopréventifs contre le développement du cancer en modulant la biotransformation des enzymes hépatiques et le statut antioxydant. L'effet était comparable à celui de la curcumine. Les chercheurs ont proposé que le groupe hydroxyle dans le cycle aromatique est responsable de l'effet protecteur plutôt que le groupe méthoxy.

Les propriétés anti-tumorales et cytotoxiques de chélates métalliques de curcuminoïdes synthétiques ont été étudiées. Il s'agit de chélates de cuivre de 1,7-bis(4-hydroxy-3méthoxyphényl)-1,6-heptadiène-3,5-dione (curcumine 1), 1,7-bis(pipéronyl)-1,6-

heptadiène-3,5-dione (pipéronyl curcumine), 1,7-bis(2-hydroxy naphthyl)-1,6-heptadiène-2,5-dione (2-hydroxynaphthyl curcumine), 1,1-bis(phényl)-1,3,8,10-undécatétraène-5,7-dione (cinnamyl curcumine). Ces chélates de cuivre de curcuminoïdes synthétiques montrent une activité antitumorale augmentée.

Un nouveau dérivé de la curcumine, l'hydrazinocurcumine (HC), a été synthétisé et étudié. Il a été capable d'inhiber la prolifération de cellules endothéliales aortiques bovines à des concentrations nanomoléculaires, sans cytotoxicité.

Plus récemment, des analogues pyrazole et isoxazole des curcuminoïdes ont été synthétisés. Ces analogues ont montré une sélectivité significative pour les COX-2 et COX-1 et une meilleure activité antioxydante. Les études moléculaires ont révélé que ces composés étaient capables de couper le site actif des COX -1 et -2. Cette approche pourrait être de grande aide pour désigner de nouveaux inhibiteurs puissants.

En comparant plusieurs analogues de la curcumine, il a été démontré que la curcumine, le 1,7bis-(3-fluoro-4-hydroxyphényl)-1,6-heptadiène-3,5-dione et le 2,6-bis-(3-fluoro-4hydroxybenzylidène)-cyclohexanone étaient les plus puissants inhibiteurs de la COX-2. Les dérivés tricycliques 2,6-bis-(4-hydroxy-3-méthoxybenzylidène)-cyclohexanone, 2,6-bis-(4hydroxy-3,5-diméthoxybenzylidène)-cyclohexanone et le 2,5-bis-(4-hydroxy-3,5diméthoxybenzylidène)-cyclopentanone ont inhibé l'expression de la COX-2 induite par les lipopolysaccharides et l'expression de l'iNOS dans des macrophages murins, avec un pouvoir égal à la curcumine (**Hombourger.,2010**).

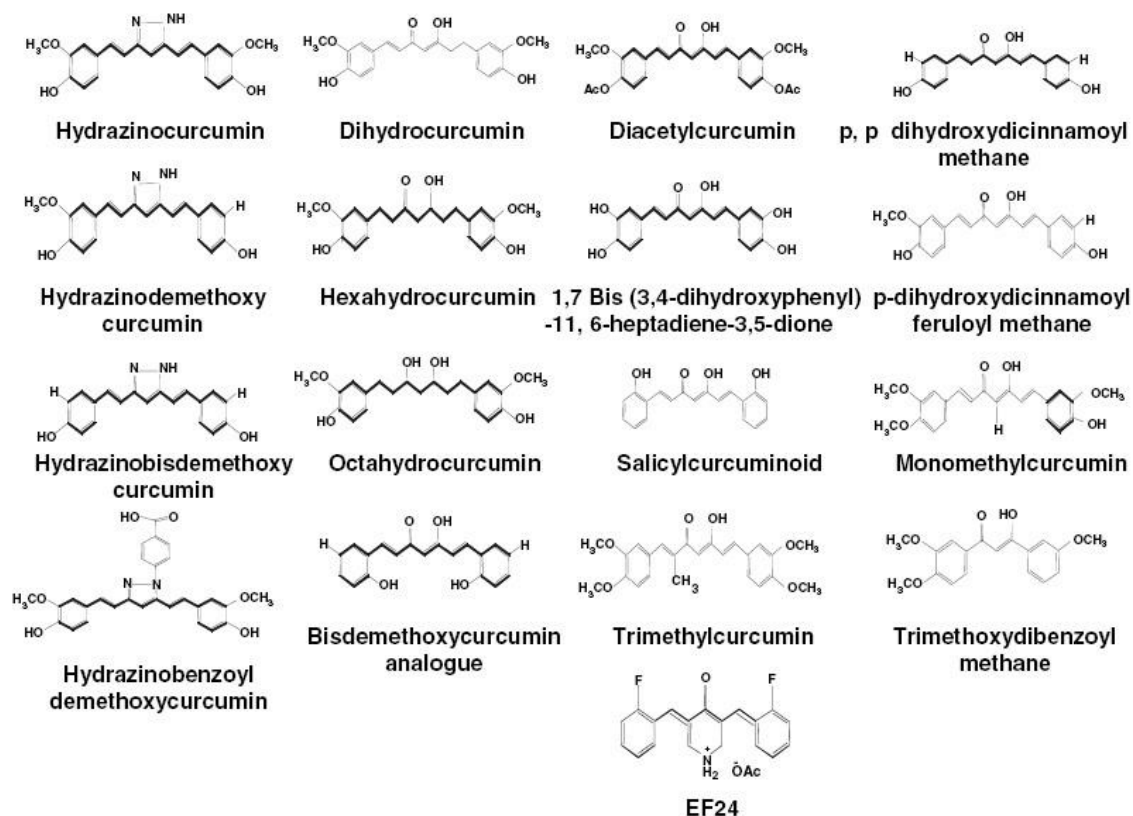


Figure 06: Les analogues synthétiques de la curcumine (**Aggarwal et al.,2006**)

II.1.4.3. Les relations structure-activité (RSA)

Afin d'élucider quelle portion de la molécule est critique pour l'activité, un large nombre d'analogues structuraux de la curcumine ont été synthétisés. Certains analogues sont plus actifs que la curcumine, alors que d'autres le sont moins. Il a été prouvé que les analogues phénoliques sont plus actifs que les analogues non phénoliques. L'activité antioxydante la plus forte a été obtenue lorsque le groupe phénolique est bloqué stériquement par l'introduction de deux groupes méthyle en position ortho. Le groupe phénolique est essentiel pour l'activité « piègeur de radicaux libres », et la présence du groupe méthoxy augmente encore l'activité. La curcumine montre à la fois des effets anti- et pro- oxydants. Ces effets sont déterminés par les mêmes parties structurales des curcuminoïdes. (**Hombourger.,2010**)

La présence de groupes hydroxyle en position ortho sur le cycle aromatique et la fonction β dicétone sont nécessaires pour induire les enzymes de détoxification de phase 2. La

curcumine est un inhibiteur non compétitif des delta-5-désaturase et delta-6-désaturase chez le rat. Seulement la moitié de la structure est nécessaire pour l'inhibition des désaturases. Un groupe 3-hydroxy du cycle aromatique est essentiel pour l'inhibition et un groupe carboxyle libre de l'autre côté du cycle aromatique interfère avec l'effet inhibiteur.

Enfin, la présence de la fonction dicétone dans la molécule de curcumine semble être essentielle pour sa capacité à inhiber la prolifération de cellules tumorales mammaires humaines.

Les analogues de la curcumine avec une fonction ènone et diènone possèdent des propriétés anti-angiogéniques puissantes *in vitro* (Aggarwal *et al.*,2006).

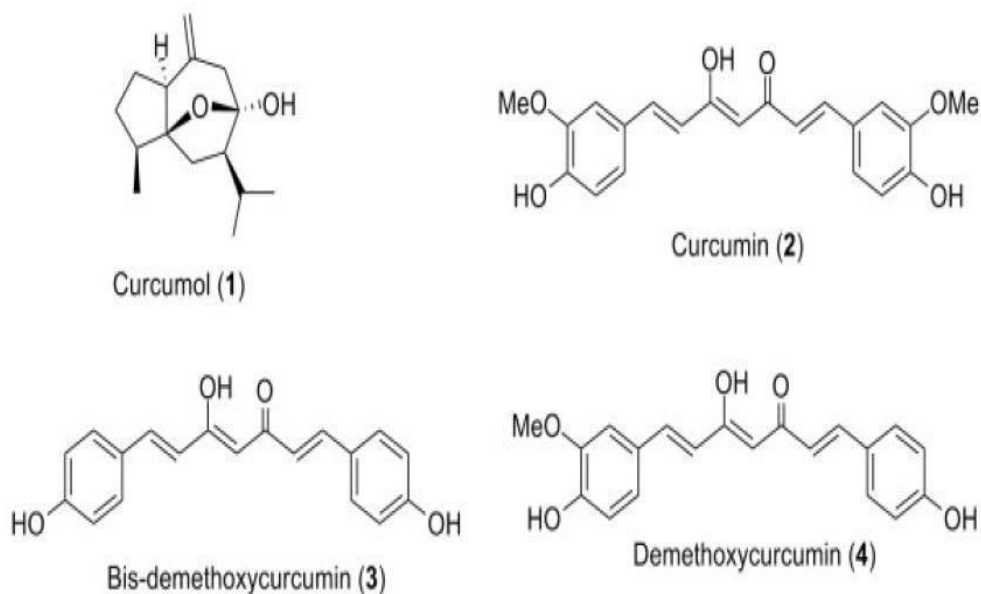


Figure 07 : Structures du curcumol et des curcuminoïdes retrouvées dans le *Curcuma sp.*, (Itokawa *et al.*,2008)

II.2 .Activités Biologiques

La curcumine a montrée des propriétés anti-inflammatoires et anticancéreuses après administration orale ou topique. En plus de sa capacité anti-oxydante, elle agit à de nombreux niveaux de signalisation cellulaire, sur différentes enzymes, dans l'immunité, le processus d'athérosclérose, l'angiogenèse ou l'adhésion cellulaire. Ses effets sur la transcription génique et l'induction de l'apoptose sont particulièrement intéressants pour envisager son utilisation dans la chimio prévention et la chimiothérapie des cancers. Les études de phase I ne montrent pas d'effet toxique de cette molécule, même à fortes doses, mais des études de phase II sont nécessaires pour confirmer ces résultats précliniques encourageants. **(Lisande et al., 2005)**

II.2.1.Activité Antioxydante

L'activité antioxydante de la curcumine a été rapportée dès 1975. Elle agit comme un agent d'élimination des radicaux libres d'oxygène. Elle peut protéger l'hémoglobine de l'oxydation *in vitro*, et peut inhiber de manière significative la génération d'espèces réactives d'oxygène (ROS) comme les anions superoxyde, H₂O₂ et la production de radicaux nitriques par des macrophages activés, qui jouent un rôle important dans l'inflammation. La curcumine abaisse également la production de ROS *in vivo*. Ses dérivés, la déméthoxycurcumine et la bis-déméthoxycurcumine ont également un effet antioxydant. La curcumine exerce un puissant effet inhibiteur contre les dommages induits par H₂O₂ dans les kératinocytes et les fibroblastes humains³¹ et dans les cellules NG 108-1580.**(Kumar et al.,2011)**.

II.2.2.Activité anti-inflammatoire

La curcumine est un anti-inflammatoire puissant avec des propriétés spécifiques d'inhibition de la lipoxigénase et de la COX-2-. Des études animales, *in vitro* et *in vivo* démontrent l'efficacité de la curande dans la diminution de l'inflammation aiguë et chronique. **(Kumar et al.,2011)**

CHPITRE III :

Techniques D'analyses

Introduction

Les méthodes (ou techniques) d'analyses physico-chimiques s'intéressent à l'identification et la caractérisation de substances chimiques connues ou non.

De nos jours, ces méthodes se sont automatisées en faisant volontiers appel à la physique, et cela permet de déterminer et de quantifier toute une gamme d'éléments en une seule opération.

Avant d'aborder les différentes méthodes de l'analyse chimique conventionnelle, on doit en général procéder à un certain nombre d'opérations généralement connues sous le nom d'"Analyse Immédiate". Il s'agit pour l'essentiel de méthodes physiques (surtout) voire chimiques (quand elles sont suffisamment spécifiques) dont le but est de séparer les différentes espèces chimiques présentes dans un échantillon. Le broyage, le tamisage, la distillation, la cristallisation, la filtration, la centrifugation etc. sont parmi beaucoup d'autres des opérations de l'Analyse Immédiate. Les méthodes chromatographiques sont des techniques de séparation extrêmement puissantes et font partie de l'ensemble des techniques propres à l'Analyse Immédiate. Puis viennent les méthodes de caractérisation structurale qui peuvent nous proposer un modèle structurale et une structure tridimensionnelle très fiable à l'instar de la diffraction par les rayons X sur monocristal et la RMN.

III.1.Extraction

Les curcuminoïdes sont classiquement extraits par des solvants organiques à partir de la poudre de rhizome. Les spécifications du JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) listent l'acétone, le méthanol, l'éthanol et l'isopropanol comme solvants utilisables. La directive européenne 95/45/EC admet l'acétone, le dioxyde de carbone, l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane, le n-butanol, le méthanol, l'éthanol et l'hexane. La curcumine est obtenue par cristallisation à partir de l'extrait. Certains laboratoires commercialisent des extraits concentrés de curcuma titrés en curcumine et choisissent de procéder par évaporation d'une solution hydro-alcoolique de titre faible. (**Cheikh Ali et al., 2013**).

L'engouement des études menées sur la curcumine a donné suite à différentes nouvelles méthodes d'extraction :

III.1. 1. Extraction par solvant organique

Anderson et al., (2000) ont développé une technique pour isoler la CUR du curcuma broyé. Ils agitent magnétiquement le curcuma broyé dans du dichlorométhane et chauffent au reflux pendant 1 h. Le mélange a été filtré par aspiration, et le filtrat a été concentré dans un bain d'eau chaude en maintenant à 50 ° C. Le résidu d'huile jaune rougeâtre a été trituré avec de l'hexane et le solide résultant a été recueilli par filtration. Les analyses de TLC (3% de méthanol et 97% de dichlorométhane) ont montré la présence des trois composants. Bagchi (2012) a présenté l'extraction de la CUR à partir de la poudre de curcuma avec l'utilisation d'un solvant constitué d'un mélange d'éthanol et d'acétone (**Augustine et al., 2017**).

III.1.2.Extraction par ultrason

Cette étude a mis au point une méthode d'extraction nouvelle et facile à industrialiser pour la curcumine à partir des rhizomes *Curcuma longa*. L utilisant une technologie d'extraction par ultrasons combinée avec le système aqueux à deux phases à base de sulfate / éthanol (ATPS) et la préparation de curcumine à l'aide de la HPLC semi-préparative. La curcumine préparée a été obtenue avec une pureté pouvant atteindre 85,58% par HPLC semi-préparative (**Lee et al., 2017**).

III.1.3.Extraction par absorbance

La poudre de curcuma peut être passée à travers différents tamis (0,42, 0,50, 0,60, 0,71 et 0,85 mm) pour obtenir la taille de particule désirée. La poudre de curcuma (1 g) de chaque taille de particule et une quantité mesurée d'alcool absolu sont ensuite transférés à des flocons à double chemise (longueur 18,5 cm, diamètre 6,5 cm), qui sont simultanément agités et chauffés à l'aide d'un bain d'eau à une température choisie pendant un temps prédéterminé. L'absorption de l'échantillon est prise à 425 nm en utilisant un spectrophotomètre UV (**Sogi et al., 2009**).

III.1.4.Extraction par du CO₂ supercritique

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (Hay.,2015).

