



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire N série:.....
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمزة لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar - El OUED
كلية علوم الطبيعة والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية
Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences
biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Effet de *Curcuma longa* L sur l'hyperhomocystémiémie et
maladie cardiovasculaire induites par consommation de
méthionine chez des rates *Wistar albinos***

Présenté Par :

M^{elle} Barka Romaiassa

M^{elle} Boudjerada Kawther

M^{elle} Ismailia Safia

Devant le jury composé de :

Présidente : Mme MEHELLOU Zineb

MAA Université d'El Oued.

Examineur : Mr DEROUICHE Samir

MCA Université d'El Oued.

Promotrice : M^{elle} RAMDANE Farah

MCA Université d'El Oued.

Année universitaire 2020/2021

Dédicace

*A l'aide d'**ALLAH** tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie,
J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le Bonheur de ma vie ma mère
Djamila qui ma apporté son appui durant toutes mes Années d'étude, pour
Son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécuri*

*A mon cher père **Mohammed** qui ma appris le sens de la persévérance tout Au long
De mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses Encouragements.*

*A Mon chère frère **Baha eddin***

*A Ma sœur **Kenza**, son mari **Yacine** et son fils **Mohammed nadir***

*A Ma sœur **Amina**, son mari **Mohammed** et sa fille **Ranime***

*A Ma sœur **Asma** et son mari **Soufiane***

*A Ma belle-sœur **Zinebe**,*

*A mon cher oncle **Hamza***

*A Toutes les familles **Boudjerada** et **Benkaddor***

*A mes amies, pour leurs fidèles amitiés et les bons moments passés ensemble tout au long de
Mes études et en dehors. **Safa*Romaiissa*Safa*Imane*Hinda*Aya.***

*A mon encadreur Dr. **RAMDANE Farah** pour son suivi et ses conseils.*

Aussi pour son soutien, son attention, sa qualité humaine.

A insi que tous mes amies de la promotion de Master de biochimie appliquée 2021

KAWTHER



Dédicace

A mes parents

*Ma mère **makhlofa** et mon père **Mohammed***

*Ceux qui m'ont tant donné, et qui ont tant souffert que
c'est à travers ce sacrifice que nous pouvons nous
offrir une vie meilleure et plus heureux, car les parents ne
Comprennent leur bonheur qu'à travers
le bonheur de leurs enfants.*

*À mes sœurs **sabrina** et **imane***

*À mes frères **abd almonaïm**, **Mohammed Saïd** et **Mohammed alaïd***

*Qui ont toujours été à mes cotés et qui m'ont toujours
fait plaisir, j'ai toujours su que j'étais très chanceux de les avoir.*

*À tout ma grand famille **Barka** et ma grand famille **ben amor***

*À mes amies **Kawther** et **Safia** qui nous ont accompagné ensemble
pendant la rédaction de ce mémoire et à mes
amies **Safa**, **Bouthayna** et **hinda**.*

*À mon encadreur Dr. **RAMDANE Farah** pour son suivi
et ses conseils.*

Aussi pour son soutien, son attention, sa qualité humaine.

Romaïssa

Dédicaces

A mes très chères parents **AMOR** et **MALIKA**

Affable, honorable, aimable : vous présentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Vos prières et vos bénédictions m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous 'accorder santé, longue vie et bonheur. Je vous aime si fort

A mon frère **Dhiya Eddine**, Je ne saurai traduire sur du papier l'affection que j'ai pour lui.

J'implore Allah de te réserve un avenir meilleur.

A mes sœurs **Nabila**, **fahima**, **Sarra**, **Asma**, **Rihab** en témoignage de l'attachement et de l'amour que j'ai pour elles.

Je vous souhaite toutes le bonheur du monde.

A mon fiancé **Belkhir**, merci pour votre soutien à chaque pas que je fais vers mon avenir

A toutes familles **ISMAILIA** et **BERRAHMOUN**

A mon amie **chaima**, ainsi qu'à sa famille.

A mes chers amies **Romaissa** et **kawther** pour tous les bons moments qu'on a vécus ensemble.

A mon encadreur **Dr. RAMDANE Farah** merci pour son suivi et ses conseils. Aussi pour son soutien et son attention

A tous mes enseignants et à toute ma promotion.

A tous ceux qui m'ont soutenu, de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Safia

Remerciements

Nous tenons à remercier en premier lieu **ALLAH**, le tout Puissant de nous avoir donné courage, santé et patience pour achever ce travail

Nous tenons à remercier très vivement notre encadreur **M^{lle} RAMDANE Farah** Maître de conférences à l'Université Echahid Hamma Lakhder d'El'Oued pour avoir acceptée d'encadrer ce travail et pour ses conseils et ses précieuses orientations, ses encouragements, sa patience qu'elle n'a cessé de nous apporter tout au long de ce travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury, **Mme MEHLOU Zineb** Maître assistante à l'Université Echahid Hamma Lakhder El'Oued d'accepter de faire partie de ce jury en le présidant et **Mr DEROUICHE Samir** pour l'intérêt qu'il porte à notre recherche en acceptant d'examiner ce travail et de l'enrichir par ses propositions.

Nos remerciements vont aussi à **Mr Abdelttif Khilyali** responsable du laboratoire 19 mars d'El'Oued pour nous avoir accueilli au niveau du laboratoire d'analyses médicales et d'avoir ménagé de son temps pour la lecture des résultats. Qu'il soit assuré de notre profonde gratitude.

Nous tenons à remercier particulièrement **Madame Fallah Khadija**, **M^{lle} Goubi Sana**, **Mr Omar** ingénieurs du laboratoire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et tous les techniciens chacun et son nom, pour leurs aides durant toute la période de notre travail.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements chaleureux vont également aux doctorants **Laib Ibtissam**, **gharaïssa Nora**, **Fatima**,

Pour leurs aides durant toute la période de notre travail.

Enfin, nous remercions gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé

Ce travail a pour objectif d'évaluer quelques activités biologiques d'une plante médicinale et culinaire, il s'agit de : *curcuma longa* L d'une part, et de tester les effets d'extrait hydrométhanolique de cette plante sur certains paramètres biochimiques chez les rates hyperhomocystéiniques sous l'administration de méthionine, l'analyse quantitative a montré la présence d'une teneur considérable des polyphénols 119.285 ± 6.05 (μg d'acide gallique/ mg d'extrait), des tannins totaux 78.07 ± 5.82 (μg d'acide gallique / mg d'extrait sec) avec une teneur importante des flavonoïdes 70.41 ± 2.12 (μg de quercetine / mg d'extrait sec) qui ont été déterminées par des méthodes de Folin-Ciocalteu, chlorure d'aluminium respectivement. L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* en utilisant deux méthodes :

Le piégeage du radical libre (DPPH) et test de phosphomolybdate (PPM) a révélé une réponse antioxydante considérable de la plante étudiée. Par ailleurs, l'étude *in vivo* a confirmé également l'effet antioxydant de cette plante ; l'étude a été réalisée sur 20 rates femelles de la souche *Wistar* albinos, réparties en 4 groupes ; groupe témoin, groupe méthionine, groupe méthionine +*curcuma* et groupe *curcuma*. Dans cette étude, l'induction du stress oxydatif dans ce modèle rat d'HHcy a été confirmée dans les deux organes (cœur et foie), par l'augmentation du malondialdéhyde (MDA) marqueurs de la peroxydation lipidique et aussi par la diminution significative du glutathion (GSH) et des enzymes antioxydantes telles que la catalase (CAT) respectivement, et par l'augmentation des paramètres lipidiques (cholestérol total, LDL, triglycérides) et diminution du HDL et l'élévation de l'activité des transaminases (TGO, TGP), PAL et LDH..

Le traitement par l'extrait de la plante *curcuma longa* L diminue le taux des paramètres lipidiques (cholestérol total, LDL, triglycérides) et augmente le niveau des HDL. D'autre part, l'examen histologique de cœur et de foie du groupe traité par l'extrait hydrométhanolique de *Curcuma longa* L a confirmé son effet bénéfique et préventif des tissus vivants.

Les mots clés : *Curcuma longa* L, Hyperhomocystéinémie, Maladie cardiovasculaire, Stress oxydatif, Activité antioxydante.

يهدف هذا العمل إلى تقييم بعض الأنشطة البيولوجية لنبته طبية ، ويتعلق الامر ب *Curcuma longa* L من جهة ، واختبار مستخلص الهيدروميثانولي لهذا النبات على بعض التحاليل البيوكيميائية من جهة أخرى لدى جردان مصابة بارتفاع الهوموستتين تحت تأثير الميثونين ، كما أظهر التحليل الكمي على وجود محتوى كبير من البولي فينول 6.05 ± 119.285 (ميكروغرام حمض الغاليك/ ملغ المستخلص) ، والتانينات الكلية 5.82 ± 78.07 (ميكروغرام حمض الغاليك/ ملغ المستخلص الجاف) ، العفص مع محتوى كبير من الفلافونويد 2.12 ± 170.4 (ميكروغرام كيرسيتين/ ملغ المستخلص الجاف) ، عن طريق استعمال طريقة Folin-Ciocalte كلوريد الالمنيوم على التوالي ، تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة عن طريق الاختبارات كيميائية مثل DPPH، PPM التي أظهرت استجابة كبيرة لمضادات الأكسدة للنبات المدروس . علاوة على ذلك تشير الدراسة المنجزة على الحيوانات الى التأثير المضاد للأكسدة لهذا النبات ، الذي أجري على 20 جرذا من سلالة *Wistar* البيضاء ، حيث قسمت الى أربعة مجموعات : مجموعة شاهدة ، مجموعة الميثونين ، مجموعة الميثونين + كركم و مجموعة الكركم . في هذه الدراسة تم تأكيد الاجهاد التأكسدي في هذا النموذج لجرذ *Hhcy* في كلا الجهازين (القلب والكبد) من خلال زيادة في *malondialdehyde* (MDA) و انخفاض معنوي في الجلوثاثيون (*GSH*) والانزيمات المضادة للأكسدة مثل الكاتلاز (*CAT*) على التوالي ،بالاضافة الى زيادة في معايير الدهون (الكليسترول الكلي ، *LDL* ، الدهون الثلاثية ، وانخفاض في *HDL* ، وارتفاع نشاط ترونز تميزاز (*TGO* , *TGP*) ، *LDH* و *PAL* . وبالتالي فان العلاج بمستخلص نبات *Curcuma longa* L تخفض مستوى معايير الدهون (الكليستيرول، الدهون الثلاثية، *LDL*) وترقع مستوى *HDL*. ومن ناحية أخرى أكد الفحص النسيجي للقلب والكبد للمجموعة المعالجة بالمستخلص المائي الميثانولي الى تأثيره المفيد في حماية الانسجة الحية.