III.2.La Chromatographie

III.2.1.Bref historique

En 1906, un botaniste russe Mikhail Semenovitch Tswett (1872-1919) inventa un nouveau phénomène de séparation nommé «Chromatographie» (du grec khrôma, couleur et graphein, écrire) en purifiant des pigments végétaux, comme la chlorophylle, sur une colonne de craie. En 1941, Archer John Porter Martin et Richard Laurence Millington Synge publient la théorie de la chromatographie de partage sur gel de silice. Les deux biochimistes reçoivent le prix Nobel de chimie pour leur contribution au développement de la chromatographie moderne en 1952. Ensuite sont nées les techniques de chromatographie en phase gazeuse, sur papier et en couche mince, la chromatographie HPLC (de l'anglais «High Performance LiquidChromatography») et dans les années 60 la chromatographie d'exclusion. C'est en 1969, après le 5^e Symposium International « Advances in Chromatography », que la chromatographie en phase liquide s'est véritablement développée. Cette dernière connaît aujourd'hui des applications dans tous les secteurs chimiques et biologiques, notamment au niveau de l'industrie pharmaceutique, alimentaire, l'industrie des polymères et le secteur de la protection de l'environnement. La chromatographie a connu plusieurs grandes évolutions qui sont rassemblées dans la **(figure 8)**. Un aspect important est la distinction entre la chromatographie analytique et la chromatographie préparative. Une autre étape importante a été le passage de la chromatographie en mode discontinu ou batch à la chromatographie

multi-colonnes continue. Enfin, les récentes évolutions des sciences de la vie ont conduit au développement de nouveaux procédés multi-colonnes séquentiels. (Unger et al., 2010).

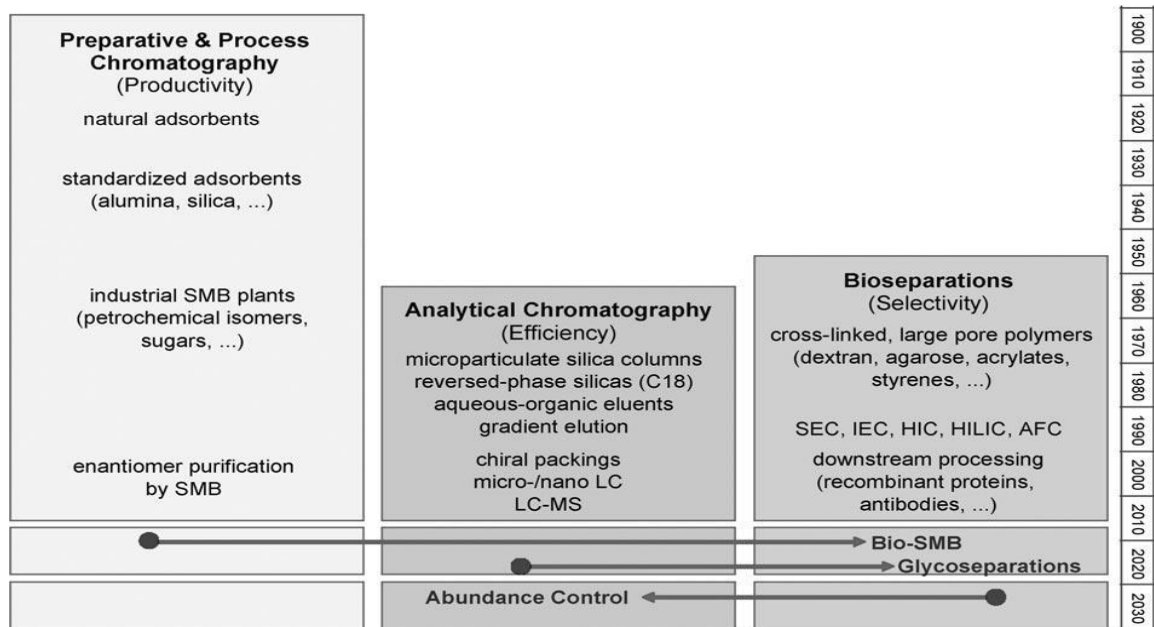


Figure 8 : Développement historique de la chromatographie liquide (Unger et al., 2010).

III.2.2. Définition

Le développement de la chromatographie a fortement contribué à l'avancement dans le domaine des analyses, car c'est une méthode de choix pour l'analyse des composés hautement énantiopures, étant la seule à pouvoir détecter et quantifier les impuretés à moins de 1%. (Mouas., 2013).

Une chromatographie est une technique de séparation des composés d'un mélange, par entraînement le long d'une phase stationnaire, à l'aide d'une phase mobile. Ces deux phases sont non miscibles. (Meunier., 2015).

III.2.3. Classifications (Meunier., 2015).

- Selon l'état physique des phases (liquide ou solide durant les phases stationnaires ou mobile).
- Selon el support utilisé (en colonne, sur papier, sur couche mince ou en batch).
- Selon les forces de séparation (solubilité, liaison électrostatiques, ioniques ou stéréospécifiques).
- Selon les étapes utilisées pendant la séparation (une ou trois étapes).
- Selon le but (quantifier les composée ou récupérer un composé).

Tableau 4: Les différents types des chromatographies d'après Burgot et *al.*, (2002)

Types de chromatographies	Interactions mises en jeu
Absorption ou phase directe	Polaires
Phase inverse	Hydrophobes
Interactions hydrophobes	Hydrophobes
Echange d'ions	Électrostatiques
Affinité	Spécifiques
Exclusion	Pas d'interactions

III.2.4. Types de chromatographie (Ozlem Coskun., 2016).

- Chromatographie sur colonne.
- Chromatographie par échange d'ions.
- Chromatographie d'affinité.
- Chromatographie sur couche mince.
- Chromatographie des gaz.

- Chromatographie en phase liquide à haute pression (HPLC)

III.2.4.1. Chromatographie sur colonne

Cette technique est utilisée pour la purification des biomolécules. Sur une colonne conditionnée (phase stationnaire), d'abord l'échantillon à séparer, puis tampon de lavage (phase mobile) sont appliqués (**figure 9**). Les échantillons sont accumulés au bas de dispositif d'une manière dépendante du volume. (**Ozlem Coskun.,2016**).

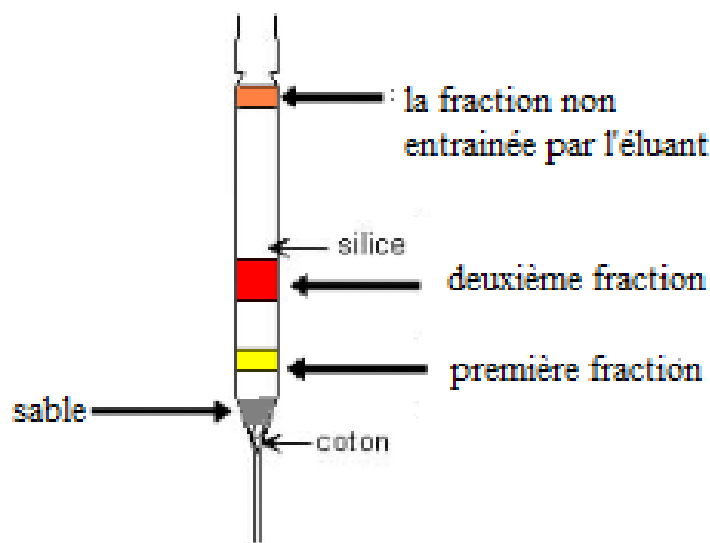


Figure 9: Dessin d'une colonne de chromatographie liquide

III.2.4.2. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince est une "adsorption solide-liquide". Dans cette méthode la phase stationnaire est une substance adsorbante solide revêtue sur des plaques de verre ou d'aluminium. En tant que matériau adsorbant tout solide et substances utilisés en chromatographie sur colonne (alumine, gel de silice, cellulose) peuvent être utilisés. La phase mobile se déplace vers le haut à travers la phase stationnaire, le solvant parcourt la mince plaque imbibée de solvant par capillarité (**Ozlem Coskun.,2016**).

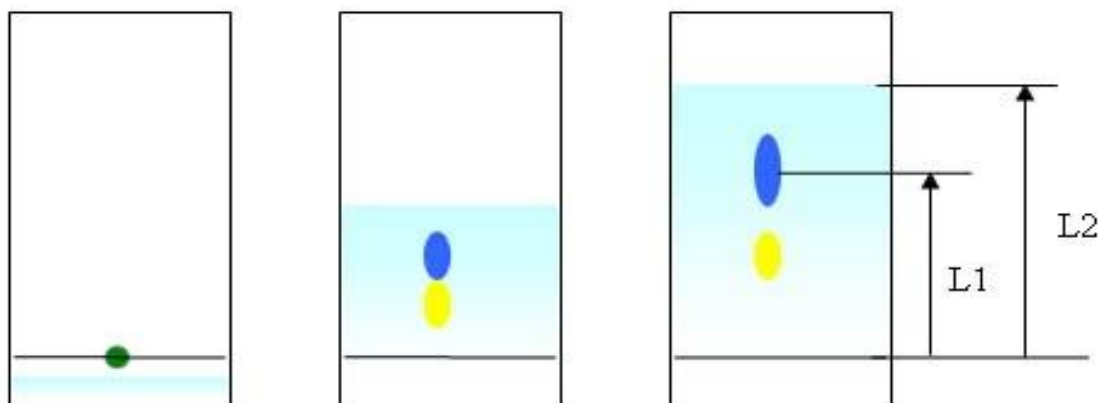


Figure 10: Etapes d'utilisation d'une CCM.

Nous déterminerons ensuite, le ratio frontal $R_f = L1/L2$, ce dernier étant le rapport entre la distance parcourue par le soluté, divisé par la distance parcourue par le front du solvant. Ce paramètre, nous informera sur la bonne séparation des composés. (Mouas., 2013).

III.3.Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire

La spectroscopie RMN exploite les propriétés magnétiques de certains noyaux possédant un spin, par exemple ^1H et ^{13}C . Généralement en métabonomie, RMN ^1H ou RMN du proton est utilisée. Les spectromètres RMN utilisent des supraconducteurs pour générer un fort champ magnétique (**figure 11**). Une charge en rotation placée dans un tel champ magnétique produit deux états de spin: un en haut, aligné avec le champ magnétique; et un en bas, aligné contre le champ magnétique. La différence d'énergie entre les deux états de spin est influencée par l'environnement électronique local, qui agit pour protéger le noyau. Lorsqu'un échantillon contenant ces noyaux est excité avec une impulsion radiofréquence, ces noyaux dans l'état de spin d'énergie inférieure sont excités dans l'état d'énergie supérieure et les différences subtiles dans les résonances générées peuvent être utilisées pour donner des informations concernant la structure chimique. Les résonances sont rapportées par rapport à un signal de référence, comme l'acide 3- (triméthylsilyl) propionique (TSP) ou le tétraméthylsilane (TMS), et pour tenir compte des champs magnétiques de différentes résistances, ces valeurs sont données comme des déplacements chimiques dans certaines parties. Par million (ppm). (David Antcliffe et Anthony Gordon.,2016).

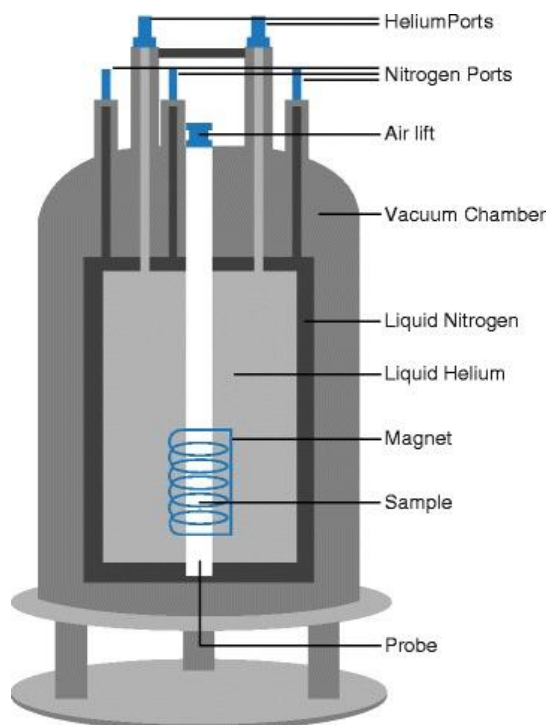


Figure 11: Diagramme schématisé détaillant les principaux composants d'un spectromètre à résonance magnétique nucléaire (RMN). (Antcliffe et Gordon.,2016)

III.3.1. Différents Type de RMN

Notre étude est limitée à la R.M.N du proton, RMN^1H , mais il faut savoir qu'il existe d'autres RMN, telles que celles du carbone ^{13}C , du fluor ^{19}F , ou aussi de l'hydrogène ^3H tritium...

III.3.1.1. RMN ^1H

Cette technique est la première arme du chimiste pour avoir une première approche de la nature du composé préparé, plus compliquée que la RMN ^{13}C , la RMN ^1H du proton, peut

aisément faire la distinction entre deux sortes d'hydrogène. Bien plus, elle peut aussi distinguer les autres types d'hydrogène présents dans la molécule.

- ^1H est l'isotope principal de l'hydrogène (99,985% d'abondance naturelle) alors que ^{13}C n'est qu'un isotope mineur (1,1%).
- La RMN ^1H est quantitative : l'air sous le pic (l'intégration) nous donne le nombre de noyaux d'hydrogène, alors que la RMN ^{13}C donne des pics intenses ou faibles pour le même nombre de noyau ^{13}C .
- Il y a une interaction magnétique entre les protons (« couplage ») qui révèle la connectivité de la structure, alors que ^{13}C est en trop faible quantité pour qu'on puisse voir le couplage entre les noyaux ^{13}C .

Les déplacements chimiques de la RMN ^1H donnent une indication beaucoup plus fiable sur la chimie locale que celle que donnent les spectres de RMN ^{13}C . (Mouas., 2013).

III.3.1.2. RMN ^{13}C

De nombreux éléments ont des isotopes peu abondants, au-dessous de 1%, et nous pouvons les ignorer. Mais un isotope que nous ne pouvons pas ignorer est le ^{13}C , présent à 1,1% dans le carbone ordinaire contrairement au ^{12}C , il n'est pas radioactif mais il est actif en RMN. La RMN du carbone (ou plutôt de ^{13}C) peut aisément distinguer les trois atomes de carbone différents, nous pouvons aussi en tirer le type d'environnement chimique dans lequel se trouvent les atomes de carbone. (Mouas., 2013).

III.3.1.3. Spectroscopie Corrélée Homonucléaire, COSY

L'expérience COSY a été développée au début de l'histoire de la RMN bidimensionnelle. Les deux axes de fréquence dans l'expérience sont utilisés pour afficher des informations de décalage chimique de protons dans la plupart des cas. Le spectre de protons réel de ces expériences réside le long de la diagonale dans le spectre 2D. Les résonances individuelles de protons dans l'expérience sont corrélées les uns aux autres via le couplage scalaire (J), par corrélation hors diagonale réponses Geminal ($^2J_{\text{HH}}$) et vicinal ($^3J_{\text{HH}}$) les corrélations seront presque toujours observées si le couplage scalaire entre les protons en question est raisonnable.

III.3.1.4.Spectroscopie d'amplification nucléaire Overhauser, NOESY

L'expérience NOESY est une autre des expériences auto-corrélées homonucléaires dans lequel les deux axes de fréquence affichent des informations de décalage chimique (généralement ^1H , bien que des expériences ^{19}F soient certainement possibles dans les composés perfluorés, et éventuellement ^{13}C pour les molécules biosynthétisées. (Gauglitz et Vo-Dinh., 2003).

III.4.Domaine d'application

III.4.1.Applications RMN en biologie végétale

Les interactions entre métabolites sont difficiles à prévoir, et aux changements métaboliques attendus peuvent s'associer des variations inattendues, pouvant rendre la plante impropre à la consommation. La recherche de méthodes capables d'évaluer ces risques de façon fiable est donc une problématique essentielle. La métabolomique par RMN, méthode quantitative et non ciblée, représente un outil de choix pour détecter ces modifications métaboliques inattendues. Elle permet de comparer l'ensemble du métabolisme des extraits de plantes non modifiées par rapport à leurs équivalents transgéniques, dès que les molécules sont en concentration suffisante pour être détectées.(Cécile Canlet et *al.*, 2012).

III.4.2.Applications RMN en toxicologie

L'évaluation de la toxicité des médicaments est un enjeu important pour l'industrie pharmaceutique. Les toxicités les plus problématiques sont celles qui apparaissent tard au cours d'un traitement, et qui ne sont pas détectables lors des études précliniques et cliniques de ces médicaments. Un défi majeur est donc l'identification précoce des biomarqueurs des réactions secondaires de ces médicaments, c'est-à-dire avant que le patient ne subisse de potentiels effets toxiques liés au traitement. L'analyse métabolomique par RMN de biofluides de rongeurs après traitement s'avère être une technique particulièrement pertinente pour l'évaluation de la toxicité de médicaments potentiels, démontrée par des études sur de nombreuses substances modèles. La prédiction de lésions au niveau du foie de rongeurs peut être également évaluée à partir d'études par RMN sur des biofluides prélevés en amont de tout traitement. Prenons l'exemple du paracétamol qui a été largement étudié par des approches de métabolomique par RMN (Cécile Canlet et *al.*, 2012).

III.4.3.Applications RMN en Chimie Organique

La spectroscopie RMN au service de l'étude des polymères :

La spectroscopie RMN constitue un outil extrêmement utile pour l'étude des matériaux polymères. Rappelons que ces derniers sont constitués de chaînes qui, dans le cas le plus simple, sont linéaires et correspondent à l'enchaînement d'un seul type d'unité de répétition. La RMN en solution permet de décrire de façon très détaillée la structure chimique de ces unités et surtout, la façon dont elles s'enchaînent les unes avec les autres, leur éventuelle tacticité, leurs défauts de structure ou encore la nature des extrémités de chaîne (**Cédric Lorthoir., 2012**).

Partie II :
Aspects Expérimentaux

CHPITRE I :

Matériel et Méthodes

Le but de ce travail est de proposer un projet socio-économique, extraire, isoler, identifier et caractériser structuralement des curcuminoïdes issues de l'Agriculture Bio.

I.1. Matériel d'étude

La partie pratique du présent manuscrit a été réalisée au laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies végétales de l'UFM Constantine1.

I.1.1. Matériel végétal

La plante *Curcuma longa*. L qui fait l'objet de cette étude chimique est originaire d'Inde et a été achetée sous forme de Rhizome frais certifiée AB (Fig12), dans une grande surface de la région de l'Île de France.



Figure 12: Identification du *Curcuma longa* .L étudiée

I.1.2. Matériel et produits de laboratoire

- Tous les solvants et réactifs chimiques utilisés sont de qualité analytique.

Tableau 5 : Matériel et Réactifs chimiques utilisés

Verrerie	Appareillage	Autres	Consommable
Bechers	Balance analytique	Mortier et pilon	Silice
Tubes	Lampe UV	Coton	Plaque CCM
Flacons de récupération stériles	Pipette pasteur	Sable	Hexane
Colonne en verre	Broyeur domestique	Papier filtre	Acétate
Cuves de CCM	Soxhlet		Méthanole
	Evaporateur rotatif		

I.2. Méthodes d'étude

I.2.1. Enquête ethnobotanique

Le recours à la phytothérapie dans le traitement de plusieurs pathologies est devenu fréquent en Afrique et notamment en Algérie.

L'Algérie, importateur net de plantes aromatiques et médicinales, devrait rendre ce créneau une filière à part entière afin de tirer profit de son riche potentiel (FAO., 2015).

Les importations des huiles essentielles notamment celles du citron et de l'orange proviennent de pays méditerranéens comme la France, l'Italie et l'Espagne, alors que les pays d'Asie tels que la Turquie, le Pakistan, l'Inde et la Chine sont les principaux fournisseurs d'épices du marché algérien. Pourtant, on peut trouver et produire ces épices ici en Algérie comme le safran, la cannelle, et le curcuma (Lamia Sahi., 2015).

A cette fin, une enquête ethnobotanique a été menée auprès d'herboristes et agriculteurs exerçant dans la région de Constantine, Algérie. L'approche des herboristes interviewés a été fondée sur le dialogue direct en langue locale, chaque interview durait environ 30 min en précisant le but de notre étude et sans exercer de pression. Des documents bibliographiques ont également été utilisés à titre comparatif pour identifier l'écologie de la plante et la biogéographie en Algérie.

I.2.2. Séchage

Les rhizomes frais de *Curcuma longa* .L (480gr), ont été séchés à l'ombre dans un endroit sec pendant 9 jours.

Les rhizomes ont été pesés chaque 24h, ensuite leur humidité relative a été calculée selon la formule suivante :

$$\mathbf{HR\% = [(MF - MS)/MF]*100}$$

H% : Humidité exprimée en pourcentage.

MF : La masse fraîche de l'échantillon de la plante.

MS : La masse sèche de l'échantillon de la plante.

I.2.3.Extraction**❖ Broyage**

Dans un mortier et à l'aide d'un pilon, une quantité de 100g de Rhizome sec du *Curcuma longa*.L a été broyée grossièrement, puis pulvérisée en poudre fine à l'aide d'une moulinette.



Figure 13: Broyage du *Curcuma longa*.L

❖ Préparation du curcuma pour l'extraction

Une quantité de l'échantillon broyé (broyat) **51.909 gr**, est entassé dans une cartouche qui est déposée dans le Soxhlet. 75cl de solvant (méthanol) sont versés directement sur le broyat et 25cl versés dans le ballon dans lequel sont déposés au préalable quelques grains de pierres ponce. Le tout est porté à ébullition. L'ensemble est prêt pour l'extraction.

❖ Extraction par Soxhlet

L'extraction au Soxhlet est une méthode d'extraction Solide-liquide fréquemment utilisée.

Le méthanol contenant la matière solide retourne dans le ballon par déversement successif causé par un effet de siphon dans le coude latéral. La matière solide s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète, l'extrait brut est ainsi obtenu.



Figure 14 : Extraction au Soxhlet.

❖ Evaporation

Le méthanol est évaporé généralement sur un évaporateur rotatif, programmé à 40°C sous pression réduite maintenu à l'aide d'une pompe afin d'assurer le vide.

- Le ballon qui contient l'extrait brut obtenu, est placé sur le rota vapeur pendant un certain temps jusqu'à ce que l'évaporation du méthanol s'arrête et l'extrait brut sec ainsi obtenu se présente sous forme d'une gomme marron orange accumulée sur les bordures du ballon.
- L'extrait est récupéré avec un mélange "méthanol+eau" 1 :1V/V, à l'aide d'une spatule on gratte tous ce qui s'accumule sur les bordures.

- Le tout est conservé dans un flacon ombré et stérile et mis au congélateur jusqu'à son utilisation

❖ Calcul du rendement

Pour peser le poids de l'extrait brut, il faut d'abord :

- Peser le ballon vide, puis ce dernier avec l'extrait et on calcule le poids de l'extrait brut, cela permet de calculer le rendement selon la loi suivante :

$$\text{Rd \%} = [\text{ME} / \text{MP}] \times 100$$

Rd : Rendement d'extraction

ME :Masse d'extrait

MP :Masse de la poudre

I.2.4. Séparation

❖ Chromatographie sur colonne

La séparation des composés est provoquée par l'écoulement continu d'un éluant passant dans la colonne par gravité ou sous l'effet d'une faible pression. Les composés sont entraînés par l'éluant à des vitesses différentes en fonction de leurs affinités avec la silice et avec l'éluant. Ce procédé permet de séparer les différents composants d'un produit.

Mode opératoire

- **Préparation de l'échantillon**

L'échantillon est l'extrait brut sec des rhizomes de *Curcuma longa* .L obtenu précédemment par extraction au Soxhlet.

- **Système solvant (phase mobile)**

La phase mobile est constituée par un mélange de solvants organiques généralement de faible, moyenne et forte polarité dans des proportions adéquates

que nous déterminons empiriquement. Pour cela, le système solvant retenus été un gradient hexane /acétate d'éthyle.

- **Préparation de la colonne (phase stationnaire)**

La réalisation d'une colonne impose de respecter certaines règles qui permettront une séparation efficace.

Tout d'abord un morceau de coton est placé au fond de la colonne que l'on recouvre d'éluant, afin d'éliminer l'air emprisonné dans le coton. Ensuite, deux centimètres de sable environ sont ajoutés au-dessus du coton, afin que la phase stationnaire ne puisse pas s'échapper de la colonne. On considérera ici que le sable n'a pas de propriétés absorbantes. Enfin, on remplit la colonne avec la phase stationnaire en réalisant une suspension de silice dans le premier éluant noté I'. Le gel ainsi formé est introduit dans la colonne à l'aide d'un entonnoir. On rince avec l'éluant et on le laisse s'écouler.

Une fois la colonne remplie, deux centimètres de sable sont encore ajoutés en tête de colonne au-dessus de la surface de silice, après s'être assuré que cette dernière était plane. Cette couche permet de réaliser des dépôts et d'ajouter de l'éluant sans perturber la surface de silice, ce qui empêcherait une migration uniforme.



Figure 15: Préparation de la colonne

- **Dépôt**

Il s'effectue robinet fermé, l'extrait du curcuma est déposé délicatement à l'aide d'une pipette sur la surface du sable de façon homogène. Ensuite, l'éluant est ajouté en petites quantités jusqu'à absorption complète de l'extrait par la phase stationnaire.

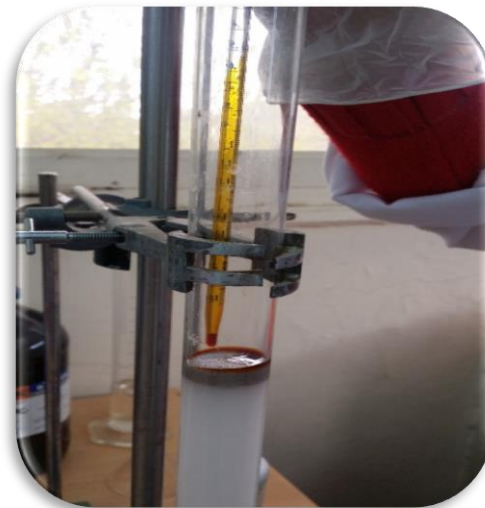


Figure 16: Dépôt de l'extrait brut du *Curcuma longa.L*

- **Elution**

On s'assure régulièrement de ne pas assécher la phase stationnaire, en vérifiant qu'il reste toujours de l'éluant au-dessus du niveau du sable.

L'éluant utilisé ici est un gradient Hexane/Acétate d'éthyle, le système permet l'élution de plusieurs fractions notées : F1, F2, F3 dans un premier temps puis le restant des fractions F4 et F5 moins polaires que les autres sont éluées avec l'acétate d'éthyle uniquement.

Le suivie de la séparation par CC se fait par chromatographie sur couche mince CCM.

➤ **Chromatographie liquide sur couche mince**

➤ **Principe**

Le principe de la chromatographie sur couche mince repose sur l'entraînement d'un échantillon dissous par une phase mobile à travers une phase stationnaire.

Cette technique a été réalisée sur des plaques de gel de silice fluorescent sur aluminium prêtes à l'emploi.

➤ **Mode opératoire**

- **Préparation de l'échantillon**

Les échantillons sont des fractions obtenues après séparation sur colonne des constituants de l'extrait brut sec des rhizomes de *Curcuma longa*.L.

- **Préparation de la plaque (phase stationnaire)**

Tracer délicatement sur nos plaques de gel de silice une ligne de dépôt à environs un 2,5 cm du bord inférieur de la plaque et une ligne de front à environ 1cm du bord supérieur.

- **Système solvant (phase mobile)**

Le système solvant utilisé est le même que celui choisi pour la chromatographie sur colonne c'est-à-dire un gradient Hexane /Acétate d'éthyle avec les proportions adéquates pour chaque fraction.

- **Développement du Chromatogramme**

Le protocole de cette manipulation est le suivant (**Rihane et Benlahreche., 2013**).

- Introduire le système solvant choisi dans la cuve à chromatographie,
- Fermer la cuve (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant);
- Tracer la ligne de dépôt à environ 2,5 cm du bord de la plaque ;
- A l'aide d'une micropipette, déposer environ 0,5 μ l de chaque fraction, le diamètre de la tâche environ 2mm. Effectuer plusieurs dépôts au même point, en séchant rapidement après chaque dépôt;
- Placer la plaque dans la cuve à chromatographie contenant le système solvant ;
- Recouvrir la cuve et suivre le développement du chromatogramme;
- Arrêter la chromatographie, lorsque le front du solvant se trouve à environ de 1 cm de l'extrémité supérieur ;
- Sécher le chromatogramme à l'air libre.



Figure 17: Migration des constituants du *Curcuma longa* .L.

➤ **Révélation physique**

Elle est réalisée à l'aide d'une lampe UV à 365 nm, afin de visualiser les spots potentiellement invisibles.



Figure 18: Lampe UV à 365 nm

➤ **Calcul du Rapport frontal (R_f)**

Pour chaque spot nous avons calculé le facteur de rétention, qui est égal à la distance parcouru par le constituant divisé par la distance parcourue par le solvant.

$$R_f = d/D \times 100$$

Où : **d**: Distance parcourue par le constituant

D: Distance parcourue par le front de l'éluant

Ce facteur est caractéristique d'une substance tenant compte du solvant utilisé.

La différence entre deux rapports frontaux successifs (ΔR_f) peut également nous renseigner sur la qualité de la résolution (**Still et al., 1978**).

I.2.5. Caractérisation structurale par RMN¹H

➤ Principe

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est fondée sur la mesure de l'absorption de la radiation de radiofréquence (RF) par un noyau atomique dans un champ magnétique fort

L'absorption de la radiation pousse le spin nucléaire à se réaligner ou à retourner dans la direction de la plus haute énergie. Après avoir absorbé l'énergie, les noyaux atomiques réémettront une radiation RF et retourneront à leur état initial de moindre niveau d'énergie.

➤ Expériences RMN ¹H et analyse

La spectroscopie RMN ¹H a été réalisée au libre service RMN du LCC Toulouse sur un spectromètre Bruker Avance 400 (**fig19**) pour la réalisation

D'expériences 1D (¹H), avec tête de mesure observation ¹H, découplage double accord BB (P₃₁-Rh₁₀₃)/P₃₁ avec gradient de champs Z, diam. 5 mm. Tête de mesure observation BB (P₃₁-Rh₁₀₃) découplage ¹H avec gradient de champs Z, diam. 5 mm. Tête de mesure observation BB (P₃₁-Rh₁₀₃) découplage ¹H/P₃₁, diam 10mm. Système de variations de température contrôlé par ordinateur.



Figure 19 : Bruker Avance 400.

Cette analyse a été conduite sur la curcumine isolée et purifiée par chromatographie sur colonne dans la fraction F4 et identifiée au préalable par CCM. Le solvant RMN utilisé pour cette expérience est le chloroforme deutéré CDCl_3 .

L'analyte en solution est placé dans un fin tube en verre adapté. Le tube est introduit au sein de l'appareil et l'analyse est lancée via l'ordinateur. 15 min plus tard le spectre apparaît à l'écran.

Chapitre II:

Résultats et Discussion

II.1.Résultats

II.1.1.Enquête ethnobotanique

Les données collectées ont permis de caractériser l'écologie de la plante et la biogéographie en Algérie et de les comparer à d'autres pays où la plante est cultivée.

▪ Croissance et développement

La culture, la germination des plants de curcuma est achevée en deux à quatre semaines ; après quoi intervient une période de croissance végétative active. La floraison et le développement des rhizomes débutent environ cinq mois après la plantation. Les rhizomes continuent de se développer activement pendant à peu près sept à dix mois, en fonction du cultivar et des conditions climatiques; puis les feuilles inférieures jaunissent et la récolte est prête à être arrachée. (Huang *et al.*, 1997).

▪ Ecologie

Le curcuma demande un climat humide et chaud. Il peut être cultivé dans la plupart des régions tropicales et subtropicales pourvu que les précipitations soient suffisantes (1000-2000 mm) ou que l'on puisse irriguer. Des précipitations de 1200 à 1400 mm bien réparties sur cent à cent-vingt jours sont idéales. Il pousse mieux à des altitudes comprises entre 450 et 900 m.

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

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

Affectionnant l'ombre, il vient bien à mi-ombre et peut être cultivé sous des arbres fruitiers. (Huang *al.*, 1997).