الكلمات المفتاحية: *Curcuma longa* L ، هوموستتين، امراض القلب والاعوية الدموية، الاجهاد التأكسدي، نشاط مضادات الاكسدة

Dédicaces	
Remerciements	
Résumé	
ملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale	2
Première partie : Synthèse Bibliographique	
Chapitre I : Hyperhomocystéinémie et maladies cardiovasculaires	
I.1. Homocystéine	6
I.1.1. Différentes formes d'homocystéine circulantes	6
I.2. Métabolisme de l'homocystéine	7
I.3. Hyperhomocystéinémie	10
I.4. Hyperhomocystéinémie et maladies cardiovasculaires	13
I.4.1. Hyperhomocystéinémie comme facteur de risque cardio-vasculaire	13
I.4.2. Hyperhomocystéinémie comme étant un facteur de risque de thromboses veineuses	14
I.5. Hyperhomocystéinémie et athérosclérose	14
I.6. Homocystéine et intervention du stress oxydant	15
I.7. Traitement de l'hyperhomocystéinémie	16
I.8. Fonction vasculoprotectrice des polyphénols	16
Chapitre II : Description de la plante étudiée	
II.1. Plantes médicinales	18
II.2.1.1. Plantes spontanées	18
II.2.1.2. Plantes cultivées	18
II.2. Famille des Zingiberacea	19
II.3. <i>Curcuma longa</i> L	20
II.3.1. Genre de <i>Curcuma</i>	20
II.3.2. Espèce de <i>Curcuma longa</i> L	20
II.3.3. Classification	22
II.3.4. Description botanique	23

II.3.5. Usage thérapeutique	25
II.3.6. Composition chimique	26
Deuxième partie : Partie expérimentale	
Chapitre I : Matériels et Méthodes	
I.1. Matériels	30
I.1.1. Matériel végétal	30
I.1.2. Matériel animal	30
I.3. Produits chimiques et réactifs	31
I.2. Méthodes	31
I.2.1. Extraction des polyphénols	31
I.2.2 Détermination du rendement	33
I.2.3. Détermination des teneurs en principes actifs	33
I.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante	35
I.2.5. Expérimentation animale	36
I.2.6. Dosage des protéines tissulaires	37
I.2.6.1 Préparation de l'homogénats des organes	37
I.2.6.2. Dosage des Malondialdéhyde (MDA) tissulaires	37
I.2.6.3. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH)	38
I.2.6.4. Dosage de l'activité enzymatique du catalase (CAT)	40
I.2.7. Dosage des paramètres lipidiques	40
I.2.8. Dosage des paramètres biochimiques	43
I.2.9. LDH	44
I.2.10. Etude histologique	45
I.2.11. Analyses statistique	45
Chapitre II : Résultats et Discussion	
II. Résultats	47
II.1. Rendement de l'extrait du <i>Curcuma longa</i> L	47
II.2. Détermination des teneurs des composés bioactifs	47
II.3. Evaluation de l'activité antioxydante	48
II.4. Expérimentation animale	49
II.5. Influence du traitement sur le profil lipidique	49

II.6. Influence du traitement sur la fonction hépatique et cardiaque		50
figure	Titre	Page
	II.7. Effet de l'extrait de <i>Curcuma longa</i> L sur la peroxydation lipidique aux niveaux cardiaque et hépatique	51
	II.8. Effet de l'extrait de <i>Curcuma longa</i> L et méthionine sur le niveau de GSH cardiaque et hépatique	52
	II.9. Effet de l'extrait <i>Curcuma longa</i> L et la méthionine sur l'activité de la CAT cardiaque et hépatique	53
	II.10. Etude histopathologique	54
	II.11. Discussion	56
	Conclusion générale	63
	Références bibliographiques	65
	Annexes	84

Liste des figures

1	Structure de l'homocystéine	6
2	Formes circulantes d'homocystéine plasmatique	7
3	Métabolisme de l'homocystéine	9
4	sources de <i>curcumine</i>	21
5	Rhizome, tranches et poudre de curcuma	23
6	Rhizome de <i>Curcuma longa</i> L	23
7	Feuilletage de <i>Curcuma longa</i> L	24
8	Fleur de <i>Curcuma longa</i> L	25
9	Structure chimique des constituants de l'huile essentielle de <i>Curcuma longa</i> L	27
10	Rates de type <i>Wistar</i> Albinos	30
11	Protocole de préparation d'extrait hydrométhanolique	32
12	Réduction par des antioxydants de DPPH• enDPPHH	35
13	Schéma de la réaction entre le TBA et le MDA	38
14	Schéma de réaction entre le DTND et le GSH	39
15	Variation des paramètres lipidiques chez les rates des différents groupes	50
16	Variation des enzymes hépatiques et la lactate déshydrogénase chez les rates	51
17	Variation du taux de MDA chez les rates des différents groupes	52
18	Variation de glutathion réduit (GSH) chez les rates	53
19	Variation d'enzyme antioxydant CAT chez les rates	53
20	coupes histologiques de foie de différents groupes (x400).	54

Liste des figures

21	coupes histologiques de cœur de différents groupes (x400).	55
-----------	---	-----------

Tableau	Titre	Page
1	Classification des hyperhomocystéinémies	10
2	Principales causes de l'HHcy	11
3	Classification botanique du <i>Curcuma longa</i> L	22
4	Sources de curcumine	26
5	Rendement et caractéristiques de l'extrait de la plante étudiée	47
6	Teneurs en polyphénols flavonoïde et tannins totaux de <i>Curcuma longa</i> L	48
7	Activité antioxydante d'extrait de <i>Curcuma longa</i> L	49

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

BHMT : Bétaine-homocystéine méthyltransférase

CBS : Cystathionine-β-synthase

CAT : Catalase

DPPH : 2,2 diphenyl 1 picryl hydrazyl.

EDTA : Ethylène diamine tétra-acétique.

ES : Ecartype.

GPx : Glutathion Peroxydase

GST : Glutathion-S-Transférases

GSH : Glutathion réduit

HDL: High-density lipoprotein

HCl: Acide Chlorhydrique.

Hcy: Homocystéine

HHcy: Hyperhomocystéinémie

HO₂: Hydroperoxyl

H₂S: hydrogène sulfuré

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

IC₅₀: Concentration inhibitrice de 50% (Inhibitory Concentration of 50%).

LDL: Low-density lipoprotein

MAT: Méthionine adénosyltransférase

MDA: Malondialdéhyde

MCV: maladies cardiovasculaires

Mg: Magnésium

Moy : Moyenne

MS : Méthionine Synthase

MTHFR : Méthylènetétrahydrofolate réductase

5-MTHF : 5-méthylène tétrahydrofolate

NADPH: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogène

NO: Monoxyde d'azote

O₂•: Superoxide

O₂: Oxygène

ONOO- : Peroxynitrite

PAL: Phosphatase alcaline

PM: Phosphomolybdate

ROS: Reactive Oxygen Species

ROOH: Hydroperoxyde lipidique

SAM: S-adenosyl-L-méthionine

SAH: S-adenosylhomocystéine

TBS : Tris-buffered saline

TCA : Acide trichloroacétique

TGO : Transaminase glutamique oxaloacétique.

TGP : Transaminase glutamique pyruvique.

Introduction générale

Les plantes médicinales ou pharmaceutiques, se sont toutes plantes qui ont été séchées ou traitées selon des plusieurs méthodes, et employées dans la préparation des médicaments (**Thurzova, 1978**). Elles constituent un patrimoine précieux pour l'humanité, et sont des usines chimiques naturelles, produisant des substances actives biochimiques : alcaloïdes, huiles essentielles, flavonoïdes, tanins,... et les mettent à la disposition de l'homme qui peut en faire usage pour sa santé et satisfaire ses besoins vitaux (**Schauenberg et Paris, 1997**).

Malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement (**Tabuti et Dhillon, 2003**). Les plantes médicinales ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux. En effet, dans plusieurs pays en voie de développement, une grande partie de la population fait confiance à des médecins traditionnels et à leurs collections de plantes médicinales pour les soigner (**Benayad, 2008**).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) environ 65 à 80% de la population a recours à la médecine traditionnelle et aux plantes médicinales pour satisfaire en soins de santé parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité et en raison du manque des médicaments essentiels et les coûts élevés de ces derniers expliquent le recours aux pratiques de la médecine traditionnelle (**MA et al., 1997**).

Les épices font également partie des plantes médicinales, considérées comme des plantes aromatiques à la saveur forte, elles sont utilisées en petite quantité en cuisine comme conservateurs, assaisonnements ou colorants. Elles peuvent provenir de différentes parties de la plante : l'écorce, les grains, les feuilles, les fruits et le rhizome (**Manandhar, 1995**). Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant (**Mata et al., 2007**). Les épices en générale, sont très riches en métabolites antioxydants, une revue scientifique reconnue a classé le *Curcuma* au quatrième rang parmi les 50 aliments renfermant le plus d'antioxydants (**Halvorsen et al., 2006**).

Le *Curcuma* est une plante vivace appartenant à la famille Zingibéracée, Le rhizome est la partie utilisée de la plante en tant qu'épice alimentaire, conservateur, et comme colorant des aliments et des textiles. Cependant, on l'utilise aussi depuis des siècles en médecine traditionnelle indienne et chinoise (**Sikha A et al. 2015**). La couleur jaune caractéristique de la poudre de rhizome est donnée par les curcuminoïdes (**Christelle, 2010**).

L'HHcy qui se définit comme étant un taux anormal élevé d'homocystéine (Hcy) plasmatique causé par des facteurs génétiques, nutritionnels ou environnementaux, est bien

démontrée comme un facteur de risque indépendant de la maladie cardiovasculaire et aussi liée à plusieurs d'autres pathologies. En effet, il est bien établi que l'homocystéine s'auto-oxyde pour former des espèces réactives de l'oxygène ou réactive oxygène species (ROS), formées aussi via des chaînes de transport d'électrons telles que celles existant dans les mitochondries chez les eucaryotes. Ces ROS sont responsables de l'augmentation d'une part du stress oxydatif et d'autre part de la dysfonction endothéliale qui contribue à la morbidité-mortalité des maladies cardiovasculaires essentiellement par l'oxydation des lipides et des protéines (**Loscalzo, 1996**). Plusieurs études ont montrés que les curcuminoïdes sont des puissants antioxydants et que la curcumine est considérée comme un antioxydant dix fois plus actif que la vitamine E (**Wang et al.,1997 ; Silverstein et al.,1991**).

L'objectif de notre travail est contribué la valorisation de la plante *curcuma longa* L utilisée dans la médecine traditionnelle populaire algérienne dans le traitement des maladies cardiovasculaires, par la quantification des composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, et tannins) de l'extrait hydro-éthanolique et l'étude de l'effet antioxydant de cet extrait *in vitro*, ainsi son effet sur des rates malades par une hyperhomocystéinémie induite par l'administration de méthionine.

Ce travail est subdivisé en deux parties essentielles : La première partie comprend deux chapitres ;

Dans le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur l'hyperhomocystéinémie, des maladies cardiovasculaires et la relation entre eux.

Dans le deuxième chapitre, nous rappelons la description (les caractères botaniques et la systématique) de la plante médicinale choisie «*Curcuma longa* L».

Une partie expérimentale ou bien partie pratique traitant deux axes :

- le premier axe, consiste à l'étude *in vitro* (dosage des polyphénols) et l'évaluation de l'activité antioxydante.
- le deuxième axe, nous nous sommes intéressées à l'étude *in vivo* (activité anti-hyperhomocystéinémie) sur les rates traitées par méthionine
- Dans la dernière partie, nous avons rapporté et discuté nos résultats suivis par une conclusion.

Première partie :
Synthèse
Bibliographique

Chapitre I :
Hyperhomocystéinémie
et maladies
cardiovasculaires

I.1. Homocystéine

L'homocystéine est un acide aminé synthétisé par toutes les cellules de l'organisme, durant le cycle métabolique de la méthionine qui est un acide aminé essentiel apporté par l'alimentation (Demuth *et al.*, 2000 ; Elizaeth *et al.*, 2005).

- Nom systématique : acide (2S)-2 amino-4-sulfanyl-butanoïque Abréviation (**Hcy**)
- Formule chimique : C₄H₉NO₂S
- Masse molaire : 135.186 g / mol (Zoungas *et al.*, 2006)

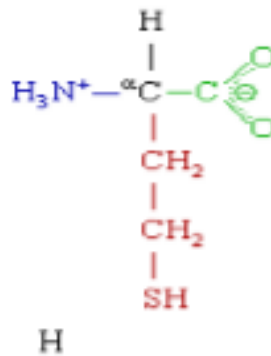


Figure1 : Structure de l'homocystéine (Elizaeth *et al.*, 2005)

I.1.1. différentes formes d'homocystéine circulantes

I.1.1.1. Hcy liée aux protéines : Cette forme non filtrée par le rein représente 75% à 80% de l'Hcy plasmatique totale. La liaison de l'Hcy aux protéines plasmatiques est réalisée soit par l'intermédiaire des ponts disulfures soit par des ponts peptidiques (Demuth *et al.*, 2000).

I.1.1.2. Hcy libre : Cette forme, en revanche, est filtrée par le rein et elle se trouve sous deux formes, une forme libre oxydée majoritaire et une forme libre réduite correspondant à l'Hcy proprement dite. La forme libre oxydée est principalement représentée par le disulfidehomocystéine-homocystéine, par des disulfides mixtes tels que le disulfide homocystéine-cystéine et par homocystéine thiolactone. L'homocystéine totale (Hcy-t) est donc la somme de toutes les formes d'homocystéine qui existent dans le plasma (Demuth *et al.*, 2000).

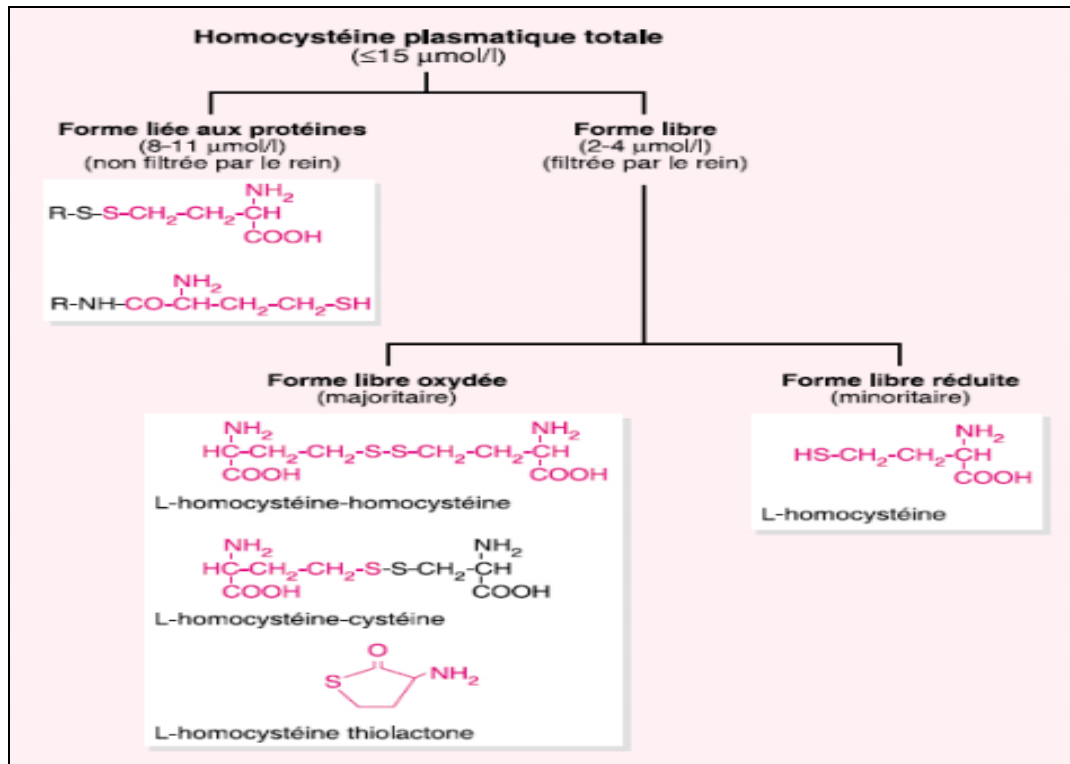


Figure 2 : Formes circulantes d'homocystéine plasmatique (Demuth *et al*, 2000).

I.2. Métabolisme de l'homocystéine

Le foie et les reins sont les deux organes où l'Hcy est principalement catabolisée, ceci se fait à travers l'une des deux voies vitamine-dépendantes (la voie de la reméthylation et la voie de la transsulfuration), en plus d'une troisième, non vitamine-dépendante, exclusivement hépatique. Dans la voie de reméthylation, deux réactions enzymatiques distinctes assurent la reméthylation de l'Hcy en méthionine (Guilland et Lequeu, 1992).

I.2.1 reméthylation de l'homocystéine

Elle assure la conversion de l'Hcy en méthionine constituant la voie métabolique principale dans l'ensemble des tissus de l'organisme. Entre 50 et 80% de l'Hcy générée à partir de la voie de transméthylation seraient reméthylées dépendamment du contenu en protéines (méthionine) et en choline du régime alimentaire (Zittoun, 1998)

➤ **méthionine synthétase (MS)** : Elle permet le transfert d'un méthyle du 5-méthylène tétrahydrofolate (5-MTHF) à l'Hcy pour former la méthionine, avec libération de tétrahydrofolate (THF). La forme méthylée de la vitamine B12 ; la méthyl cobalamine est impliquée dans la réaction comme coenzyme de la MS. Le cycle des folates est donc lié au métabolisme des acides aminés soufrés. Il contribue notamment à la conversion de l'acide folique en 5-MTHF via différentes étapes avec le THF comme intermédiaire.

Les deux dernières réactions mettent en jeu la sérine hydroxyméthyltransférase (SHMT) et la N5, 10- méthylène THF réductase (MTHFR) dont les cofacteurs sont respectivement le phosphate de pyridoxal (vitamine B6) et la flavine adénine dinucléotide réduite, FADH2 (vitamine B2) ; bétaine-homocystéine méthyltransférase (BHMT) ; cette enzyme peut aussi transférer un méthyle à l'Hcy par déméthylation de la bétaine, un métabolite de la choline. La BHMT n'est toutefois exprimée significativement que dans les cellules hépatiques et rénales. En cas de déficience en folates, la voie de la BHMT permet une synthèse de méthionine afin de maintenir un niveau suffisant de S- adénosyl-L-méthionine (SAM) dans ces tissus (**Aubard et al., 2000**)

I.2.2. transméthylation de la méthionine : La méthionine est activée en SAM par la méthionine adénosyltransférase (MAT). La SAM est le donneur de méthyles de la plupart des réactions d'éthylation intracellulaires, sur des substrats accepteurs tels que l'ADN, l'ARN ou encore des neurotransmetteurs. Au cours de ces réactions, la SAM est transformée en S- adénosylhomocystéine (SAH), laquelle est ensuite hydrolysée en Hcy et adénosine par la SAH hydrolase (SAHH). L'hydrolyse de la SAH est une réaction réversible. Les études de la régulation du métabolisme de l'Hcy ont montré que l'orientation des flux d'Hcy vers la voie de la reméthylation ou de la transsulfuration est sous le contrôle des concentrations cellulaires de méthionine et SAM disponibles (**Janosik et al., 2001**).

I.2.3 transsulfuration de l'Hcy : Cette voie qui existe principalement au niveau du foie permet le catabolisme intracellulaire de l'Hcy (**Mato et al., 2008**). La première étape est catalysée par la cystathionine- β -synthase (CBS) en générant la cystathionine à partir de l'Hcy et de la sérine. Au cours de la seconde étape, la cystathionine est scindée en cystéine, un précurseur du glutathion, par l'action de la cystathionine- γ -lyase. La vitamine B6, sous sa forme activée du phosphate de pyridoxal, est le coenzyme de ces 2 réactions. Ces 2 enzymes ont également la possibilité de générer de l'hydrogène sulfuré (H2S) dans les tissus artériels et veineux (**Tyagi et al., 2009**).

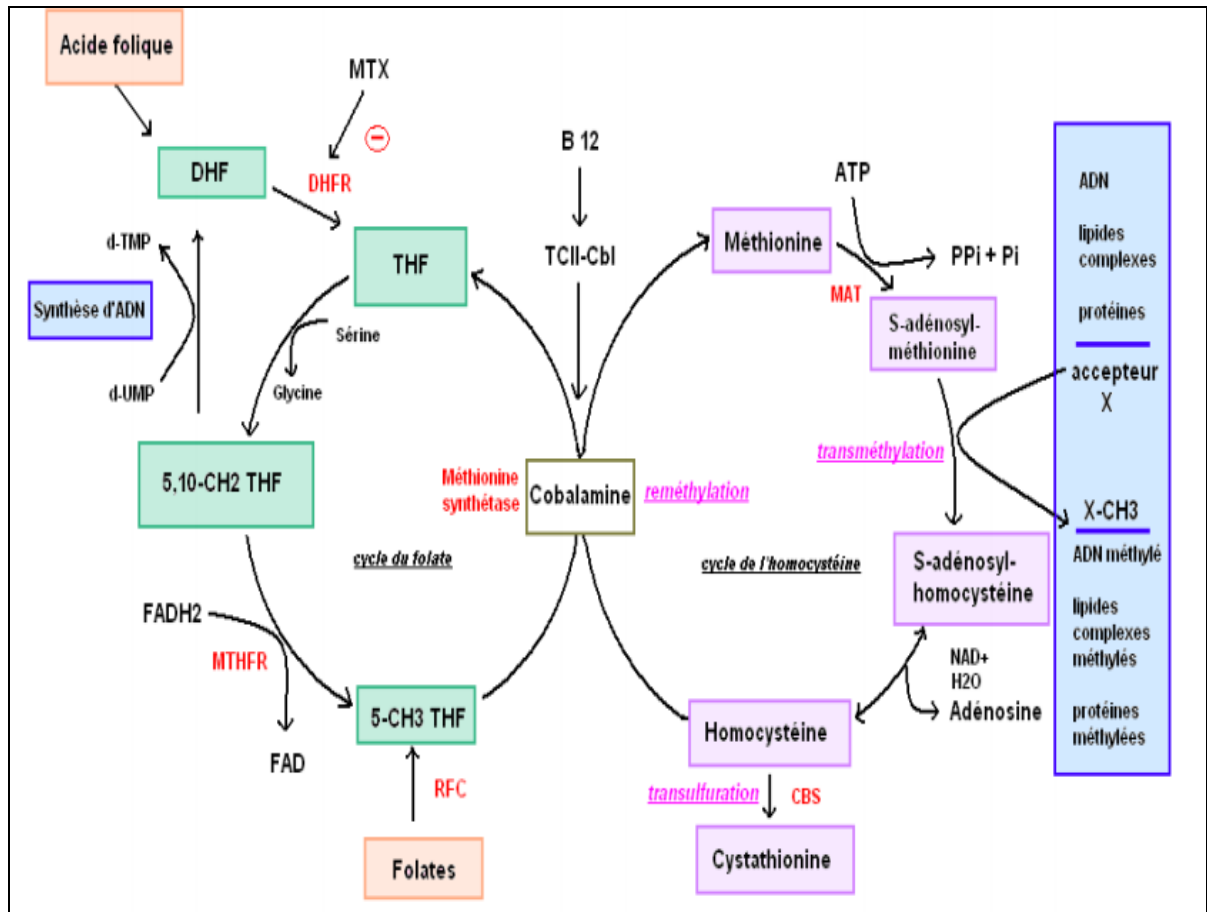


Figure 3 : Métabolisme de l'homocystéine (yang et al.,2016).

I.3 Hyperhomocystéinémie

L'organisme humain synthétise environ 20 mmol par jour d'homocystéine, mais de très faibles quantités se retrouvent dans le sang (**Mouchabac, 2008**). Du fait de sa cytotoxicité, l'Hcy est rapidement éliminée via le plasma. Ce mécanisme d'élimination hors des cellules, complète le catabolisme de l'Hcy par la voie de la trans-sulfuration permettant de maintenir des concentrations intracellulaires basses et précisément régulées inférieures à 1 µmol/L (**Zittoun, 1998**). L'hyperhomocystéinémie (HHcy) est définie comme un état pathologique caractérisé par un taux anormalement supérieur à 15 µmol/L d'homocystéine dans le sang (**Ganguly et Alam, 2015**). La classification des différentes HHcy à jeun est citée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Classification des hyperhomocystéinémies (**Ganguly et Alam, 2015**)

Classes d'hyperhomocystéinémie	Concentration plasmatique de Hcy
Homocystéinémie normale	5 à 15 µM
Hyperhomocystéinémie modérée	16 à 30 µM
Hyperhomocystéinémie intermédiaire	31 à 100 µM
Hyperhomocystéinémie sévère ou majeure	>100 µM

I.3.1. Facteurs déterminants

Dans le cas d'un organisme sain, une surcharge en méthionine augmente le taux d'Hcy sanguin qui devrait être rapidement régulé par les voies précédemment décrites. L'HHcy est une condition multifactorielle (**Trabetti, 2008**), qui peut avoir pour causes des facteurs nutritionnels, génétiques ou environnementaux (**Bottiglieri, 2005; Mouchabac, 2008**). Le tableau 02 illustre les causes des différentes classes d'HHcy.

Tableau 2 : Principales causes de l'HHcy (Bottiglieri, 2005).

	HHcy modérée	HHcy intermédiaire	HHcy sévère
Concentration sanguine	12 -30 $\mu\text{mol/l}$	31 – 100 $\mu\text{mol/l}$	> 100 $\mu\text{mol/l}$
Nutrition	Carence en folate, B12, B6, choline et sérine Apport élevé en méthionine Alcool Café	Carence en folate, B12, B6, choline et sérine Abus d'alcool	Carence sévère en folate, B12, B6, choline et sérine
Mutations et polymorphisme	Mutation hétérozygote de la MTHFR Mutation hétérozygote de la CBS Mutation de la transcobalamine	Mutation hétérozygote de la MTHFR Carence en B12 due à une mutation génétique	Mutation homozygote de la MTHFR Mutation homozygote de la CBS
Maladies	Atteintes rénales Anémie pernicieuse Hypothyroïdisme Plusieurs cancers Psoriasis Diabète		
Médicaments	Antagonistes de folate Antagonistes de B6	Antagonistes de folate	
Autres	Tabac Ménopause Sexe masculin Âge		

I.3.1.1. Facteurs nutritionnels et mode de vie

Le taux d'Hcy peut être accru par un apport élevé en méthionine, associé à un déficit d'apport en folates, en vitamines B12, B6 et B2 (Stea *et al*, 2008 ; Çaliskan *et al*, 2004), vitamines impliquées dans les voies métaboliques de l'Hcy (McKinley *et al*, 2001). Ce déficit en vitamines peut être dû à une carence primaire faute d'apport suffisant pour répondre aux besoins, ou encore, à l'incapacité de l'organisme de les absorber (Guilland *et al*, 2003). Il est estimé qu'un apport inadéquat en vitamines contribue aux deux tiers des cas d'HHcy (Austin *et al*, 2004). Plusieurs études observationnelles ont confirmé la relation inverse entre les apports des vitamines B et l'homocystéinémie (Stea *et al*, 2008 ; Sachadyn *et al*, 2008). La consommation d'alcool et de café ainsi que le tabac et le manque d'exercices peuvent, eux aussi, augmenter le taux plasmatique d'Hcy (Refsum *et al*, 1998 ; Faeh *et al* 2006).