• Etages bioclimatiques de l'Algérie

L'Algérie est située au sud de la méditerranée, entre 18° et 38° de latitude Nord et 9° et 12° de longitude. Ce grand territoire se divise en quatre grandes zones bioclimatique :

- i) l'humide ; ii) le subhumide, iii) le semi-aride et iv) l'aride/Saharien.

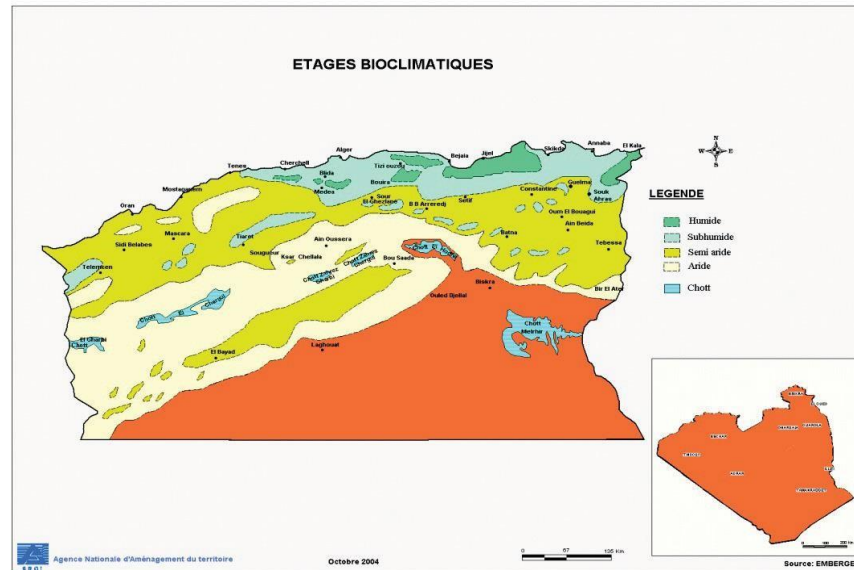


Figure 20 : Etages Biochimiques Algériens (4ème communication nationale de l'Algérie au titre de la CCNUCC)

Les étages bioclimatiques humide et subhumide (**figure 20**) de l'Algérie intéressants pour notre étude se distingues par :

Localisés essentiellement sur la côte et dans l'Atlas Tellien, Ils sont caractérisés par des hivers pluvieux et doux, et des étés chauds et secs. Les précipitations diminuent d'Est en Ouest (1000 - 400 mm) et du Nord au Sud. Les températures moyennes minimales et maximales oscillent respectivement entre 5° et 15°C en hiver et de 25° à 35°C en été. Les vents humides venant de la mer apportent des pluies, de l'automne au printemps. Ces pluies sont plus abondantes à l'Est qu'à l'Ouest. Cependant, l'influence du désert se fait sentir à travers l'action du «sirocco».(**Rapport final projet MATE-PNUD-FEM. 2015**)

Tableau 6: Comparaison des conditions climatiques et géo-écologique des pays producteurs de *Curcuma Longa* .L et celles relevées au Nord-est Algérien

Conditions	Paramètres	Ecologie de la plante	Région étudiée	Compatibilité
Climat	Température	Démarrage : 30°-35°	/	-
		Tallage : 25° - 30°	Jun-aout :25°-30°	+
		Initiation des rhizomes : 20° -25°	Aout-sep :20°-25°	+
		Développement : 18° -20°	Sep- oct : 18°-20°	+
	Précipitation	1000-2000 ml	> 900 ml	+
	Humidité	Elevée	Un domaine humide	+
	Luminosité	Endroits ombrés a mi-ombrés	Végétation foréstièrè étendue	+
Sol	Type	Fertile /argileux	Sols podzolique (silice,argile)	+
	pH	5 – 7.5	8-9	-
	Drainage	Bien drainé	Oueds	+
Localisation géographique	Longitude	Tropicale/subtropicale	Subtropicale	+
	Altitude	450 – 1200 m	3 -1040 m	+

- **Interviews :**

Les interviews ont révélés l’absence totale de toute culture de la plante en Algérie, par contre une autre épice (le Safran) a déjà été cultivée dans la région de Constantine à deux endroits différents (Benbadis et Ain Abid)(20 novembre 2012. El Watan).

II.1.2. Séchage

Les résultats du séchage des rhizomes de curcuma à l’ombre dans un endroit sec et aéré, pendant 9 jours. Sont résumés ci-dessous :

Tableau 7 : Progression du poids des rhizomes du curcuma en fonction du temps

Jour	Poids du rhizome (gr)
1	480 gr
2	425.89
3	371.99
4	319
5	264.86
6	210.69
7	157.07
8	104.84
9	101.23

Les résultats obtenus sont traduits graphiquement dans la figure suivante:

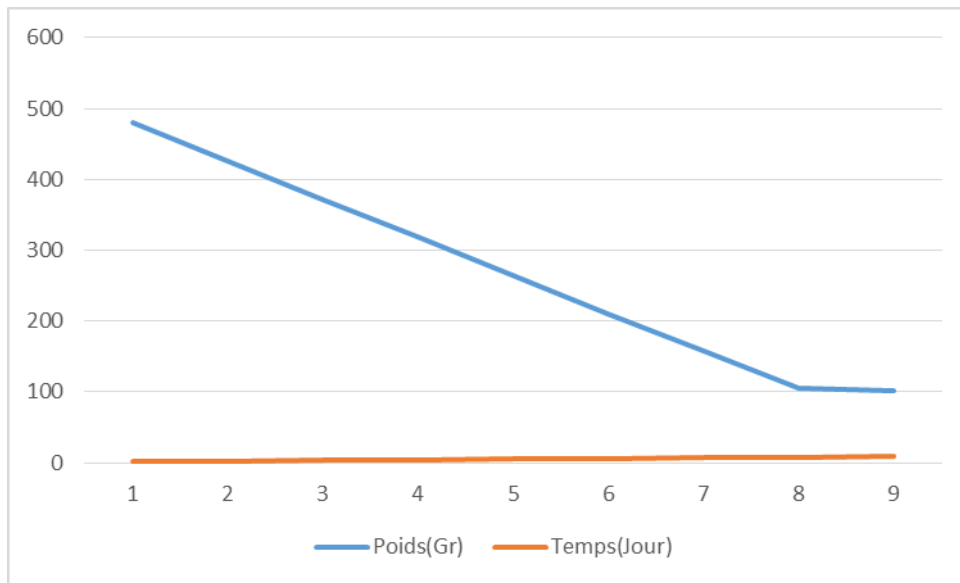


Figure 21: Diminution du poids des rhizomes en fonction du temps

Une diminution progressive du poids des rhizomes du Curcuma en fonction du temps (Jours) du premier jour jusqu’au neuvième jour est observée (**Tab 7 et Fig21**).

Le pourcentage d’humidité des rizhomes de *Curcuma longa*.L est de :

HR= 78.91 %.

II.1.3. Rendement de l’extraction

Le rendement **Rd** en extrait brut est déterminé par rapport à 51.909 g des rhizomes de *Curcuma longa*.L.

Le poids de l’extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide.

➤ **Pesées**

Tare = 107.118 gr

Prise d'essai = 51.909 gr

Poids final = 110.457 gr

- Le poids de l'extrait brut sec = 3.339 gr

Calcul du Rd :

$$\text{Rd} = [3.339 \times 100] / 51.909$$

Rd = 6.432 %

II.1.4. Séparation et identification

➤ **Chromatographie sur Colonne**

L'extrait méthanolique a été soumis à une Chromatographie sur colonne dans une colonne de verre en gel de silice (60-120 mesh). La séparation par chromatographie sur colonne des composants de l'extrait brut de *Curcuma Longa. L* avec un gradient Héxane/Acétate d'éthyle a permis l'obtention de neuf fractions décrites dans le tableau suivant :

Tableau 8: Couleur des fractions obtenues

Numéro de fraction	Couleur
1	Jaune pale
2	Jaune pale
3	Jaune
4	Jaune

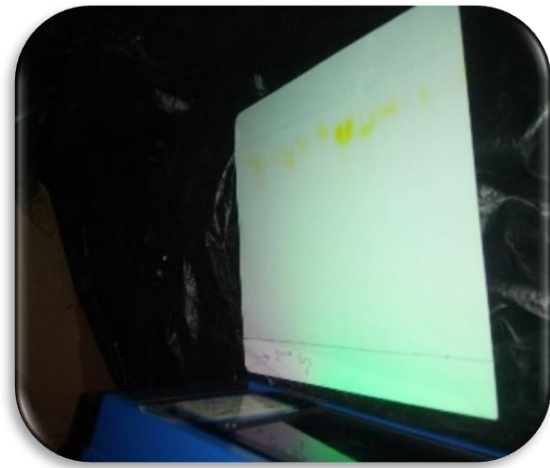
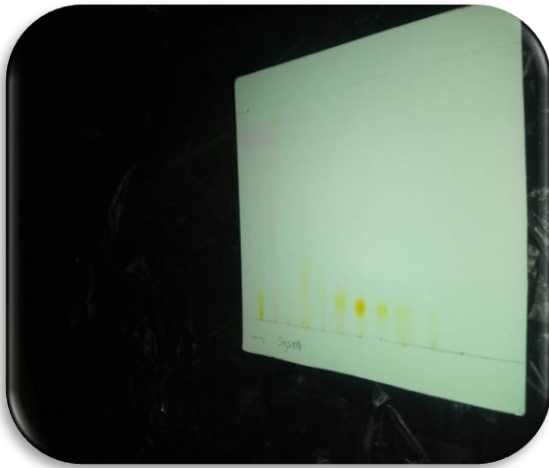
5	Jaune orangé
6	Orangé
7	Marron claire
8	Marron
9	Marron



Figure 22: Déroulement de la chromatographie sur colonne.



Figure 23: Les différentes fractions récupérées.



Système 1(Hexane/Acétate d'éthyle)

Système 2(Acétate d'éthyle)

Figure 24: Résultats de l'analyse chromatographique de *Curcuma longa*.L avec les deux systèmes avant révélation

➤ **Chromatographie liquide sur couche mince**

Une chromatographie analytique sur couche mince a été réalisée en utilisant deux systèmes solvant l'un moyennement polaire et un autre polaire, puis sous lumière UV à 365 nm, les différents spots d'extraits sur les chromatogrammes ont été délimités afin de calculer leurs R_f et ΔR_f .

L'analyse a été effectuée sur une même plaque CCM afin de pouvoir comparer le contenu des différentes fractions éluées entre elles mais aussi avec l'extrait brut.

Révélation physique

La révélation physique à l'aide d'une lampe UV permet de mieux visualiser les différentes taches.

Le premier système montre une meilleure séparation, c'est pourquoi la révélation physique lui a été effectuée.



Figure 25 : Chromatographie de *Curcuma longa*.L avec le système 1 après révélation UV.

Les R_f et ΔR_f calculés après observation sous UV, sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau 9: Calculs des R_f et des ΔR_f correspondants

Numéro de la fraction	Nombre de spots	R_f	ΔR_f
1	5	0.87	/
		0.77	0.82
		0.53	0.65
		0.45	0.49
		0.37	0.82
2	2	0.61	0.50
		0.40	
3	2	0.89	/
		0.53	0.71
		0.39	0.46
3'	1	0.29	/
3''	2	0.11	0.20
		0.06	0.08
4	1	0.11	0.11
5	1	0.12	0.12
6	2	0.12	0.09
		0.06	
7	1	0.12	0.12
8	1	0.11	0.11
Extrait brut	5	0.88	/
		0.77	
		0.65	
		0.39	
		0.23	

D'après cette première CCM comparative, le nombre de spots obtenus par fractions, l'intensité de leurs couleurs qui est proportionnelle à leur concentration ainsi que le calcul des R_F et des ΔR_F , quelques fractions d'intérêt ont été encore soumises individuellement à la CCM avec un système adéquat, ce qui a révélé par exemple un R_F de **0.78** caractéristique de la curcumine pour la F4.

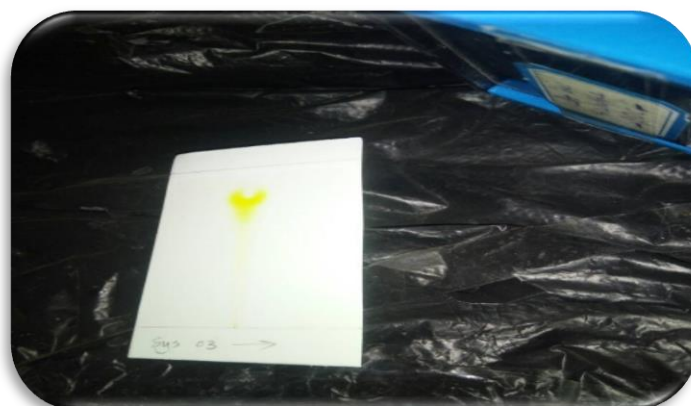


Figure 26 : Chromatographie de la quatrième fraction utilisant le 2ème Système

D'après le tableau, d'autres fractions d'intérêt ayant des $\Delta R_F \geq 0,15$ peuvent également être soumises à des sous colonnes afin d'en isoler des produits purs.

II.1.5. Caractérisation structurale par RMN 1H

Selon les résultats obtenus par CCM, les fractions F4 et F5, F3 ont été sélectionnées pour être structuralelement caractérisées par spectroscopie RMN du 1H , les spectres obtenus sont représentés sur les figures suivantes et les résultats de leurs dépouillements répertoriés sur les tableaux (8,9 et 10)

Dépouillement du spectre RMN du ^1H de la F₄

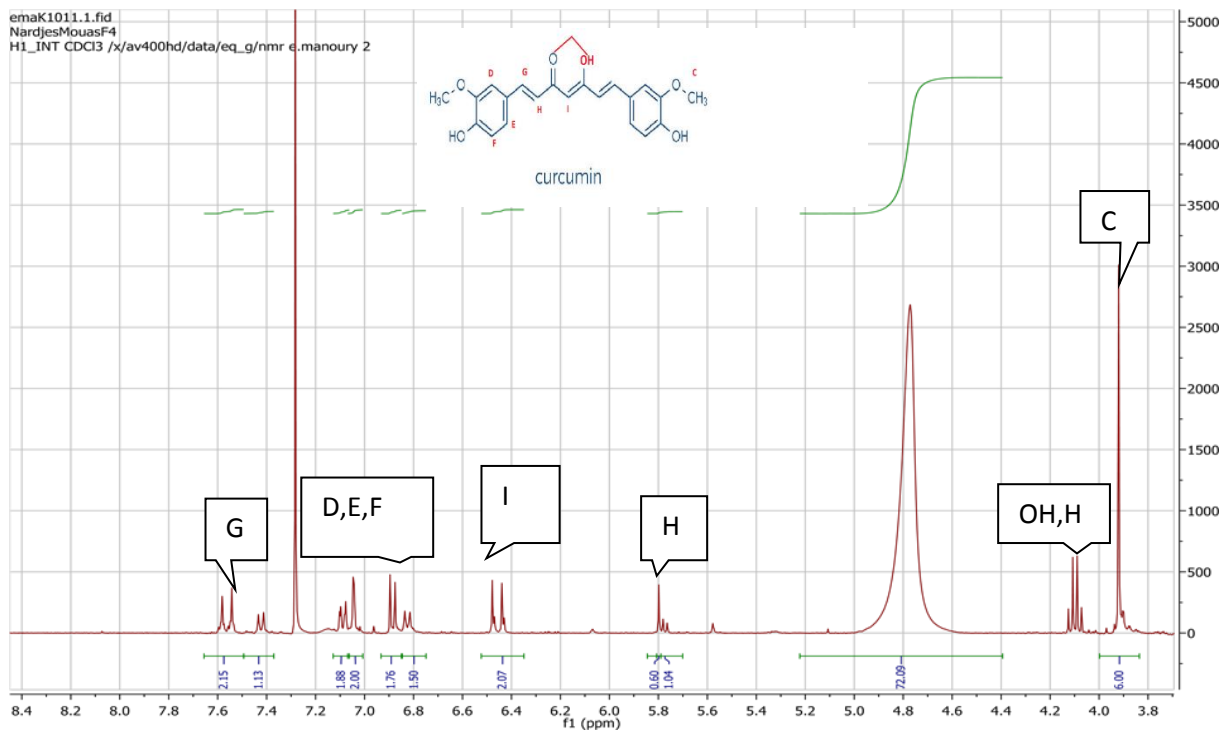


Figure 27: Spectre RMN du ^1H de la F₄ (400Mhz – CDCl_3)

Tableau 10 : Lecture du spectre RMN du ^1H de la F₄

Attribution	Déplacement chimique δ ppm CDCl ₃	Réf Déplacement chimique δ ppm CDCl ₃
C	3.90	3.9 (Nagahama et al.,2015).
		3.8(SarikaRachel et JamesNirmala., 2016).
H	5.79-5.8	5.7-5.8 (Nagahama et al.,2015).
		6.1 (SarikaRachel et JamesNirmala., 2016).
I Forme céto-énol	6.4-6.5	6.5 (Nagahama et al.,2015).
		6.8 (SarikaRachel et JamesNirmala., 2016).
D,E,F	6.8-7.3	6.8-7.3(Nagahama et al. 2015)
		6.8-7.2 (SarikaRachel et JamesNirmala., 2016).
G	7.55	7.6 (Nagahama et al. ,2015).
		7.7 (SarikaRachel et JamesNirmala., 2016).
OH, H	4.1	4.2 (Florestina et al., 2007).