I.3.1.2. Facteurs génétiques

Les différences quantitatives et qualitatives des enzymes-clé intégrées dans le métabolisme de l'Hcy, notamment la méthylène-tétrahydrofolate réductase (MTHFR), la méthionine synthase (MS) et la cystathionine- β -synthase (CBS) ainsi que leurs gènes codants ont été étudiés et font encore l'objet de plusieurs études. Près de 70 déterminants génétiques ont été identifiés (Sharma *et al*, 2006 ; Kullo *et al*, 2006). Parmi les plus importants on distingue; deux mutations 677C/T et 1298A/T du gène codant pour la MTHFR (Weisberg *et al*, 1998), la mutation au niveau du gène codant pour la CBS et dont la forme homozygote conduit à un cas d'HHcy sévère où l'hyperhomocystinémie (Hcy > 100 $\mu\text{mol/l}$) (Ubbink *et al*, 1995; vesin *et al*, 2007), la mutation du gène codant la MS ou le polymorphisme 2756A/G qui provoque son inactivation, or, cette mutation est rare (Chango *et al*, 1999) ou encore à une mutation génétique au niveau du gène codant pour la transcobalamine (Mouchabac, 2008).

II.3.1.3. Facteurs environnementaux

Ces facteurs peuvent avoir des effets additifs ou potentialisés chez certains sujets qui sont porteurs de mutations génétiques des voies de reméthylation et de transsulfuration. L'homocystéinémie augmente avec l'âge et chez le sexe masculin comparativement au sexe féminin après l'âge de 10 ans et continue d'augmenter graduellement tout au long de la vie sans nécessairement atteindre des taux anormaux élevés (**Norlund et al., 1998 ; Mouchabac,2008**). Quelques conditions physiopathologiques, telles qu'une insuffisance rénale (Bostom et al, 1997 ; Guillard *et al* ,2003), un désordre hépatique, un hypothyroïdisme ainsi que plusieurs cancers (**Singal et al, 2004 ; Kothekar, 2007**) ont été associés avec l'HHcy.

Plusieurs médicaments tels que la carbamazépine, la théophylline et les cyclosporines interfèrent avec l'absorption du folate et des vitamines B6 et B12 et provoquent une augmentation modérée de l'homocystéinémie.

I.4. Hyperhomocystéinémie et maladies cardiovasculaires

La relation directe entre l'homocystéine et certaines affections vasculaires (coronaires, cérébrales ou périphériques) a été clairement établie par plusieurs études (**Welch, Loscalzo, 1998 ; Refsum,1998**)

I.4.1. Hyperhomocystéinémie comme facteur de risque cardio-vasculaire

A fait couler beaucoup d'encre depuis plusieurs décades. Mc Cully en 1969, postulait déjà que l'accumulation d'homocystéine pouvait entraîner une athérosclérose (**McCully, 1969**). Wilcken et Wilcken en 1976, montraient l'existence d'une association entre l'accumulation d'homocystéine plasmatique et la présence d'une atteinte coronaire (**Wilcken ,1976**). Nygard et al en 1997, ont défini une relation entre le taux d'homocystéine plasmatique et la mortalité chez des patients souffrant de maladie coronaire (**Nygard et al .,1997**).

I.4.2. Hyperhomocystéinémie comme étant un facteur de risque de thromboses veineuses

Plus récemment, plusieurs études confirment bien la relation entre l'hyperhomocystéinémie et les affections cardio-vasculaires et thrombo-emboliques (**The homocysteine Studies Collaboration, 2002**). Les maladies cardiovasculaires constituent une des premières causes de mortalité et de morbidité dans le monde, elles posent un véritable problème de concentration plasmatique d'homocystéine constituait un facteur de risque indépendant de mortalité cardiovasculaire, comparable à celui d'autres facteurs de risque comme le tabac, l'hypercholestérolémie ou l'hypertension artérielle (**Refsum, 1998**).

I.5. Hyperhomocystéinémie et athérosclérose

L'établissement de la relation entre hyperhomocystéinémie et athérosclérose provient initialement de l'analyse comparée des profils cliniques et biologiques décrits pour les trois déficits enzymatiques, d'origine génétique, associés à une hyperhomocystéinémie sévère chez l'homme (**Cully, 1983**). Le rôle pro-athérogène de l'hyperhomocystéinémie, y compris celui de l'hyperhomocystéinémie intermédiaire ou modérée, a ensuite été confirmé par l'utilisation de modèles animaux et par des études cliniques et épidémiologiques chez l'homme (**Boushey et al., 1995**). Parallèlement, l'ensemble des études prospectives conduites chez des patients atteints de maladies cardiovasculaires (CV) déclarées, ou de maladies conférant un risque CV accru au moment de l'inclusion, a montré que l'homocystéinémie était prédictive de la survenue d'accidents CV (**Cattaneo, 1999**). Plus récemment, quelques études transversales ont recherché, chez des sujets asymptomatiques pour les pathologies CV, une association entre l'hyperhomocystéinémie et la présence d'altérations structurales et fonctionnelles précliniques de la paroi artérielle. Sur le plan fonctionnel, l'hyperhomocystéinémie a été associée à une altération de la vasodilatation dépendante de l'endothélium (**Chambers et al., 1998**). D'un point de vue structural, l'augmentation de l'homocystéinémie était associée à un remodelage de l'artère carotide, indépendamment des déterminants connus du diamètre et de l'épaisseur artérielle, et suggéré que l'hyperhomocystéinémie pouvait également constituer un marqueur d'athérosclérose préclinique (**Demuth et al., 1998**).

I.6. Homocystéine et intervention du stress oxydant

L'homocystéine porte un groupement thiol réducteur qui est aisément auto-oxydé et peut engendrer des radicaux libres (ROS) responsables de lésions vasculaires, même si ceci reste discuté. En effet, la cystéine est présente dans le plasma à des concentrations 20 à 30 fois plus élevées que l'Hcy et son groupement thiol réducteur est plus réactif que celui de l'Hcy. Pourtant la cystéine ne provoque pas des lésions endothéliales et n'est pas considérée comme un facteur de risque cardiovasculaire (**Jacobsen, 2000**).

Par ailleurs, une étude a démontré que la forme oxydée de l'Hcy vient en grande partie de l'échange des disulfures, et de manière assez rare de l'auto-oxydation directe de l'Hcy (**Sengupta et al., 2001**).

Des travaux suggèrent que le stress oxydant induit par l'Hcy est dû à l'effet « biochimique » qu'à son effet « chimique ». Le stress oxydant n'est induit que dans l'endothélium incubé avec de L-homocystéine naturelle, mais pas avec la D-homocystéine (**Heydrick et al., 2004**). L'effet pro-oxydant de homocystéine peut être expliqué par un mécanisme appelé « eNOS uncoupling » (**Pritchard et al., 1995; Zhao et al., 2003**). Brièvement, la L-homocystéine fait qu'eNOS devient la source majeure de l'anion superoxyde (O_2^-). L' O_2^- inactive rapidement NO, conduisant à la formation de fortes concentrations de peroxy-nitrite ($ONOO^-$), un oxydant très puissant et toxique. (**Boger et al., 2000**)

I.7. Traitement de l'hyperhomocystéinémie

L'hyperhomocystéinémie est fréquente dans la population générale, notamment les sujets âgés. Le statut vitaminique est un déterminant majeur de l'hyperhomocystéinémie minime à modérée et représente environ deux-tiers des cas d'hyperhomocystéinémie. La supplémentation vitaminique entraîne une normalisation de l'Hcy plasmatique dans la plupart des cas. Les patients avec une augmentation isolée de l'Hcy après un test de charge en méthionine peuvent tirer bénéfice d'une supplémentation en vitamine B6 (**Brattstrom et al, 1994; Ubbink et al, 1994**)

I.8. Fonction vasculoprotectrice des polyphénols

Les polyphénols constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues (**Tapiero et al, 2002**). Les polyphénols sont largement utilisés dans la prévention et le traitement des maladies cardiovasculaires (MCV) offrant une protection contre de nombreuses maladies chroniques. Leurs effets sur la santé humaine dépendent de la quantité consommée et de leur biodisponibilité. De nombreuses études ont démontré que les polyphénols ont également de bons effets sur le système vasculaire en abaissant la tension artérielle, en améliorant la fonction endothéliale, en augmentant les défenses antioxydantes, en inhibant l'agrégation plaquettaire et l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) et en réduisant les réponses inflammatoires (**Pandey et Rizvi, 2009; Giglio et al., 2018**).

Chapitre II :
Description de la
Plante étudiée

II.1. Plantes médicinales

II.1.1. Définition

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle (MTR) dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago, 2006**). Elles sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine. En effet elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racines ; feuilles ; fleurs (**Dutierre, 2011**).

II.1.2. origine des plantes médicinales

Elle porte sur deux origines à la fois. En premier lieu les plantes spontanées dites "sauvages" ou "de cueillette", puis en second les plantes cultivées (**Chabrier, 2010**)

II.1.2.1. Plantes spontanées

Beaucoup de plantes médicinales importantes se rencontrent encore à l'état sauvage. Les plantes spontanées représentent encore aujourd'hui un pourcentage notable du marché. Leur répartition dépend du sol et surtout du biotope (humidité, vent, température et l'intensité de la lumière... etc). Dans certain cas, certaines plantes se développent dans des conditions éloignées de leur habitat naturel (naturelles ou introduites). Dans ce cas leur degré de développement en est modifié, ainsi que leur teneur en principes actifs (**Chabrier, 2010**).

II.1.2.2. Plantes cultivées

Pour l'approvisionnement de marché des plantes médicinales et la protection de la biodiversité floristique, le reboisement des plantes médicinales est indispensable :

- Disponibilité des plantes sans besoin d'aller dans la forêt pour détruire les espèces sauvages.
- Apports substantiels de revenus pour les paysans qui les cultivent.
- Disponibilité prévisible des plantes médicinales au moment voulu et en quantité voulue.

- Disponibilité et protection des plantes actuellement rares ou en voie de disparition dans la nature.
- Contrôle plus facile de la qualité, de la sécurité et de la propreté des plantes (**Chabrier, 2010**).

II.2. Famille des Zingiberacea

II.2.1. Définition

Zingiberaceae est l'une des plus grandes familles du règne végétal. Ce sont des ressources naturelles importantes qui fournissent de nombreux produits utiles pour l'homme. Les zingibéracées rassemblent une forte concentration de plantes aromatiques et productrices d'huiles essentielles, ce sont des plantes dites angiospermes monocotylédones, c'est-à-dire : ce sont des plantes à fleurs et elles n'ont qu'un seul cotylédon (**Ross, 2005**).

Cette immense famille, concerne uniquement des plantes herbacées qui peuvent être pérennes ou vivaces, elles ont un rhizome souterrain, des racines tubéreuses avec un feuillageréparti en générale régulièrement tout le long de la tige et parfois il est en spirale avec des feuilles distiques et alternées ainsi des nervures ascendantes (**Quave, 2013**).

En effet, les espèces de la famille des zingibéracées ont une inflorescence très colorée réunie en épis ou en grappe avec des fleurs bisexuées et zygomorphes qui se diffèrent d'une espèce à une autre par leurs formes, couleurs, ainsi par leurs parfums et donnant en fruit des capsules ou des baies (**Gigon, 2012**).

La particularité des zingibéracées est leur pouvoir à s'adapter au climat chaud sous les tropiques ou dans les régions subtropicales ainsi dans les zones les plus tempérées (**Gigon, 2012**).

II.2.2. Composition chimique

- Huile essentielle : Plus de 160 constituants ont été identifiés, mais sa composition varie de façon importante selon les origines. Les principaux constituants sont de nature sesquiterpéniques :

(-)-Zingibérène, (-) β -phellandréne, curcumine, et zingibérol.
- Hétérosides mono-terpéniques : (+)-angélicodénoïl-2-O- β -D-glucoside.
- Phenyléthyl-n-alkyl-cétone et ses dérivés : Ces substances responsables de l'âpreté ; les gingerols sont les constituants majeurs de ce groupe avec une teneur allant jusqu'à 25% il s'agit surtout de
- 6-Gingérol, ainsi que les shogaols (5-désoxy-4,5-déhydro-gingérols) 1,7-diazylheptanoïdes (curcuminoïdes) : hexahydro-curcumine, diarylheptanone.
- Diterpènes, les Glycolipides et amidon \approx 50% (Eberhard *et al.*, 2005).

II.3. *Curcuma longa* L

II.3.1 Genre *Curcuma*

Morphologiquement, le genre *Curcuma* est très variable dans différents caractères taxonomiquement importants (Apavatjirut *et al.*, 1999). Le *curcuma* provient d'une plante herbacée rhizomateuse de la famille des Zingiberaceae. Son rhizome est séché et réduit en poudre pour donner le *curcuma* (Perr, 2008).

II.3.2. Espèce *Curcuma longa* L

On dénombre près de 80 espèces dans ce genre. Il regroupe de nombreuses espèces ornementales, tandis que d'autres se sont démarquées par l'utilisation de leur rhizome, aux propriétés culinaires et médicinales. Parmi ces espèces, *Curcuma longa* L est de loin le plus utilisé et par conséquent le plus étudié, mais on retrouve également *Curcuma xanthorrhiza* Roxburgh dit *temoe lawak* et la zédoaire, décrite sous le nom de *Curcuma zedoaria* Roscoe ou *Curcuma zerumbet* Roxburgh (figure 04) (Delaveau, 1987).

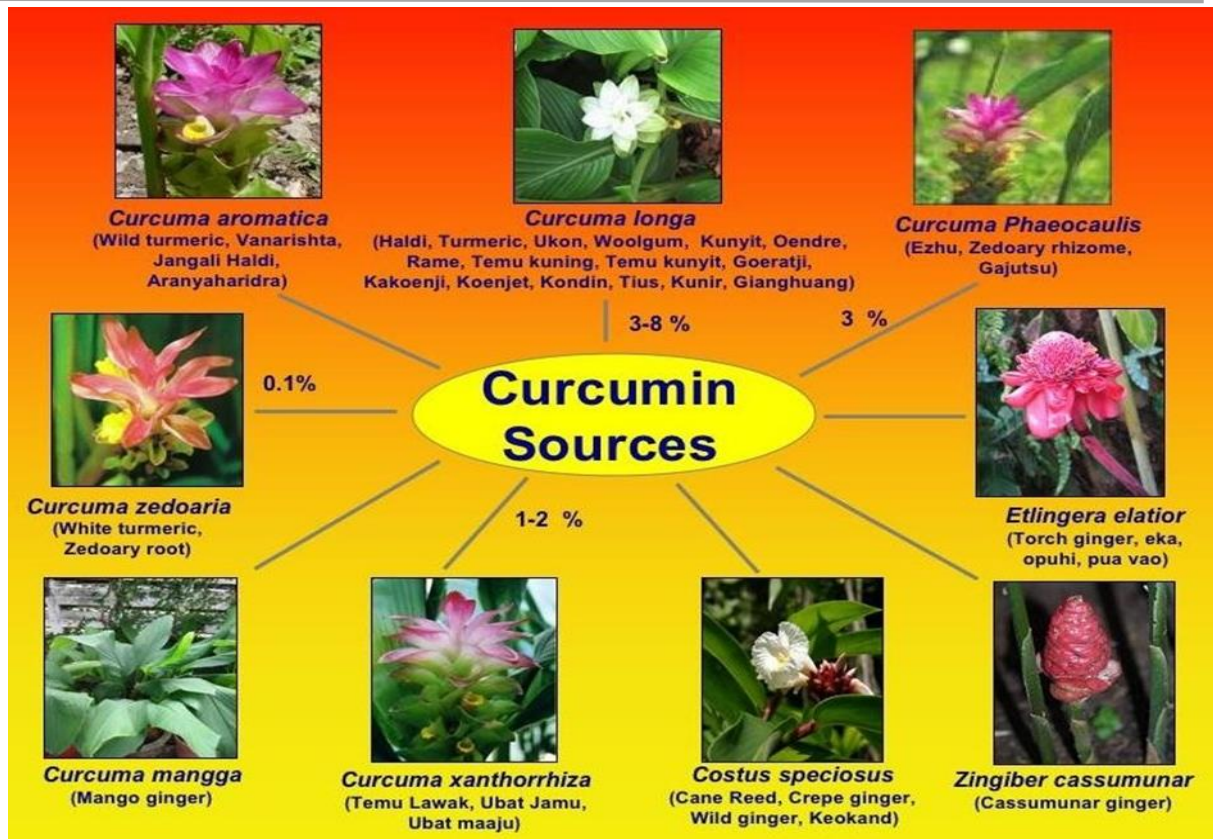


Figure 4 : Sources de curcumine (Shishodia G *et al.*, 2005)

Est une plante tropicale, elle comporte un rhizome qui est une source de produits naturels appelé curcuminoïdes qui sont souvent utilisé en médecine traditionnelle (Pikulthong *et al.*, 2016). Traditionnellement, le *Curcuma longa* L avait de nombreuses applications comme la congestion respiratoire, dépuratif sanguin, utilisé aussi pour traiter ou pour la guérison de plusieurs maladies tel que la variole, le zona, ainsi que comme pansement pour les contusions, les foulures ainsi que les coupures (Loap, 2008). La production des curcuminoïdes par *Curcuma longa* montre un pouvoir antioxydant, anti-inflammatoire, anti bactériale, anti fongique, anti virale et anti cardiogénique (Loap,2008).

II.3.3. Classification

Selon **Rodolphe et al., (2010)** et **Anil et al., (2011)**, la classification botanique du *Curcuma longa* est comme montré dans le tableau 03. D'après la classification phylogénétique, il existe de nombreuses espèces de *Curcuma* dont les propriétés sont exploitées en santé. Parmi ces espèces peuvent être citées le *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma amada*, *Curcuma aromatica*, *Curcuma brog*, *Curcuma malabarica* ou encore *Curcuma sylvaticas* (**Delaveau, 1987; kumar et al., 2011; Deb et al., 2013; Gurung et al., 2017**).

Tableau 3 : Classification botanique du *Curcuma longa* L

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Sous classe	Zingiberidae
Ordre	Zingiberales
Famille	Zingiberaceae
Sous Famille	Zingiberoideae
Genre	<i>Curcuma</i>
Espèce	<i>Curcuma longa</i>

II.3.4. Description botanique

Curcuma longa L est une grande plante herbacée, vivace, robuste, érigée, arbustive qui pousse sous tous les climats tropicaux, pouvant atteindre 1,50 mètre de haut, pérenne par son rhizome épais, charnu, ramifié (Wichtel et Anton, 2003; Divakaruni, 2006).



Figure 5 : Rhizome, tranches et poudre de *curcuma longa* L (Jean, 2010)



Figure 6 : Rhizome de *Curcuma longa* L (Boullard, 2001).

La surface externe est gris-jaune, marquée par la cicatrice des racines. La section est franche et finement granuleuse, d'une couleur jaune orangé (la curcumine est un pigment orangé). Sur le plan microscopique, on distingue des cellules parenchymateuses entre les quelles circule un réseau vasculaire. Les cellules des tissus profonds sont remplies de nombreux grains (Delaveau, 1987). Les rhizomes représentent la partie consommée comme épice (Cheikh Ali, 2012). Une odeur aromatique se dégage après section du rhizome (Delaveau, 1987).

Feuilles vertes lancéolées, longues d'une cinquantaine de centimètres, à l'extrémité en pointe et engainées à leur base. Possèdent une puissante nervure axiale et des nervures secondaires parallèles. A l'aisselle des quelles, naissent les fleurs de couleur blanche ou jaune (figure 07) (Boullard, 2001).



Figure 7 : Feuilletage de *Curcuma longa L* (Grugeau, 1995).

Les fleurs sont généralement jaunes et assemblées en épi. Elles mesurent entre 10 à 15 cm de long et leur pédoncule mesure 15 cm mais il est généralement caché par les gaines des pétioles (figure 08) (Boullard, 2001; Wichtel et Anton, 2003; Jansen et al., 2005; Jourdan, 2015).

Les fleurs possèdent :

- Un calice tubulaire, court présentant 3 dents inégales.
- Une corolle tubulaire à base, puis divisée en 3 lobes jaunes inégaux.
- Des étamines dont une seule fertile, bifide, l'anthère présentant un large éperon courbé à la base.
- Un ovaire infère, trilobulaire, surmonté d'un style terminé par un stigmate simple et en crochet.



Figure 8 : Fleurs de *Curcuma longa* L.

II.3.5. Usage thérapeutique

Le *Curcuma longa* L a fait l'objet de préparations thérapeutiques en vertu de ces propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires rapportées à travers les siècles dans différentes parties du monde. On lui attribue même des effets thérapeutiques semblables aux classes de médicaments suivants : **(Wun, 2003)**

- Les médicaments anti-inflammatoires.
- Antidépresseurs (Prozac).
- Chimiothérapie.
- Anticoagulants (aspirine).
- Antidouleur.
- Médicaments contre le diabète (Metformine).
- Médicaments contre l'arthrite.
- Médicaments contre les maladies inflammatoires de l'intestin.
- Médicaments contre le cholestérol (Lipitor).
- Les stéroïdes.

II.3.6. Composition chimique

La poudre de *Curcuma* issue du rhizome séché est constituée chimiquement de plusieurs fractions, une fraction volatile (huiles essentielles) et un autre non volatile (Lucie, 2010). La partie non volatile du *Curcuma* est riche en vitamine et minéraux comme le fer et manganèse, c'est donc une épice alcalinisante qui est efficace pour l'acidose tissulaire qui est souvent responsable des états inflammatoires (shahide, 2016).

La partie non volatile du *Curcuma* est composé aussi des protéines, lipides, sucres et composés phénoliques (curcumines). Ce tableau résume les valeurs énergétique et nutritionnelle pour 100 g de poudre de *Curcuma long L*.

Tableau 4 : Valeur nutritionnelle et énergétique de *Curcuma longa L* (shahide, 2016)

Energie	354kcal	Minéraux	Vitamines		
Eau	11.36g	Calcium	183.00mg	Vit B1	0.15mg
Protéine	7.38g	Cuivre	603.00ug	Vit B2	0.23mg
Sucre	3.21g	Fer	41.42mg	Vit B3	5.14mg
Fibre	21.10g	Magnésium	193.00mg	Vit B6	1.80mg
Omega 3	0.48g	Manganèse	7083mg	Vit B9	39.00ug
Omega 6	1.69g	Phosphore	268.00mg	Vit E	3.10mg
Omega 9	1.66g	Potassium	2525.00mg	Vit C	13.4ug

Les rhizomes produisent 2 à 7% d'huile essentielle, qui est rouge orangé et légèrement fluorescente. Ses constituants principaux sont un sesquiterpène, zingiberène (25%) et ses dérivés cétoniques : la turmérone (35%) et l'artumérone (dehydroturmérone) (12%). L'huile essentielle de *curcuma* se compose également en petites quantités de monoterpènes oxygénés, associés à de petites quantités de sesquiterpènes hydrocarbonés et de monoterpènes hydrocarbonés (figure 09) (Jansen *et al.*, 2005;Christelle, 2010).

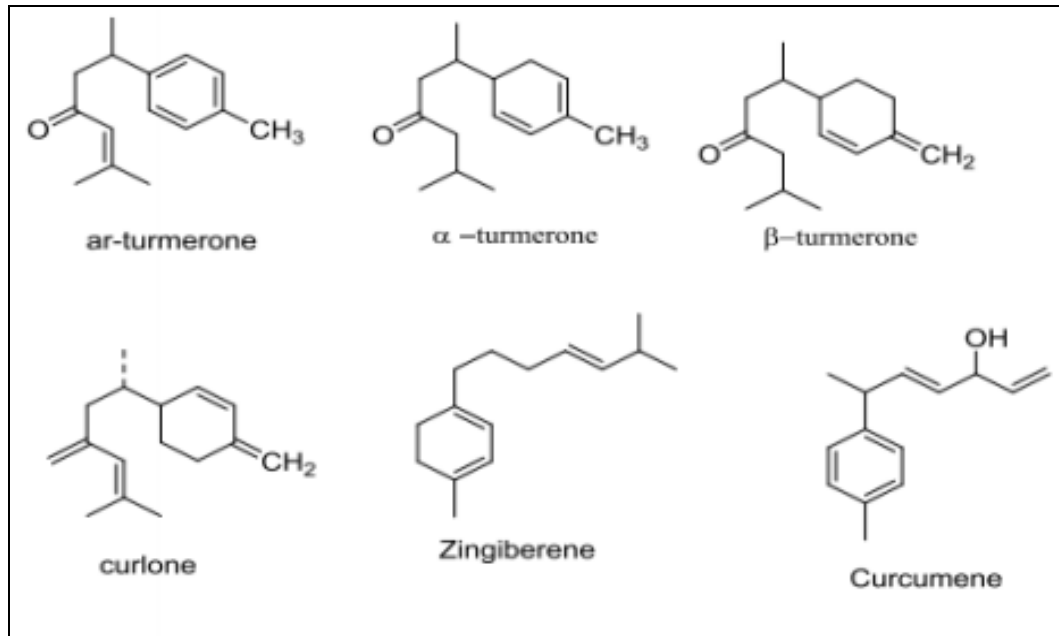


Figure 9 : Structure chimique des constituants de l'huile essentielle de *Curcuma longa* (dohare *et al.*, 2008)

Deuxième partie :
Expérimentale

Chapitre I :
Matériels et Méthodes

I.1. Matériels

I.1.1 . Matériel végétal

La plante *Curcuma longa* L qui fait l'objet de notre étude chimique et biologique, a été identifiée et achetée chez un herboriste de la wilaya d'el Oued, sous forme de rhizome sec.