Dépouillement du spectre du ^1H de la F₅

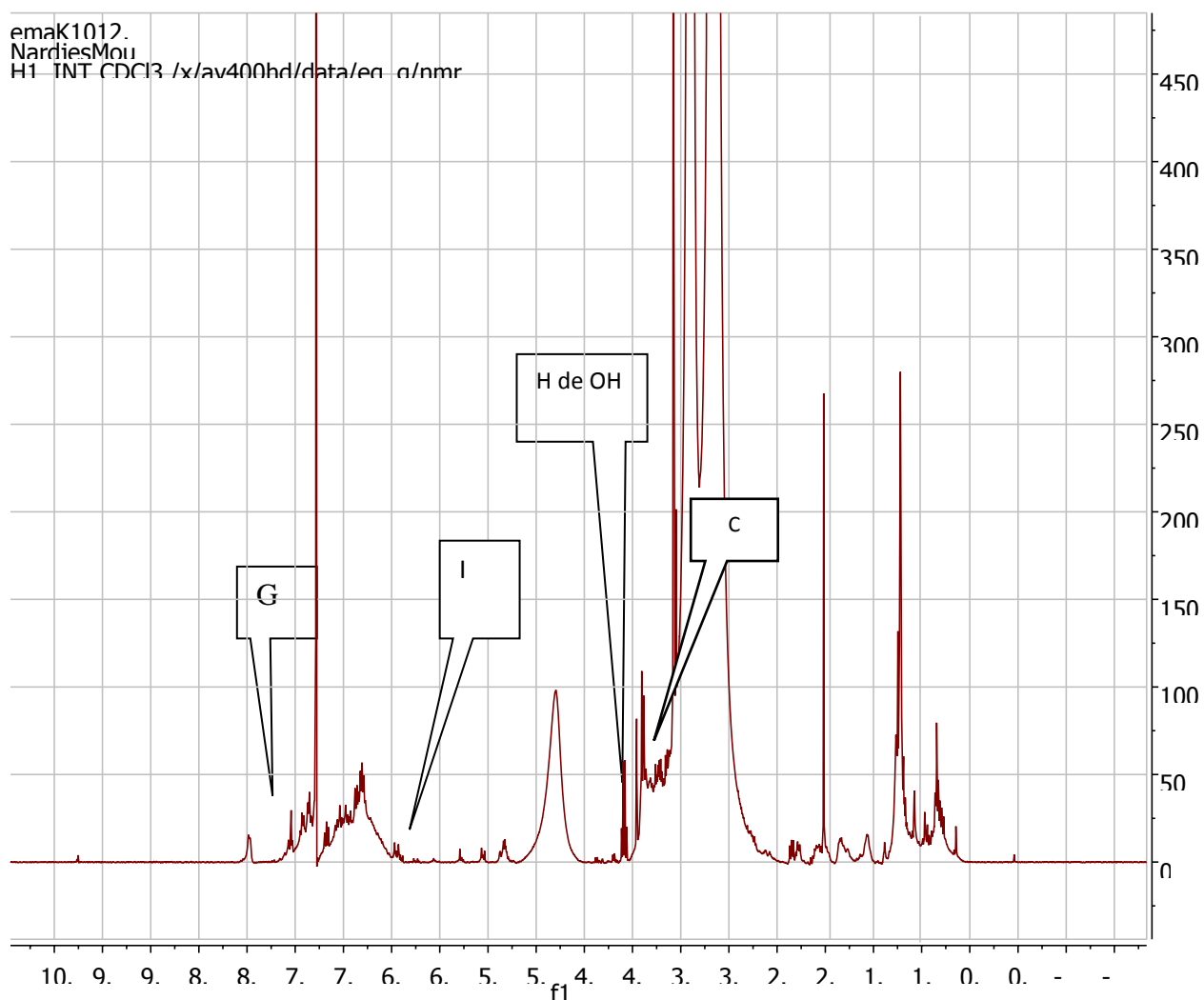


Figure 28 : Spectre RMN du ^1H de la F₅ (400Mhz – CDCl_3).

Tableau 11: Lecture du spectre RMN du ^1H de la F_5 .

Attribution	Déplacement chimique δ ppm	Référence	
C	3.7	3.8	(Ahmet C. et al , 2008)
I Forme céto-énol	6.5	6.4-6.5	6.5 (Nagahama et al ,2015) 6.8(Sarika Rachel James Nirmala., 2016)
G	7.6	7.6 7.7	7.6 (Nagahama et al .,2015) 7.7(Sarika Rachel James Nirmala. , 2016)
H,OH	4.1	4.2	4.2 (Florestina et al., 2007)

• Dépouillement du spectre RMN du ^1H de la F_3

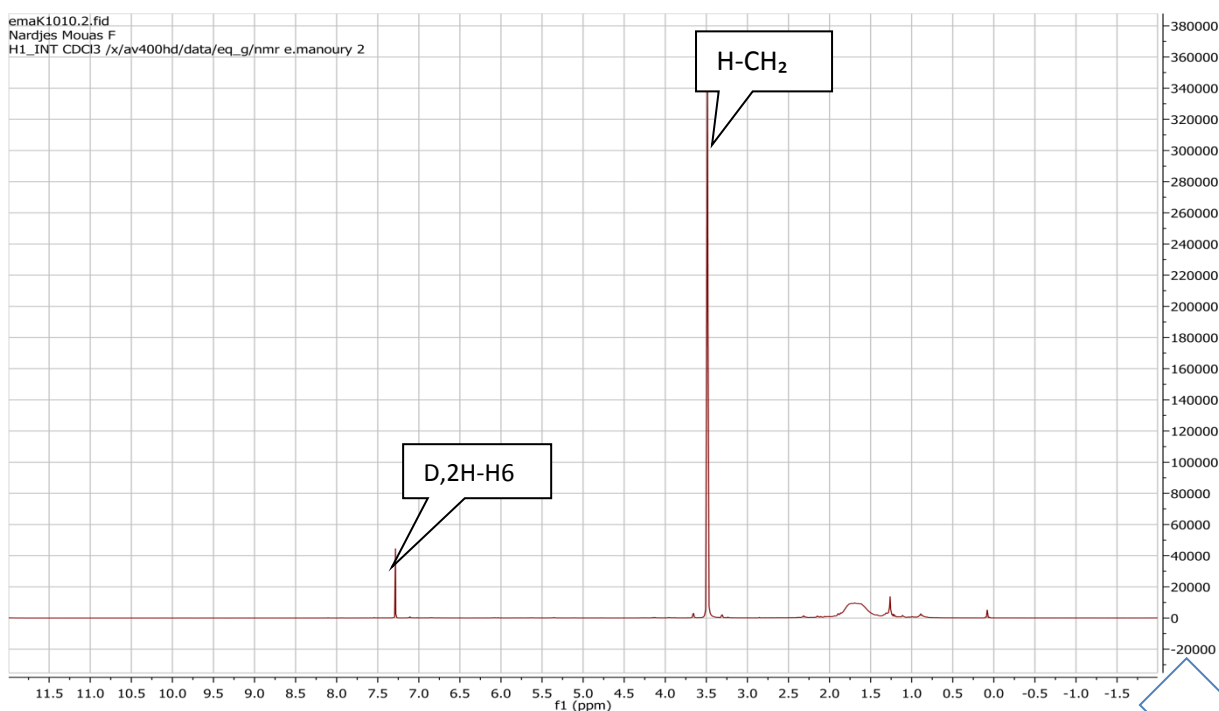


Figure 29 : Spectre RMN du ^1H de la F_3 (400Mhz – CDCl_3).Tableau 12: Lecture du spectre RMN du ^1H de la F_3

Attribution	Déplacement chimique δ ppm	R_f	
D .2H-H6	7.30	7.29	(Ahmet.C et al ,2008)
H-CH ₂	3.50	3.50	(Nagahama et al ,2015)

II-2-Discussion

II.2.1. Enquête ethnobotanique

L'enquête ethnobotanique menée auprès d'herboristes et agriculteurs de la région de Constantine, Algérie, a révélé une absence totale d'essaies de culture du curcuma en Algérie. Il ressort du tableau comparatif N°6 entre les conditions géo-écologiques dans les pays producteurs de *Curcuma.longa* .L et celles relevées en Algérie précisément en bordure méditerranéenne est que ces dernières sont très favorables aux développement de cette culture dans notre pays, en apportant toutefois quelques améliorations avec un supplément d'irrigation, culture sous serre pour le démarrage, ajuster le ph du sol avec des adjuvants et ceci bien entendu avec l'accompagnement de techniciens agronomes.

La culture du *Curcuma.longa* .L dans le Nord-Est Algérien est donc possible, un intérêt socioéconomique non négligeable doit être pris en considération, surtout qu'il existe une volonté et des initiatives individuelles pour le développement de ce créneau très prometteur et porteur l'exemple en est les essais pour la culture du safran.

II.2.2. Séchage

Le séchage des plantes médicinales est normalement effectué juste après la récolte, il permet de réduire la teneur en eau afin de limiter les dégâts dus aux enzymes et autres agents biologiques tels que les moisissures et les microbes.

Le séchage doit être rapide et dans un endroit bien aéré et à l’abri de la lumière (**Berton., 2001**).

Il existe également d’autres procédés de séchage : les procédés mécaniques (presse, décantation ou centrifugation), les procédés physico-chimiques (adsorption, absorption, réfrigération et séchage par évaporation) (**Boulemtafes., 2011**).

La diminution progressive du poids des rhizomes du curcuma est due à une perte d’eau par évaporation.

II.2.3.Rendement de l’extraction

La méthode Soxhlet est la méthode de référence utilisée pour l'extraction. C'est une méthode gravimétrique, puisqu'on pèse l'échantillon au début et l’extrait à la fin de l'extraction (**Chandre., 1998**).

Le rendement d’extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraite par l’action extractive d’un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il dépend de plusieurs paramètres tels que:le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (**Quy Diem Do et al., 2014**).

D’après **Quy Diem Do et al.,(2014)**, l’utilisation combinée de l'eau et du solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et / ou dans le solvant organique

Ce pendant l’extraction au Soxhlet avec du méthanol adonné un bon rendement de 6.32 %supérieur à celui obtenu par la même méthode mais en utilisant d’autres solvants comme le montre le tableau suivant :

Tableau 13: Comparaison entre les rendements du *Curcuma longa* .L extraite par différents solvants

Solvant	Rd %	Référence
Acétone	4.6%	(Kulkarni et al., 2012)
Chloroforme	4.3%	
Méthanole	5.6%	
Acétate	4.5%	

d'éthyl		Curcuma étudié
Méthanol	6.3 %	

La comparaison se traduit graphiquement comme suite :

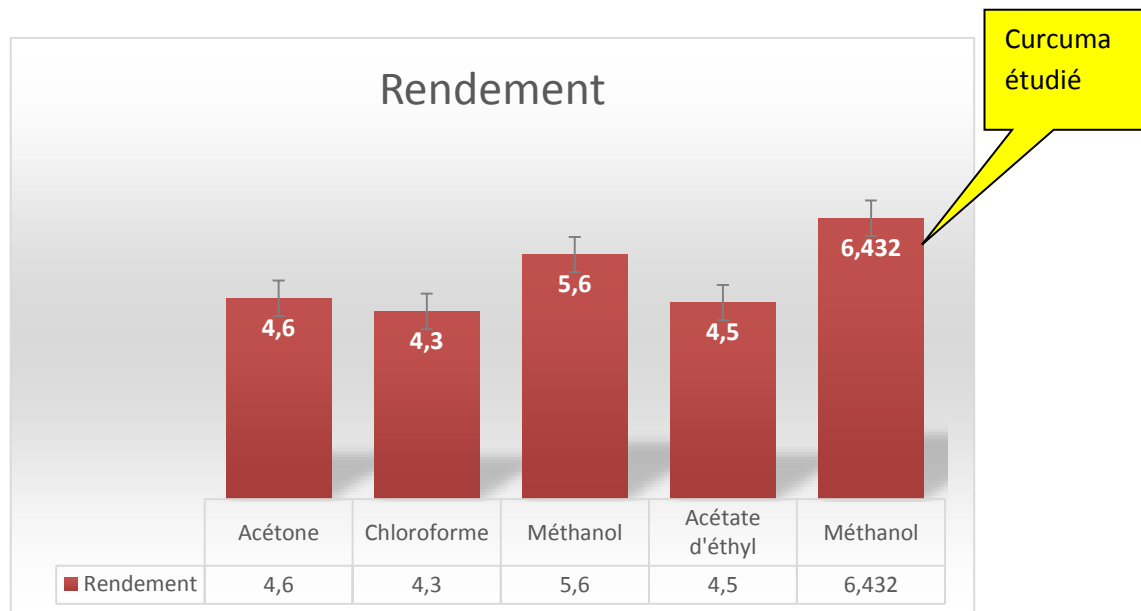


Figure 30 : Comparaison entre les rendements du *Curcuma longa* .L

II.2.4.Séparation et isolement de la curcumine

II.2.4.1.Chromatographie sur colonne de gel de silice

Différents solvants de polarité variable ont été utilisés pour l'extraction des curcuminoïdes à partir des rhizomes de curcuma. Les différents solvants utilisés étaient le chloroforme, l'acétate d'éthyle, le méthanol, l'acétone. L'extrait a également été soumis à la CCM et a obtenu des valeurs R_f de 0,67, 0,6, 0,506 pour C, DMC, BDMC respectivement. D'après cela, la curcumine s'est révélée être le composé majeur suivi par le DMC et le BDMC. D'où le méthanol utilisé comme solvant d'extraction pour l'extraction de la curcumine **(Kulkarniet *et al.*, 2012).**

Différentes compositions de phase mobile ont été testées en CCM pour 1 de curcuminoïdes individuels et leurs valeurs de R_f ont été déterminées montrées dans le tableau 2. La résolution de séparation désirée a été obtenue en utilisant du chloroforme: méthanol 95: 5 comme phase mobile. La valeur R_f des curcuminoïdes était respectivement de 0,75, 0,65 et 0,23 pour C, DMC et BDMC **(Pushpakumari *et al.*, 2014).**

Dans le présent travail les curcuminoïdes ont été élués avec un gradient de polarité croissante (hexane /acétate d'éthyle). Toutes les fractions recueillies ont été suivies par CCM sur gel de silice, les métabolites secondaires se présentent sous forme de taches jaunes. Une deuxième CCM était nécessaire pour confirmer la fraction contenant la curcumine

- Le calcul des R_f et ΔR_f a révélé la séparation de produits purs en F3', F4 , F5
- Les fractions F1,F2,F3, F3" et la F8 peuvent être encore purifié par des sous colonnes.
- Les résultats permettent d'attribuer les 3 spots dont les R_f sont:0.77, 0.65, 0.23 de l'extrait méthanolique brut, à la Curcumin, la De-methoxycurcumin, et la bis-demethoxycurcumin respectivement. **(Rohman., 2012).**
- L'utilisation de l'acétate d'éthyle a révélé une meilleure résolution de la valeur de R_f , ce qui a montré que l'acétate d'éthyle pouvait être un solvant approprié pour la séparation des curcuminoïdes par Chromatographie CC et CCM .