I.1.2. Matériel animal

Dans cette étude nous avons utilisé 20 rates femelles de type *Wistar* Albinos (figure 10), pesant entre 158 g et 230 g au début de l'expérimentation provenant de l'animalerie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV) de l'Université Echahid Hamma Lakhder. El Oued.



Figure 10 : Rates *Wistar* Albinos

➤ Conditions d'élevage

Les animaux ont été utilisés pour l'étude *in vivo* après une période d'adaptation de deux semaines ; aux conditions de l'animalerie, à une température ambiante. Les rates ont été séparées dans des cages séparément ; à accès libres à l'eau et l'alimentation. Sur la base des cages est déposée une épaisse couche de copeaux de bois renouvelé chaque jour.

I.1.3 Produits chimiques et réactifs

Bicarbonate de sodium; Folin Ciocolteu; acide sulfurique (H_2SO_4); méthanol; molybdate d'ammonium ; $AlCl_3$; $Na H_2 PO_4$; acide gallique; 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH); gélatine; quercitrine; vanilline; chlorure d'hydrogène (HCl); acide ascorbique; chloroforme; méthionine; acide acétique; sérum physiologique 0.9 %; acide salicylique; tampon tris; DTNB; acide thiobarbiturique (TBA); l'eau oxygéné (H_2O_2); sodium monobasique; ethanol; glutathion réduit (GSH) ; NaCL; acide phosphorique (H_3PO_4) .

I.2. Méthodes

I.2.1. Extraction des polyphénols

I.2.1.1. Préparation de la poudre

Les rhizomes de *Curcuma longa* ont été lavés deux fois à l'eau de robinet et une troisième fois à l'eau distillée pour éliminer les impuretés éventuelles. Puis séchées à l'air libre, Selon **Ribéreau., (1968)**, le séchage a une importance majeure pour l'extraction des composés phénoliques, car les cellules végétales contiennent des enzymes susceptibles de provoquer des modifications dans la composition phénoliques de la plante. Les rhizomes ont été coupés en petits morceaux, puis broyés à l'aide d'un broyeur électrique. Les poudres ainsi obtenues ont été tamisées à l'aide d'un tamiseur automatique, pour obtenir des poudres fines et homogènes. Ces poudres ont été conservées dans des bocaux en verre teintés, hermétiquement scellés et à l'abri de la lumière (**Shameli et al., 2012, Jain et Parihar., 2018**).

I.2.1.2. Préparation des extraits

Extraction par macération à froid (extraction solide/liquide), la macération est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale dans le méthanol aqueux pour extraire les principes actifs (**Patil, M et al., 2013**). Le protocole d'extraction est le suivant (Figure 11):

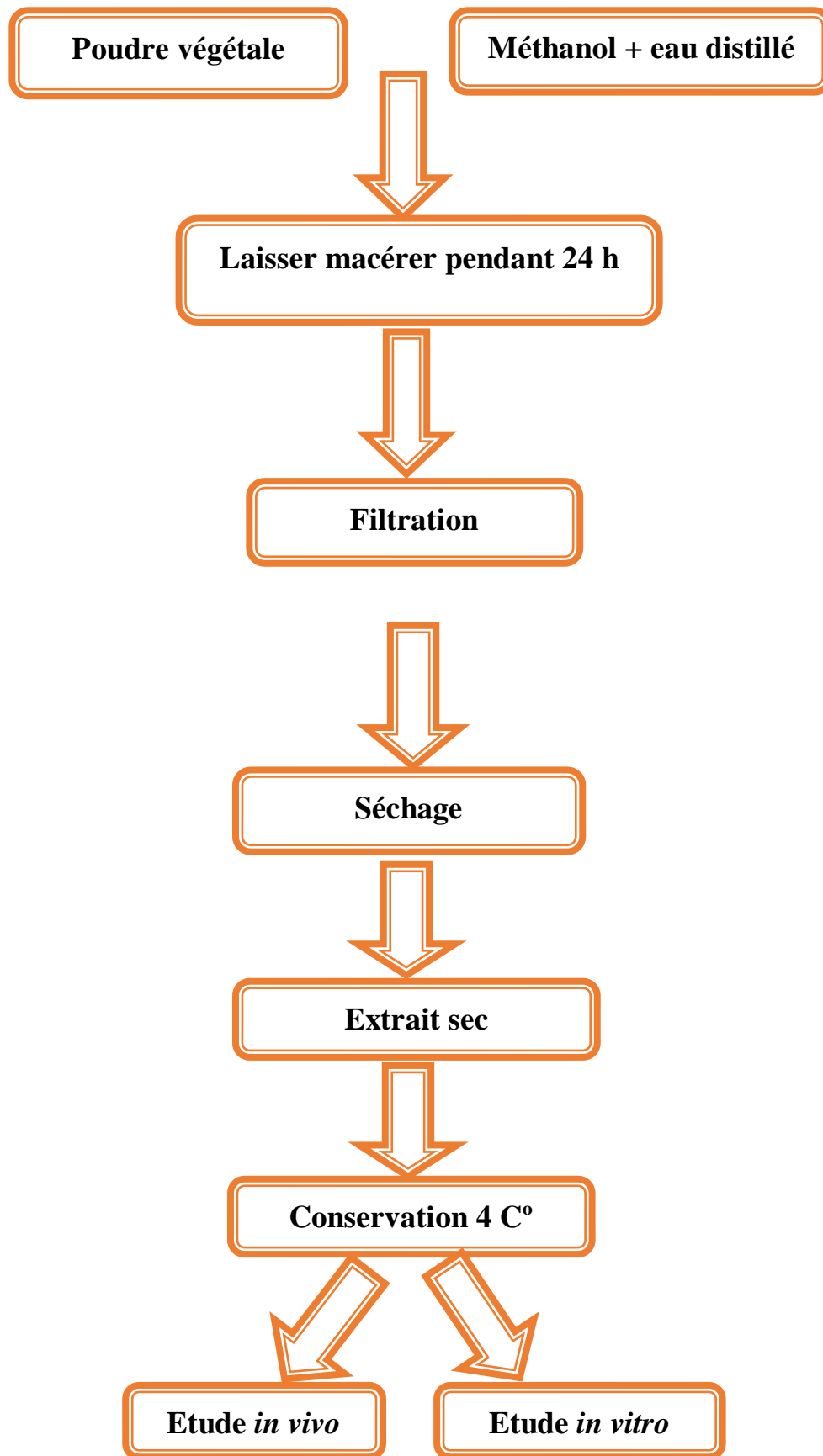


Figure 11 : Protocole de préparation d'extrait hydrométhanolique (Kaneria *et al.*, 2012)

I.2.2 . Détermination du rendement

D'après **Kaneria et al., (2012)**, le rendement d'extrait a été déterminé selon la formule suivante:

$$R \% = (PEB/PMV) \times 100$$

R : Rendement exprimé en %.

PEB : Poids de l'extrait brut (g).

PMV : Poids de matière végétale (g).

II.3. Détermination des teneurs en principes actifs

I.2.3. Détermination des teneurs en principes actifs

➤ Dosage des polyphénols

La teneur en phénols totaux est déterminée par spectrophotométrie UV-Vis, en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) lors de l'oxydation des phénols dans une solution alcaline en mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) qui se traduit par une coloration bleu foncé (**Vuorela, 2005**).

Selon **Vuorela, (2005)**, la quantification des composés phénoliques se fait par la préparation dans des tubes à essai 0,2 ml de solution d'extrait végétale avec 1 ml de réactif de Folin Ciocalteu (diluée 10 fois). On ajoute après 4 min 0,8 ml d'une solution de bicarbonate de sodium (7,5%). Après 30 min, le contenu phénolique a été mesuré à 765nm avec UV-Vis spectrophotomètre. La courbe d'étalonnage a été réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations (20 - 100 μ g/ml), dans les mêmes conditions de dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en μ g équivalent d'acide gallique par mg d'extrait sec (μ g d'EAG/mg). Toutes les mesures sont répétées 3 fois (**Bonnaillie et al.,2012**).

➤ Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ avec lequel ils forment des complexes acides stables soit avec le carbonyle (C=O) en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. Par ailleurs, $AlCl_3$ peut également former des complexes acides labiles avec les groupements orthodihydroxyles éventuellement présents sur le noyau A et/ou B des flavonoïdes (**Chang *et al.*, 2002**).

1ml d'extrait dilué dans le méthanol, avec 1ml d' $AlCl_3$ (solution méthanolique de 2%). Après une heure de réaction, l'absorbance est lue par spectrophotomètre à 420 nm. La courbe d'étalonnage a été tracée en prenant la quercétine comme un standard à différentes concentrations (mg/ml), dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons, le test est répété 3 fois.

➤ Dosage des tannins totaux

Les tanins sont des substances phénoliques de structures variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau (**Roux *et al.*, 2007**). Il existe deux groupes chez les végétaux supérieurs basés sur des différences structurales : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables, ou tanins condensés (**Fiorucci, 2006**).

Le dosage des tannins totaux est fait par l'ajout d'une quantité de 50 mg de gélatine dans un mélange aqueuse contient un volume de 0.5 ml de l'extrait avec 0.5 ml d'eau distillée après agitation le mélange est laissé 15 min à une température de $4^{\circ}C$; ensuite il est filtré par papier Whatman n°1. Le surnageant obtenu dilué avec de l'eau ensuite dosé par la méthode de Folin Ciocalteu (**Adewusi *et al.*, 2011**).

La courbe d'étalonnage a été réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations, dans les mêmes conditions de dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait sec. Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

I.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante

I.2.4.1. Test du diphenylpyryl-hydrazyl (DPPH)

Le test DPPH, qui utilise une réaction d'oxydoréduction avec le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl radical, a été utilisé pour déterminer la capacité anti-oxydante des extraits. Le radical a une couleur violette en raison de l'électron non apparié d'azote et, après réaction un piègeur de radicaux de, la réduction de DPPH-H (2,2 diphényl-1-picrylhydrazin) est formé, qui est jaune (Villano, *et al.*, 2007). Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (Molyneux., 2004).

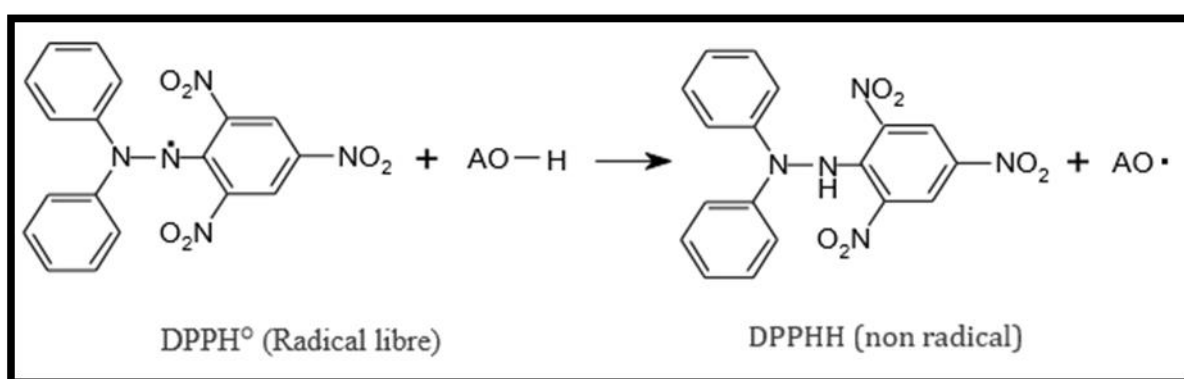


Figure 12 : Réduction par des antioxydants de DPPH•enDPPHH

Un volume de 100 µl de l'extrait végétale est ajouté à 2 ml de la solution méthanolique du DPPH• (100 µM) fraîchement préparée. Les mesures d'absorbance par spectrophotométrie UV-Vis a été lues à 517 nm après 30 min de temps d'incubation à température ambiante. L'absorbance d'un échantillon blanc contenant la même quantité de méthanol et de solution de DPPH• dans les mêmes conditions opératoires a été faite. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH• donné par la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = (A_0 - A_1 / A_0) \times 100$$

A₀ : L'absorbance de contrôle.

A₁ : L'absorbance d'échantillon.

Le pourcentage d'inhibition a été porté en fonction de la teneur en phénol et la IC₅₀ a été déterminée (IC₅₀ : c'est la concentration inhibitrice de 50 est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH•).

I.2.4.2. Test de phosphomolybdate (PPM)

Le test est basé sur la réduction du molybdène de l'étage d'oxydation (VI) à l'étage d'oxydation (V). Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate / Mo (V) à un pH acide. On mesure la diminution de la coloration du complexe molybdène (VI) en présence d'antioxydant (Muanda, 2011 ; Ramu *et al.*, 2012). L'activité antioxydante de phosphomolybdate est déterminée selon le protocole décrit par Ramalakshmi *et al.*, (2008) qui consiste à ajouter 1.35 ml du réactif de phosphomolybdate (0.6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium) à 150µl d'extrait. Après 90 minutes d'incubation dans le bain-marie à 95°C on laisse les tubes refroidir à température ambiante, puis on mesure l'absorbance à 695 nm.

Une gamme d'étalonnage à base d'acide ascorbique (20-100µg/ml) est également réalisée dans les mêmes conditions. Les résultats sont ainsi exprimés en µg d'équivalent d'acide ascorbique par mg d'extrait. Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

I.2.5. Expérimentation animale

Après une période d'adaptation, les rates ont été réparties en quatre lots de cinq rates chacun. L'identification individuelle des rates se fait par numérotation au niveau de la queue.

I.2.5.1. Traitement des rates

Afin de mettre en évidence l'effet préventif de la plante *Curcuma longa* L contre les maladies cardiovasculaires. Nous avons dissous la méthionine et le curcuma dans un l'eau physiologie et Tween 80. Les rates ont été réparties comme suit. Toutes ont subi un traitement.

- **Le groupe 1** a reçu du tween à 1% dans une solution saline
- **Le groupe 2** a reçu de la méthionine uniquement
- **Le groupe 3** a reçu de la méthionine + *curcuma*
- **Le groupe 4** n'a reçu que du *curcuma*.

Ils ont été administrés par voie orale pendant 15 jours

I.2.5.2. Sacrifice et préparation des prélèvements

Après traitement, les rates sont sacrifiées après une nuit à jeun. Au moment du sacrifice, la récupération du sang s'effectue pour toutes les rates, il est recueilli dans des tubes l'un sec qui subit une centrifugation à 5000 tours/min pendant 15 minutes, ensuite le sérum résultant est récupéré puis conservé dans le réfrigérateur, il est destiné au dosage des paramètres biochimiques. Le dosage des différents paramètres a été réalisé dans le laboratoire d'hôpital 19 Mars – el Oued.

I.2.5.3. Dissection et prélèvement d'organes

Après avoir prélevé l'échantillon de sang, nous avons procédé à la dissection de toutes les souris, en prélevant le foie et le cœur, en le rinçant à l'eau physiologique, puis en le divisant en deux parties. L'une est placée dans le formol 1% dans des flacons stériles pour l'étude histologique, et l'autre partie au congélateur pour le dosage des paramètres du stress oxydatif.

I.2.6. Dosage des protéines tissulaires

I.2.6.1. Préparation de l'homogénat des organes

1g de tissu du foie de chaque rate (chaque lots) étudiés, a été broyé avec 9 ml de solution tampon tris (TBS), qui est composé de tris 50 mM, NaCl 150 mM avec un pH 7.4, puis centrifugée à 3000 tours/min pendant 20 minutes, le surnageant obtenu est conservé à -20°C en vue d'effectuer le dosage des paramètres du stress oxydatif.

I.2.6.2. Dosage des malondialdéhyde (MDA) tissulaires

I.2.6.1.1. Principe

Le principe de dosage de MDA est basé sur la réaction entre les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde avec le réactif d'acide thiobarbiturique (TBA), ce dernier constitue d'acide trichloroacétique (TCA) 20%; acide thiobarbiturique (TBA) 0,375%; Butylhydroxytoluène (BHT) 0,01%; chlorure d'hydrogène (HCl) 1 N ; pour donner des chromophores de couleur rose absorbant à 532 nm (**Yagi, 1976**).

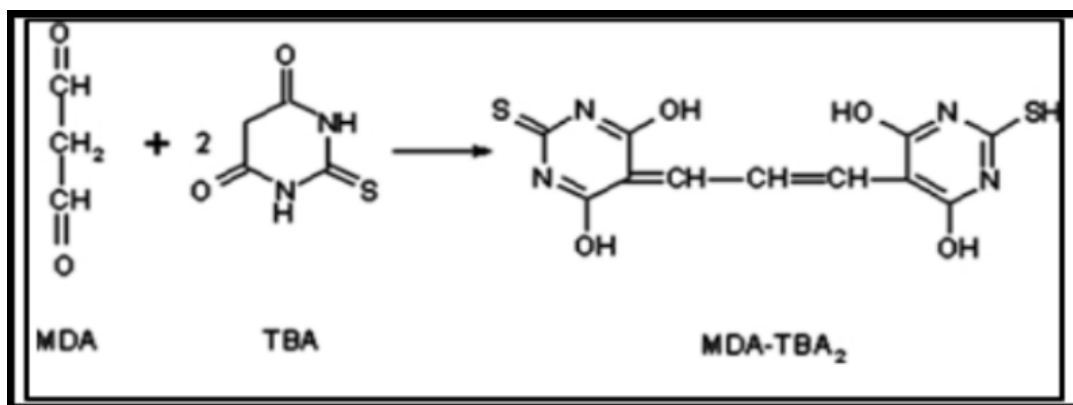


Figure 13 : Schéma de la réaction entre le TBA et le MDA (Ohkawa, 1979)

I.2.6.1.2. Mode opératoire

Pipeter dans des tubes à essai en verre à vis, 100ul d'échantillon, 400ul de réactif TBA et fermer les hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie à 100 °C pendant 15 minutes. Puis le refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Centrifuger le tout à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La concentration du malondialdéhyde est obtenue par la formule suivante :

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/mg de protéine}) = (\text{Do échantillon} / 1.53 \times 10^5) / \text{mg de protéine}$$

I.2.6.3. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH)

I.2.6.3.1. Principe

Pour l'évaluation du taux de glutathion réduit chez les souris, nous avons utilisé la méthode d'Ellman, 1959. Il s'agit d'une réaction chimique évoluant en une seule étape suivie d'une détection colorimétrique. Le réactif d'Ellman (Acide 5,5'-dithiobis- (2nitrobenzoïque) ou DTNB est réduit par les groupes thiol (SH) libérant ainsi l'acide 2-nitro 5-mercaptobenzoïque, qui est à un pH alcalin présente une absorbance à 412 nm selon la réaction suivante (Figure 14):

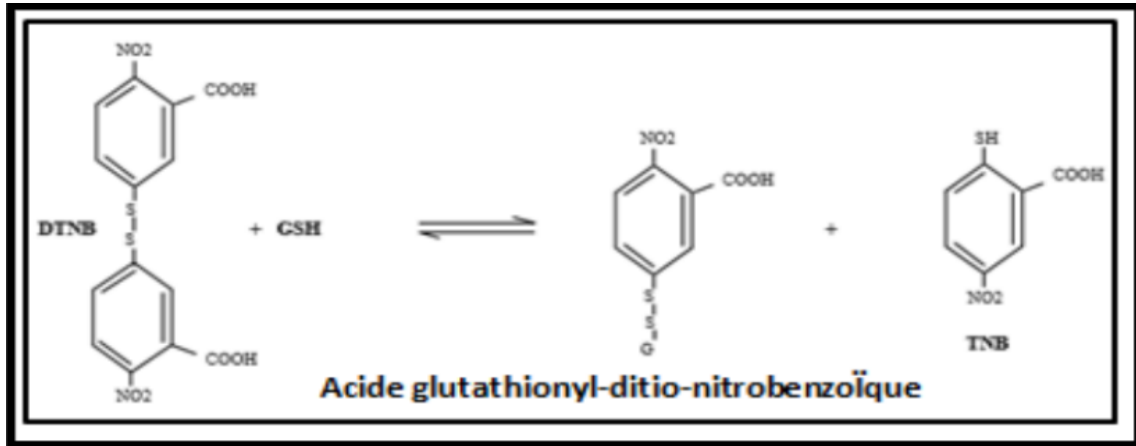


Figure 14 : Schéma de réaction entre le DTND et le GSH (Araujoet *al.*, 2008)

1.2.6.3.2. Mode opératoire

A 800 μL d'homogénat est ajouté 200 μL de l'acide salicylique (0.25%). Mélanger et laisser 15 minutes dans le réfrigérateur puis centrifuger à 1000 t/min pendant 5 minutes. Ensuite on mélangés 500 μL de surnageant avec 1000 μL de tampon tris (tris 0.4 mol, NaCl 0.02 mol pH=8,9) et 25 μL de DTNB (0,01 mol.L⁻¹). Après 5min d'incubation, la lecture de l'absorbance s'effectue à $\lambda= 412$ nm.

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GSH (nM /mg de protéine)} = (\text{Do} \times 1 \times 1.525) / (13133 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg de P})$$

GSH : Concentration de glutathion.

DO : Densité optique

1 : Volume de mélange de protéine.

1.525 : Volume total de mélange.

13133 : Constante d'absorption des groupes SH à 412 nm.

0.8 : Volume de solution homogène sans protéine existe dans 1ml.

0.5 : Volume de solution surnagent. P : protéine.

I.2.6.4. Dosage de l'activité enzymatique du catalase (CAT)

I.2.6.4.1. Principe

L'activité de catalase consiste à mesurer la disparition de H₂O₂ induite par la catalase contenue dans l'échantillon en mesurant l'absorbance de H₂O₂ à 560nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

I.2.6.4.2. Mode opératoire

Dans des tubes à essais en mélanger 1ml de tampon phosphate (KH₂PO₄, 0.1 M, PH7.2), 0.975 ml de H₂O₂ fraîchement préparé (0.091 M) et de 0.025 ml de la source d'enzyme (homogénat). L'absorbance est lue à 560nm chaque minute pendant 2 minutes (Aebi, 1984). L'activité enzymatique est calculée en termes d'unité internationale par minute et par gramme de protéine (UI/min/g de protéine), selon la formule :

$$UI/g = (2.3033/T) \times (\log A_1/A_2) /g \text{ de protéine.}$$

A₁ : Absorbance à la première minute.

A₂ : Absorbance à la deuxième minute.

T : Intervalle de temps en minute.

I.2.7. Dosage des paramètres lipidiques

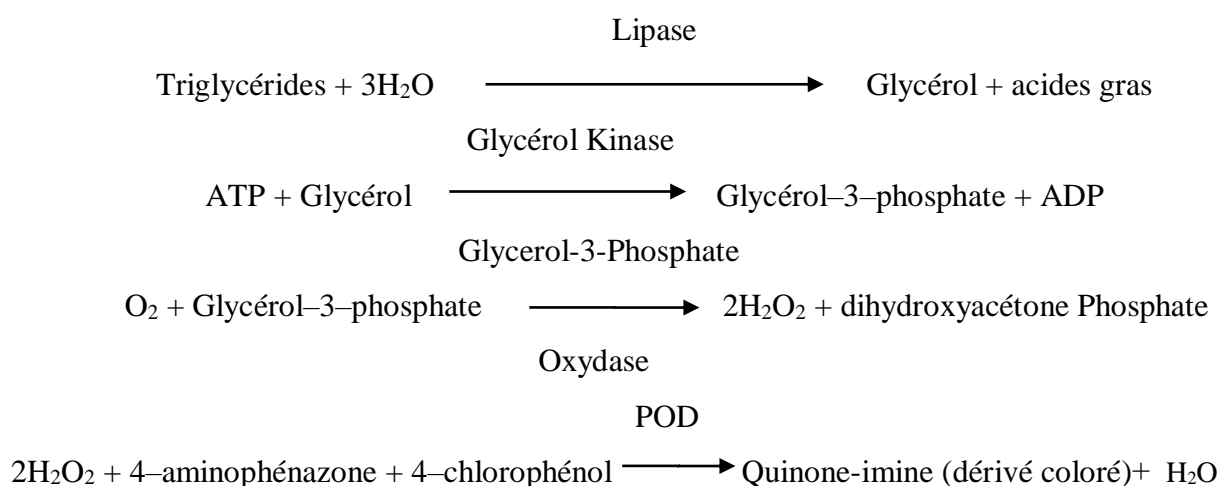
I.2.7.1. Dosage des triglycérides

La méthode de dosage utilisée est basée sur la technique enzymatique-colorimétrique avec les réactifs de la société siemens.