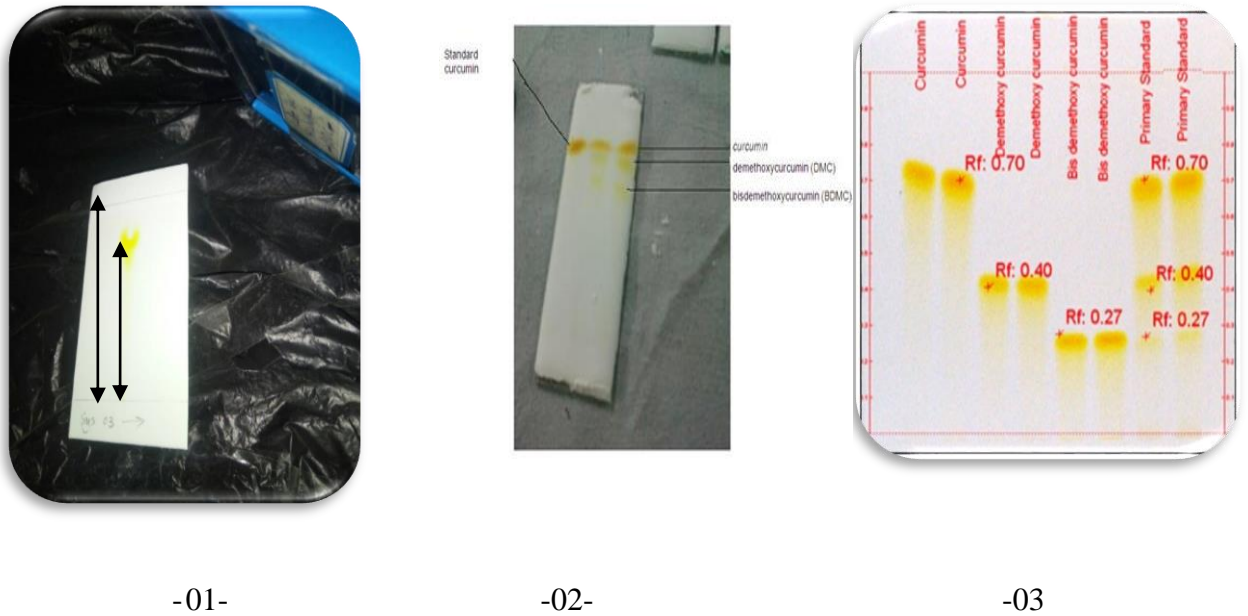


Figure 31 : Comparaison entre les CCM de la curcumine purifiée étudiée
Et celle reportée par **Kulkarni et al., (2012)** ; **Revathy et al.,(2011)**

Tableau 14 : Comparaison entre R_f de la F₄ avec la littérature

Phase mobile de la CCM	Ration	Valeurs des R _f		
		C	DMC	BDMC
Benzène:acétate d'éthyle	18 : 2	0.79	0.69	0.61
Dichloromethane:methanole	19 : 1	0.8	0.7	0.6
Chloroforme:méthanole	19 : 1	0.75	0.55	0.27
Hexane/Acétate d'éthyle (curcumine étudiée)	0 :1	0.78	0,65	0,23

II.2.5. Caractérisation structurale par RMN ^1H

Plusieurs articles ont été pris comme référence pour le dépouillement et discussion des spectres RMN ^1H des fractions préalablement sélectionnées, et leurs spectres respectifs sont reportés en annexes.

En considérant les mécanismes potentiels pour son éventail d'activités biologiques, il est important de reconnaître les caractéristiques chimiques inhérentes de la molécule de curcumine. Bien que le nom systématique pour la curcumine, 1,7-bis (4-hydroxy-3-méthoxyphényl) -1,6-hépatadiène-3,5-dione, implique que la curcumine est un tautomère à dicétone, en fait, il existe trois structures possibles de la curcumine (**Fig 32**) : tautomère de dicétone, **1a**, et deux tautomères asymétriques de céto-énol, **1b** (**Florastina et al., 2007**).

- **Dépouillement et discussion du spectre RMN ^1H , CDCl_3 de la F_4 :**

Les protons des différentes régions : **C,H,D,E,F,G** résonnent de la même manière avec des déplacements chimiques quasi identiques avec ceux relevés dans la littérature (**Nagahama et al., 2015**), ceci confirme la structure de la curcumine isolée en F_4 avec la présence de tous les groupements caractéristiques de cette dernière. Cependant, une petite différence et pas des moindres est relevée dans la région **I** avec la présence sur le spectre de F_4 de deux doublets donc présence de H non équivalents dans l'intervalle **6.4-6.5 ppm** et présence de proton de l'hydroxyle énol à **4,1 ppm** à la différence des deux références qui donnent un singulet indiquant deux protons identiques de la forme dicétone, ceci démontre une différence de conformation de la curcumine étudiée et privilégie les deux formes totomériques céto-énolique en équilibre (**Fig 32**) encore très peu rapportée par les auteurs (**Florastina et al., 2007**) et qui est la forme la plus réactive de la curcumine et qui lui confère un fort potentiel biologique (**Florastina et al., 2007**).

Des études sur la curcumine et les curcuminoïdes rapportent qu'en solution, la curcumine existe principalement sous forme de **1b**, au moins dans des solvants tels que CDCl_3 et DMSO-d_6 . (**Roughley et al., 1973 ; Bong., 2000**), par exemple, dans une étude détaillée, **Roughley et Whiting (1973)** ont conclu du spectre ^1H RMN de la curcumine dans CDCl_3 que ce composé existait entièrement dans la forme **1b** et ont détecté un signal attribué à l'hydrogène énol dans la RMN ^1H de la curcumine dans l'acétone (**Florastina et al., 2007**), ce qui a été confirmé par notre spectre ^1H RMN de la F_4 . Les analyses de la structure cristalline aux rayons X ont établi que la curcumine et son dérivé bisacétoxy existent sous forme de tautomères de céto-énol, **1b**, à l'état solide. (**Mague et al., 2004**) une analyse avec les rayons X

est donc fortement nécessaire pour confirmer la structure de notre curcumine isolée. On peut facilement voir que les possibilités de liaisons hydrogène pour les tautomères β -dicétone, **1a**, et cétoénoles, **1b**, de la curcumine diffèrent de manière significative. Parce que cette propriété de la curcumine peut être d'une importance critique pour déterminer la sélectivité de sa liaison aux protéines, y compris les espèces protéiques amyloïdes dans les modèles de la maladie d'Alzheimer (Florastina et al., 2007) par conséquent il serait intéressant de cibler directement la curcumine pour les activités biologiques déjà initiées par Seggani.S et Boukehil.H (2017) pour l'extrait brut et de comparer les effets des deux extraits et ceci afin de vérifier s'il y a un phénomène de synergie entre les différents composés du curcuma surtout les curcuminoides.

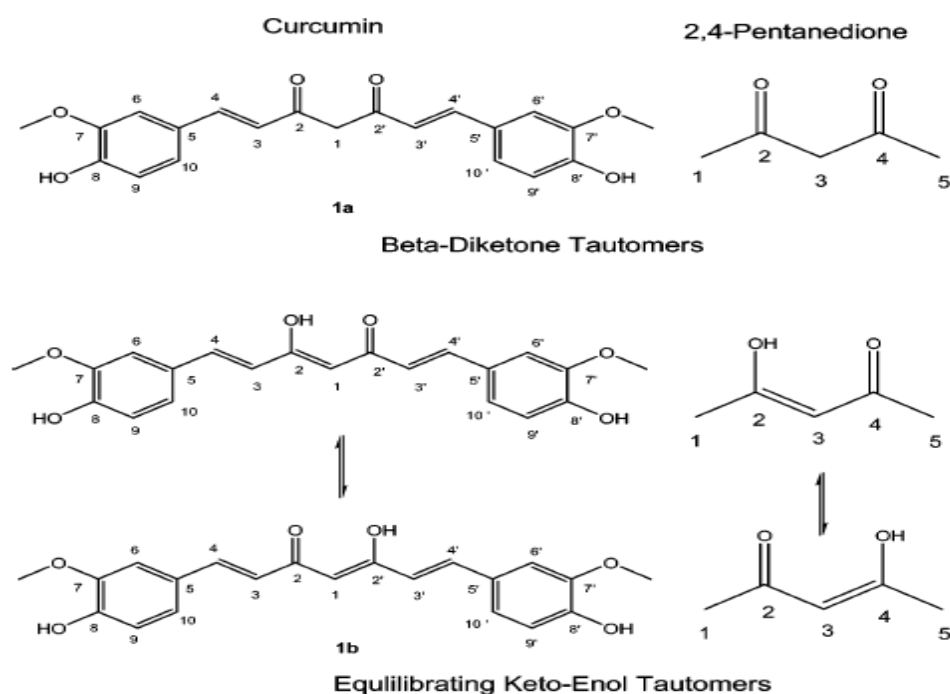


Figure 32 : Structure potentielle de la curcumine F4

- Spectre RMN ^1H de la F₅ :

Le spectre montre la présence de plusieurs fonctions (O-CH₃, OH, ...), ces fonctions étant caractéristiques des curcuminoides ce qui confirme leur présence dans la 5^{ème} fraction.

- Spectre RMN ^1H de la F₃ :

L'absence de la fonction hydroxyle indique l'absence de curcuminoides dans cette fraction.

Conclusion

Conclusion

Le curcuma est une plante médicinale qui permet d'aborder les traitements de façon plus globale et moins agressive en éliminant la plus part des effets secondaires, en présentant pas ou très peu : un risque de surdosage, de toxicité, de contre-indications, ou d'associations dangereuses

Malgré ces larges bienfaits, le curcuma présente une biodisponibilité médiocre ce qui explique qu'elle ne soit pas utilisée en clinique de nos jours, mais ce qui encourage en fait la recherche de solutions plus innovantes pour la rendre plus efficace.

La conception d'analogues structuraux de la curcumine, peut être une manière efficace d'optimiser ses effets thérapeutiques en améliorant sa biodisponibilité.

La partie bibliographique décrit l'histoire du curcuma et de la curcumine, l'exploration de sa réactivité et ses méthodes d'analyses sont également présentés.

Une étude ethnobotanique a révélé l'absence de la culture de cette plante en Algérie, en dépit d'un climat et une géo-écologie qui peuvent s'y prêter avec l'accompagnement de techniciens dans le domaine, ce qui constitue un projet socioéconomique ambitieux et rapporteur.

L'étude chimique menée sur l'extrait méthanolique des rhizomes de *Curcuma longa*.L a permis de conclure que l'extraction par Soxhlet reste une méthode simple et efficace et donne un rendement de 6.432% cette valeur est satisfaisante en terme de quantité par rapport à d'autres rendements obtenus chez la même espèce.

L'isolement de la curcumine par une chromatographie sur colonne (gel de silice) en utilisant un gradient hexane /acétate d'éthyle comme système éluant a montré une bonne séparation des différents constituants de l'extrait brut du curcuma ceci est confirmé par des CCM en utilisant différents solvants, dont l'acétate d'éthyle révèle une excellent résolution

pour la curcumine donnant un R_f caractéristique de 0.78 compatible avec plusieurs autres études.

La curcumine isolée et identifiée est ensuite structurellement caractérisée par RMN ^1H , les résultats obtenus rejoignent ceux relevés dans la littérature, et la structure déterminée laisse suggérer une conformation tautomérique céto-énolique qui reste à confirmer par diffraction des rayons X.

Ces résultats *in vitro* ne constituent qu'une première étape de la recherche d'analogues structuraux, d'autres essais comme la synthèse chimique et leurs applications biologiques sont nécessaires afin de confirmer leurs performances.

Références

« A »

- **AGGARWAL, A. K. (2007).** Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines. *Progress in energy and combustion science*, 33(3), 233-271.
- **AGGARWAL, B. B., & SHISHODIA, S. (2006).** Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochemical pharmacology*, 71(10), 1397-1421.
- **AMALRAJ, A., PIUS, A., GOPI, S., & GOPI, S. (2017).** Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives—A review. *Journal of traditional and complementary medicine*, 7(2), 205-233..
- **AMMON, H. P., & WAHL, M. A. (1991).** Pharmacology of *Curcuma longa*. *Planta medica*, 57(01), 1-7.
- **ANAND, P., SUNDARAM, C., JHURANI, S., LKUNNUMAKKARA, A. B., & AGGARWAL, B. B. (2008).** Curcumin and cancer: an “old-age” disease with an “age-old” solution. *Cancer letters*, 267(1), 133-164.
- **ANGEL, G. R., VIMALA, B., & NAMBISAN, B. (2013).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of proteins isolated from eight *Curcuma* species. *Phytopharmacology*, 4(1), 96-105.
- **APISARIYAKUL, A., VANITTANAKOM, N., & BUDDHASUKH, D. (1995).** Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). *Journal of ethnopharmacology*, 49(3), 163-169.
- **ARUOMA, O. I., & CUPPETT, S. L. (EDS.). (1997).** *Antioxidant methodology: in vivo and in vitro concepts*. The American Oil Chemists Society.

« B »

- **BATTISTINI, R., JOUANNIC, C., MAUGE, L. A., CASELLATO, G., & VERNIER, E. (1975).** Morphologie et sédimentologie du canyon sous-marin de l'Onilahy (Sud-Ouest de Madagascar).
- **BEN-CHEIKH, N., CHAMKHA, A. J., BEN-BEYA, B., & LILI, T. (2013).** Natural convection of water-based nanofluids in a square enclosure with non-uniform heating of the bottom wall. *Journal of Modern Physics*, 4(02), 147.

- **BIRLOUEZ, E. (2012).** La quête des épices, moteur de l’histoire. *Phytothérapie*, 10(2), 74-79.
- **BONG, P.-H. BULL. KOREANCHEM. SOC. 2000,** 21, 81-86
- **BOULEMTAFES-BOUKADOUM, A., & BENZAOU, A. (2011).**Energy and exergy analysis of solar drying process of Mint. *Energy Procedia*, 6, 583-591.
- **BRANGER, A. (2007).** *Alimentation et processus technologiques*. Educagri Editions.
Alimentation et processus technologiques. Educagri Editions.
- **BURGOT G et BURGOT J-L (2002).**Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications. Méthodes chromatographiques, électrophorèses et méthodes spectrales Éditions TEC & DOC p 26, 27.

« C »

- **CHABANE, N. (2012).** *Rôle de l'acétylation/déacétylation des histones dans la régulation de l'expression des gènes de la COX-2, iNOS et mPGES-1 dans les tissus articulaires* (Doctoral dissertation, Université de Montreal (Canada)).
- **CIKRIKCI, S., MOZIOGLU, E., & YILMAZ, H. (2008).** Biological activity of curcuminoids isolated from *Curcuma longa*. *Records of Natural Products*, 2(1), 19.
- **COSKUN, O. (2016).** Separation techniques: Chromatography. *Northern clinics of Istanbul*, 3(2), 156.
- **CRUSTACES, L. (2016).** Evaluation de la valeur nutritionnelle et effets de facteurs environnementaux chez (doctoral dissertation, université Badji Mokhtar Annaba).

« D »

- **DO, Q. D., ANGKAWIJAYA, A. E., TRAN-NGUYEN, P. L., HUYNH, L. H., SOETAREDJO, F. E., ISMADJI, S., & JU, Y. H. (2014).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3), 296-302.

« F »

- **FELIPPEJUNIOR, J. (2007).** Curcumina e Câncer: antiproliferativo, antiapoptótico, antiangiogênico e antimetastático.
- **FUNK, J. L., OYARZO, J. N., FRYE, J. B., CHEN, G., LANTZ, R. C., JOLAD, S. D., ... & TIMMERMANN, B. N. (2006).** Turmeric extracts containing curcuminoids prevent experimental rheumatoid arthritis. *Journal of natural products*, 69(3), 351-355.

« G »

- **GAUGLITZ, G., & VO-DINH, T. (EDS.). (2006).** *Handbook of spectroscopy*. John Wiley & Sons.
- **GOREN, A. C., ÇIKRIKÇI, S., ÇERGEL, M., & BILSEL, G. (2009).** Rapid quantitation of curcumin in turmeric via NMR and LC–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 113(4), 1239-1242.

« H »

- **HABBACHI, W., BENHISSEN, S., OUAKID, M. L., & FARINE, J. P. (2013).** Effets biologiques d'extraits aqueux de *Peganum harmala* (L.) (Zygophyllaceae) sur la mortalité et le développement larvaire de *Drosophila melanogaster* (Diptera-Drosophilidae). *Algerian journal of arid environment*, 3(1), 82-88.
- **HALLIWELL, B., & GUTTERIDGE, J. M. (1985).** Oxygen radicals and the nervous system. *Trends in Neurosciences*, 8, 22-26.
- **HAY, Y. O. M. (2015).** *La complexité des simples- Caractérisations chimique et biologique de combinaisons hydrolats-huiles essentielles et huiles essentielles-huiles essentielles pour l'objectivation d'effets conservateurs de produits phytothérapeutiques* (Doctoral dissertation).
- **HOLTTUM, R. E. (1950).** The zingiberaceae of the Malay Peninsula. *Gard. Bull., Singapore*, 13(1), 1-249.
- **HOMBOURGER., CHRISTELLE.** Le Curcuma, De l'épice au médicament. Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. UNIVERSITÉ Henri Poincaré, NANCY 1 FACULTÉ DE PHARMACIE Année universitaire 2009-2010, p 157

- HUANG, M. T., Ma, W., YEN, P., XIE, J. G., HAN, J., FRENKEL, K., ... & CONNEY, A. H. (1997). Inhibitory effects of topical application of low doses of curcumin on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion and oxidized DNA bases in mouse epidermis. *Carcinogenesis*, 18(1), 83-88.
- HUANG, M. T., NEWMARK, H. L., & FRENKEL, K. (1997). Inhibitory effects of curcumin on tumorigenesis in mice. *Journal of Cellular Biochemistry*, 67(S27), 26-34.

« I »

- ITOKAWA, H., SHI, Q., AKIYAMA, T., MORRIS-NATSCHKE, S. L., & Lee, K. H. (2008). Recent advances in the investigation of curcuminoids. *Chin Med*, 3(11), 1-13.

« J »

- JAN, H. U., RABBANI, M. A., & SHINWARI, Z. K. (2011). Assessment of genetic diversity of indigenous turmeric (*Curcuma longa* L.) germplasm from Pakistan using RAPD markers. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(5), 823-830.

« K »

- KULKARNI, S. J., MASKE, K. N., BUDRE, M. P., & MAHAJAN, R. P. (2012). Extraction and purification of curcuminoids from Turmeric (*Curcuma longa* L.). *International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Technology*, 1(2), 81-84.

« L »

- LAMIA SAHI.(2015).Plantes aromatiques et médicinales en Algérie : Un marché potentiel non structuré.Le Maghreb quotidien de l'économie.
- LOAP, S. (2008). Curcuma (partie II). *Phytothérapie*, 6(2), 136-143.

« M »

- MEUNIER, J. M. (2015, December). L'apprentissage des techniques de chromatographie à l'aide de réseau sémantique. In *Journée d'études–Compréhension, raisonnement et acquisition de connaissances*.Loap, S. (2008). Curcuma (partie I). *Phytothérapie*, 6(1), 22-28.

- **MOUAS.T. N. (2013).** Synthèse, caractérisation, structurale et propriétés catalytiques de nouveaux composés ferrocéniques.

« N »

- **NACERA, B., KHADIDJA, M., MERIEM, R., & AMINA, B.** Curcuma: quelle stratégie adoptée en prévention du cancer?.
- **NEFFATI, M., & SGHAIER, M. (2014).** Développement et valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au niveau des zones désertiques de la région MENA (Algérie, Egypte, Jordanie, Maroc et Tunisie).

« O »

- **OHSHIRO, M., KUROYANAGI, M., & UENO, A. (1990).** Structures of sesquiterpenes from *Curcuma longa*. *Phytochemistry*, 29(7), 2201-2205.

« P »

- **PAYTON, F., SANDUSKY, P., & ALWORTH, W. L. (2007).** NMR study of the solution structure of curcumin. *Journal of natural products*, 70(2), 143-146.
- **POLASA, K., SESIKARAN, B., KRISHNA, T. P., & KRISHNASWAMY, K. (1991).** Turmeric (*Curcuma longa*)-induced reduction in urinary mutagens. *Food and Chemical Toxicology*, 29(10), 699-706.
- **PRASAD, S., GUPTA, S. C., TYAGI, A. K., & AGGARWAL, B. B. (2014).** Curcumin, a component of golden spice: from bedside to bench and back. *Biotechnology advances*, 32(6), 1053-1064.
- **PUSHPAKUMARI, K. N., VARGHESE, N., & KOTTOL, K. (2014).** Purification and Separation of Individual Curcuminoids from Spent Turmeric Oleoresin, a by-Product from Curcumin Production Industry. *International journal of pharmaceutical sciences and research*, 5(8), 3246.

« Q »

- **QIAN, H. (2008).** La représentation occidentale de la cruauté dans l'art contemporain chinois.

« R »

- **RAPPORT FINAL PROJET MATE-PNUD-FEM.** Etude diagnostique sur la biodiversité et les changements climatiques en Algérie. **2015.** Planification nationale sur la diversité biologique et mise en œuvre en Algérie du plan stratégique de la convention sur la diversité biologique 2011-2020 et des objectifs d'Aichi. Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. 135p.
- **RATANABANANGKOON, K., ChERDCHU, C., & CHUDAPONGSE, P. (1993).** Studies on the cobra neurotoxin inhibiting activity in an extract of *Curcuma* sp.(Zingiberaceae) rhizome. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 24(1), 178-185.
- **RIVERA-ESPINOZA, Y., & MURIEL, P. (2009).** Pharmacological actions of curcumin in liver diseases or damage. *Liver International*, 29(10), 1457-1466.
- **ROUGHLEY, P. J.; WHITING, D. A. J. CHEM. SOC., PERKIN TRANS. 1 1973, 20,** 2379-2388.
- **ROUMEISSA, L., & MAYA, L.** Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale: *Artemisia herba alba* Asso.
- **REVATHY, S., ELUMAIAI, S., & ANTONY, M. B. (2011).** Isolation, purification and identification of curcuminoids from turmeric (*Curcuma longa* L.) by column chromatography. *Journal of Experimental sciences*, 2(7).

« S »

- **SAOUDI ABDELAZIZ.(20 Novembre 2012).** Une première en Algérie : du safran cultivé à Benbadis (Constantine). *El Watan*.
- **SARIKA, P. R., & NIRMALA, R. J. (2016).** Curcumin loaded gum arabic aldehyde-gelatin nanogels for breast cancer therapy. *Materials Science and Engineering: C*, 65, 331-337.

- **SCARTEZZINI, P., & SPERONI, E. (2000).** Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *Journal of ethnopharmacology*, 71(1-2), 23-43.
- **SOEPADMO, E. (1976).** Ginger plants. *Nat. Malaysiana*, 1(2), 32-39.
- **SOPHER, D. E. (1964).** Indigenous uses of turmeric (*Curcuma domestica*) in Asia and Oceania. *Anthropos*, (H. 1./2), 93-127.

« T »

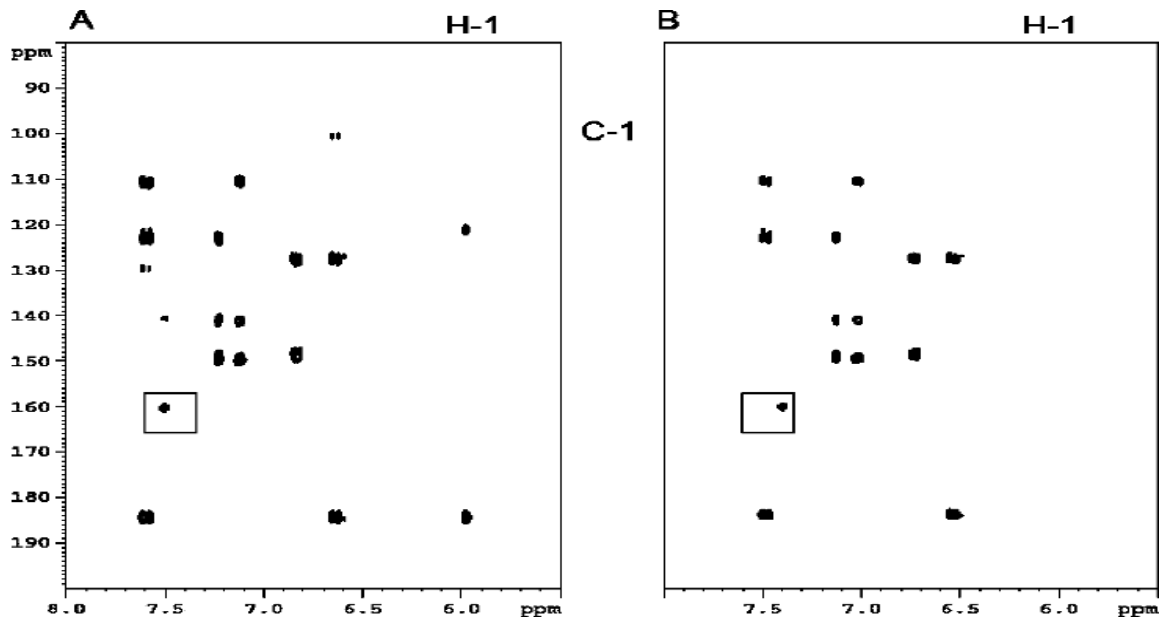
- **THONGSSON C ,DAVIDSON PM,MAHAKARNCHNAKUL.W, VIBULSRESTH P. (2005)** Antimicrobial effect of Thai spices against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* DT104. *J Food Prot* 68(10): 2054–2058

« U »

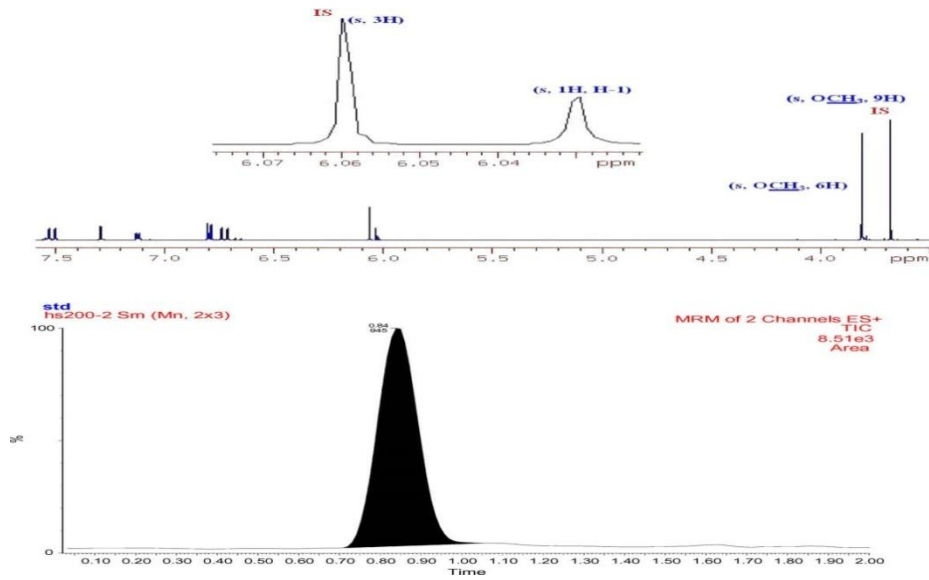
- **ULMER, S., SMORRA, C., MOOSSER, A., FRANKE, K., NAGAHAMA, H., SCHNEIDER, G., ... & QUINT, W. (2015).** High-precision comparison of the antiproton-to-proton charge-to-mass ratio. *Nature*, 524(7564), 196.
- **UNGER, K. K., DITZ, R., MACHTEJEVAS, E., & SKUDAS, R. (2010).** Liquid chromatography—its development and key role in life science applications. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(13), 2300-2312.

ANNEXES

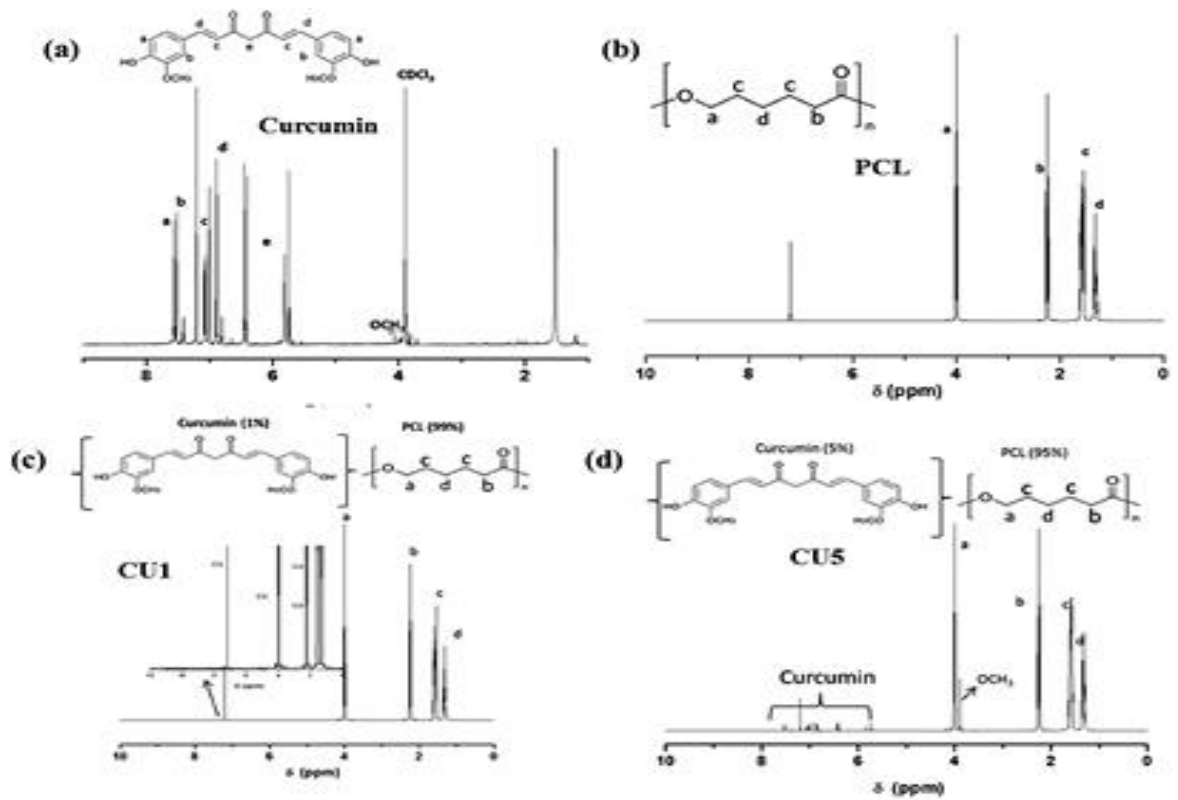
Annexes 1 :Les différents spectres références en RMN



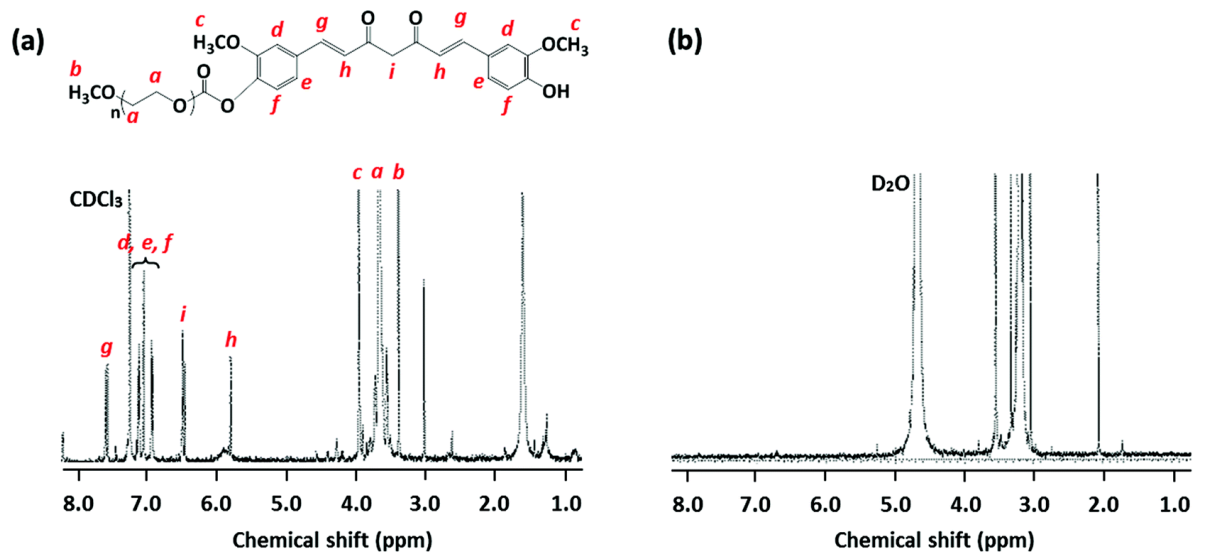
(Florastina, Payton *et al.*, 2007)



(Ahmed .c et al.,2008).



(Shubham Jain et al., 2016)

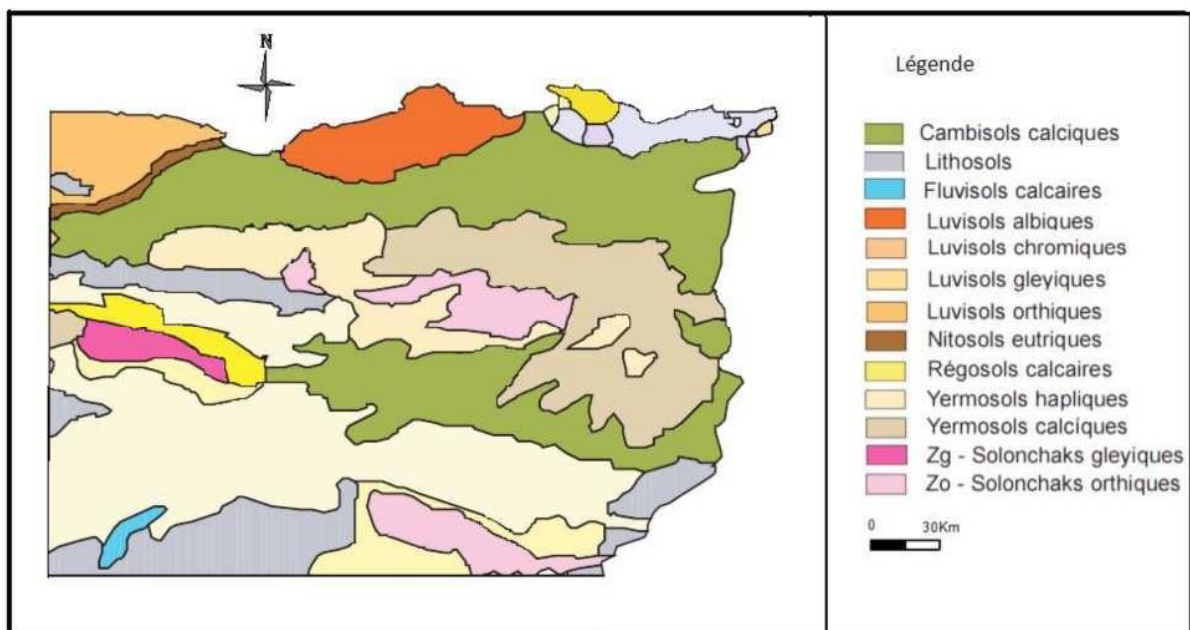


(JamesNirmala, 2016)

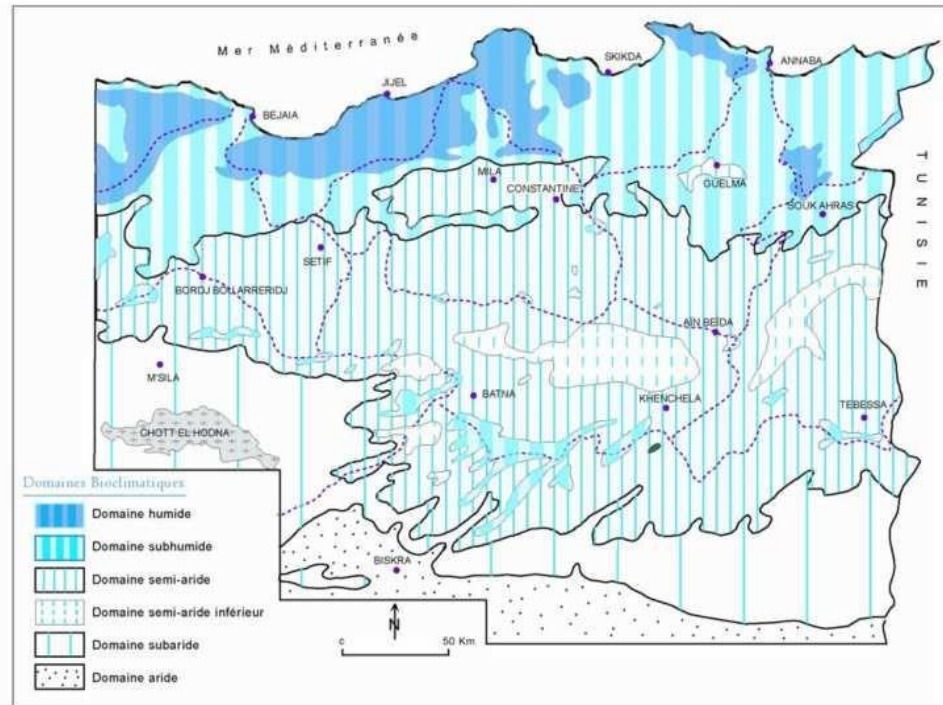
Annexes 2 : La visualisation de la plaque CCM, a été réalisée à l'aide d'une lampe UV de type UVSL58.



Annexes 3 : Carte des sols dominants de la région d'étude (FAO, 2005)



Annexes 4 : Carte simplifiée des zones bioclimatiques de l'est algérien (Côte, 1998 in Bazri, 2015)

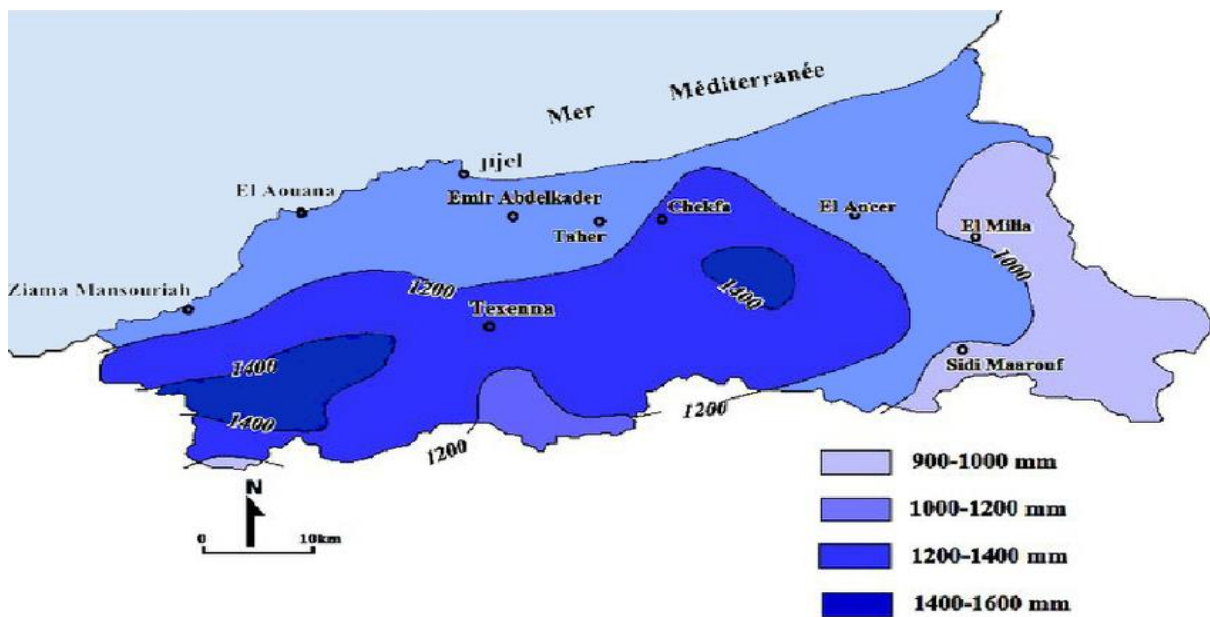


Annexes 5 : Présentation des stations d'étude (O.N.M)

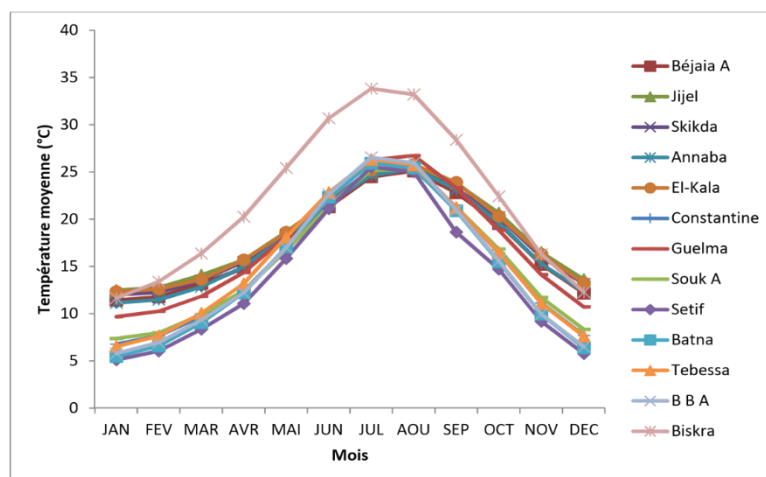
Stations	Latitude	Longitude	Altitude (m)
Alger	36° 40' 48"	3° 15'	25
Béjaia	36° 43' 1,20"	5° 4' 1,20"	6
Jijel	36° 48'	5° 52' 58,80"	11
Skikda	36° 52' 58,80"	6° 54'	3
Annaba	36° 49' 58,80"	7° 49' 1,20"	5
El-Kala	36° 54'	8° 27'	13
Constantine	36° 16' 58,80"	6° 37' 1,20"	690
Guelma	36° 28' 1,20"	7° 28' 1,20"	228
Souk A	36° 16' 58,80"	7° 58' 1,20"	680
Setif	36° 10' 58,80"	5° 15'	1040

Batna	35° 45'	6° 19' 1,20"	826
Tebessa	35° 25' 1,20"	8° 7' 1,20"	811
B B A	36° 4' 1,20"	4° 46' 1,20"	930
Biskra	34° 48'	5° 43' 58,80"	88

Annexes 6 : Extrait de la carte pluviométrique de Jijel (A NRH. , 1996).



Annexes 7 : La variation mensuelle des températures moyennes. Période (1961-2010) (Farah.,2014).



RESUMES

Résumé

Le *Curcuma longa*.L est une plante utilisée depuis l'antiquité en médecine traditionnelle reconnue pour ces vertus thérapeutiques. Cependant, les effets potentiels sur notre organisme peuvent être limités par sa faible absorption et sa biodisponibilité réduite. Dans ce contexte, le présent travail porte sur un projet socio-économique sur la culture de la plante dans notre pays et une étude chimique des curcuminoïdes constituants majoritaires contenus dans cette plante.

L'extrait méthanolique de la poudre des rhizomes a donné un rendement important de 6.432%.

Une approche chromatographique utilisant la CC sur gel de silice avec un gradient de polarité croissante a permis de séparer les différents constituants de l'extrait méthanolique, les fractions récupérées sont analysées par CCM, ce qui a révélé la séparation de produits purs avec des R_f caractéristiques des curcuminoïdes.

La structure chimique de la curcumine a été caractérisée par une analyse RMN du ^1H , et la présence d'autres curcuminoïdes a été retenue.

Mots clés

Curcuma longa.L, CCM, CC sur gel de silice, curcuminoïdes, RMN ^1H .

Abstract

Turmeric longa.L is a plant used since antiquity in traditional medicine recognized for these therapeutic virtues. However, the potential effects on our body can be limited by its low absorption and its reduced bioavailability. In this context, the present work concerns a socio-economical project and chemical study of the curcuminoids constituting majority contained in this plant.

The methanolic extract of the rhizome powder gave a significant yield of 6.432%.

A chromatographic approach using silica gel CC with a gradient of increasing polarity made it possible to separate the different constituents of the methanolic extract, the recovered fractions are analyzed by TLC, which revealed the separation of pure products with characteristic Rf characteristics. curcuminoides.

The chemical structure of curcumin has been characterized by H¹ NMR analysis, and the presence of other curcuminoids has been certified.

Keywords

Turmeric longa.L, TLC, CC on silica gel, curcuminoides, H¹-NMR.

ملخص

الكرمهور نبات يستخدم منذ العصور القديمة في الطب التقليدي المعترف به لهذه الفضائل العلاجية. ومع ذلك ، فإن الآثار المحتملة على أجسامنا يمكن أن تكون محدودة بسبب امتصاصه المنخفض وتوافره الحيوي المنخفض. في هذا السياق ، يتعلق العمل الحالي بدراسة كيميائية لأشكال الكركومينويد التي تشكل الأغلبية الموجودة في هذا النبات.

أعطى المستخلص الميثانولي من مسحوق جذامير هذا النبات عائدًا كبيرًا بنسبة 6.432%، إن النهج الكروماتوجرافي باستخدام CC silica مع تدرج قطبي متزايد قد جعل من الممكن فصل المكونات المختلفة لمستخلص الميثانول، حيث يتم تحليل الكسور المسترجعة بواسطة TLC ، والتي كشفت عن فصل المنتجات الصافية مع خصائص R_f المميزة لأشباه الكركمين.

يتميز التركيب الكيميائي للكركمين بتحليل HM NMR ، وقد تم اعتماد وجود الكوركومينيدات الأخرى.

كلمات البحث

Turmeric longa.L ، TLC ، CC on silica gel ، curcuminoides ، H¹-NMR

Année universitaire : 2017-2018	Présenté par : BOUFEKER Sana AGGOUNE Dallel Zouleikha
Isolement et Caractérisation Structurale de Curcuminoïdes d'Origine Naturelle	
Mémoire de fin de cycle pour l'obtention de diplôme de Master 2 en Biochimie / Nutrition Moléculaire et Santé.	
<p>Résumé :</p> <p>Le <i>Curcuma longa</i>.L est une plante utilisée depuis l'antiquité en médecine traditionnelle reconnue pour ces vertus thérapeutiques. Cependant, les effets potentiels sur notre organisme peuvent être limités par sa faible absorption et sa biodisponibilité réduite. Dans ce contexte, le présent travail porte sur un projet socio-économique sur la culture de la plante dans notre pays et une étude chimique des curcuminoïdes constituants majoritaires contenus dans cette plante.</p> <p>L'extrait méthanolique de la poudre des rhizomes a donné un rendement important de 6.432%.</p> <p>Une approche chromatographique utilisant la CC sur gel de silice avec un gradient de polarité croissante a permis de séparer les différents constituants de l'extrait méthanolique , les fractions récupérées sont analysées par CCM , ce qui a révélé la séparation de produits purs avec des R_f caractéristiques des curcuminoïdes .</p>	
Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies végétales	