I.2.7.1.1. Principe

Les triglycérides sont transformés en glycérol et en acides gras libres par la lipase. Le glycérol est ensuite transformé en glycérol-3-phosphate par le glycérol kinase, puis en peroxyde d'hydrogène par la glycérol-3-phosphate-oxydase. Un complexe coloré se forme à partir du peroxyde d'hydrogène, de la 4-aminophénazone et du 4-chlorophénol sous l'influence catalytique de la peroxydase. L'absorbance du complexe est mesurée au point de virage de la

réaction à 505/694 nm (**René, 2010**)

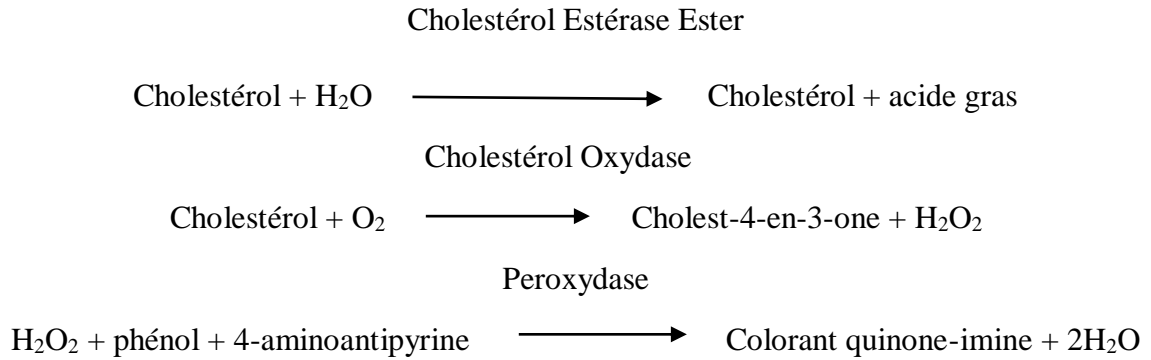


I.2.7.2. Dosage du cholestérol total

La méthode de dosage utilisée est basée sur la technique enzymatique-colorimétrique avec les réactifs de la société Siemens

I.2.7.2.1. Principe

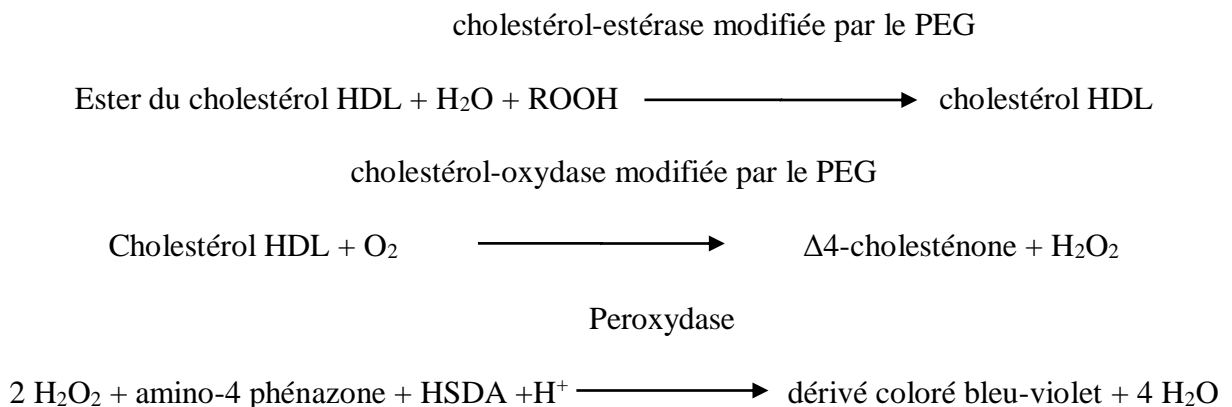
Les esters de cholestérol sont hydrolysés par le cholestérol estérase en cholestérol et en acides gras libres. Le cholestérol est converti en cholestérol-3-one par le cholestérol oxydase en présence d'oxygène pour former du peroxyde d'hydrogène. Un complexe coloré se forme à partir du peroxyde d'hydrogène, de la 4-aminoantipyrine et du phénol sous l'action catalytique de la peroxydase. L'absorbance du complexe est mesurée au point de virage de la réaction à 505/694 nm (**René C. 2010**)



I.2.7.3. Dosage du cholestérol-HDL

I.2.7.3.1. Principe

En présence de sulfate de magnésium, le sulfate de dextran forme des complexes hydrosolubles avec LDL, les VLDL et les chylomicrons ; ces complexes sont résistants vis-à-vis d'enzymes modifiées par du polyéthylène glycol (PEG). La concentration en HDL cholestérol est déterminée par voie enzymatique à l'aide de cholestérol-estérase et de cholestérol-oxydase modifiées par du PEG (environ 40% des groupes aminés de ces enzymes sont couplés à du PEG). Sous l'action de cholestérol-estérase modifiée par le PEG, les esters du cholestérol des HDL sont scindés en cholestérol et en acides gras. Dans une réaction ultérieure catalysée par la cholestérol-oxydase modifiée par le PEG, le cholestérol est transformé, en présence d'oxygène, en Δ^4 -cholesténone avec formation d'eau oxygénée (Kimberly, 1999).



L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en cholestérol HDL. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 583 nm.

I.2.7.4. Méthode de mesure de la concentration de cholestérol LDL

Le dosage se fait selon une méthode de calcul directe par la formule de **Friedwald et al. (1972)**.

$$\text{LDL-C (mg/dl)} = \text{Cholesterol total (mg/dl)} - [\text{HDL-C (mg/dl)} + \text{TG}/5] \text{ (mg/dl)}.$$

I.2.8. Dosage des paramètres biochimiques

I.2.8.1. Dosage de transaminase (TGO)

La séparation de l'échantillon est faite par une centrifugation à 4500 tours/min, le plasma est récupéré. La détermination de la concentration de TGO sanguin est faite par la technique automatisée « Diatron pictus 200 ». Les résultats sont exprimés par UI/L. L'activité d'aspartate amino transférase est déterminée par une méthode cinétique. Le schéma réactionnel est le suivant :

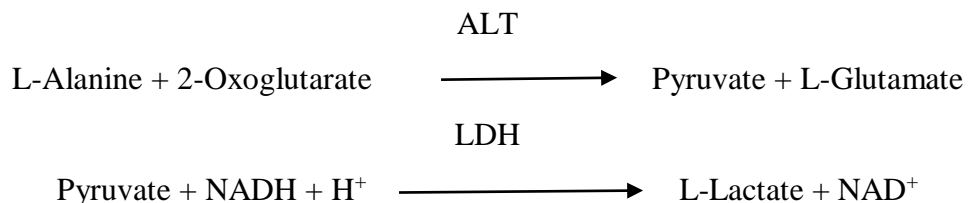


Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité aspartate amino transférase dans l'échantillon (**Valdigue, 2000**)

I.2.8.2. Dosage de transaminase TGP

I.2.8.2.1. Principe

Le dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT ou TGP), est selon une méthode développée par Wroblewski et La Due, et optimisée par Henry et Bergmeyer (conforme aux recommandations de l'IFCC). Le schéma réactionnel est le suivant :



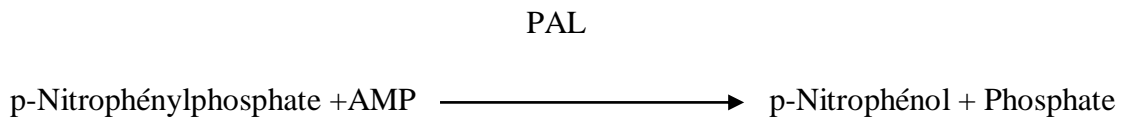
La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD⁺ et proportionnelle à l'activité ALT dans le spécimen, est mesurée à 340 nm. L'absence de P5P contribue à une forte amélioration de la stabilité du réactif reconstitué (**Bergmeyer, 1978**).

I.2.8.3. Dosage de l'activité des phosphatases alcalines (PAL)

Dans notre étude, la phosphatase alcaline a été déterminée suivant une méthode cinétique par un Autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de phosphatase alcaline (**Wenger, 1984**).

I.2.8.3.1. Principe

La phosphatase alcaline (PAL) catalyse le transfert du groupe phosphate depuis le p-nitrophénylphosphate (pNPP) vers le 2-amino-méthyle-1propanol en libérant du p-nitrophénol et du phosphate, selon la réaction suivante :



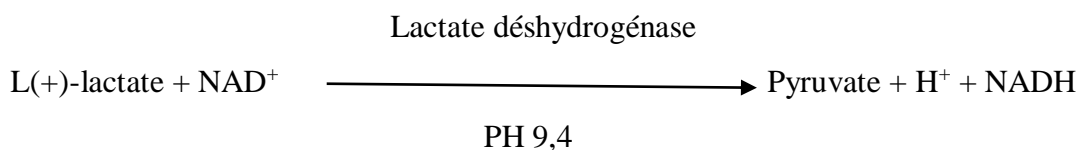
La vitesse de formation du p-Nitrophénol, déterminé de manière photométrique est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon testé.

I.2.9. LDH

I.2.9.1. Principe

La méthode LDH utilise un tampon de L-lactate d'un pH de 9,4, et ceci à la place du substrat. En présence de NAD⁺, la LDH oxyde le substrat pour produire du pyruvate et du NADH qui absorbe à 340 nm. La concentration d'activité de la LDH est mesurée en tant que réaction cinétique à 340/700 nm, proportionnelle à la quantité de LDH présente dans l'échantillon (**Tietz, 2006**)

La réaction réversible catalysée par la LDH est la suivante :



I.2.10. Etude histologique

Dans notre étude, les foies et les cœurs des rates ont été soumises à une autopsie complète après conservation dans un milieu approprié (formaldéhyde 10%). Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de département des sciences de la nature et de la vie.

I.2.11. Analyses statistiques

L'évaluation statistique est effectuée par le logiciel Minitab et Excel, chaque expérience réalisée dans cette étude est répétée trois fois, les valeurs sont représentées par la moyenne \pm écart type. La différence entre le contrôle et les différents tests, est déterminée par le test ANOVA uni-variée.

Ce test nous donne le degré de signification P où on dit que la différence :

NS : Différence non significative $P > 0.05$.

* : Différence significative $P < 0.05$.

** : Différence hautement significative $P < 0.01$.

*** : Différence très hautement significative $P < 0.001$.

Chapitre II :
Résultats et discussion

I. Résultats

I.1 Rendement de l'extrait du *Curcuma longa* L

La plante étudiée dans ce travail a été macérée 3fois dans le méthanol pendant 24h. L'extrait brut récupéré après évaporation a été pesé pour déterminer le poids sec obtenu. Le tableau 02 résume le rendement et les caractéristiques d'extrait.

Tableau 05 : Rendement et caractéristiques de l'extrait de la plante étudiée

Caractéristiques	Rendement	Couleur	Aspect
Extrait de la plante	9.96 % \pm 2.99	Orange foncé	Pâteux

I. 2. Détermination des teneurs des composés bioactifs

I.2.1. Dosage de polyphénols

L'étude quantitative de l'extrait réalisée par le dosage spectrophotométrique utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu avait pour objectif la détermination de la teneur totale en polyphénols présent dans l'extrait de *Curcuma longa* L. La teneur de ces composés a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, exprimée en μg d'acide gallique/mg d'extrait sec.

I.2.2. Dosage des flavonoïdes

A partir de la courbe d'étalonnage de la quercitrine, la teneur en flavonoïde a été déterminée dans l'extrait, exprimée en μg de quercetine / mg d'extrait sec.

I.2.3. Dosage des tannins totaux

Le dosage des tannins totaux dans l'extrait *Curcuma longa* L est exprimée en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait sec, été estimé par la même méthode de Folin-Ciocalteu.

Les résultats de ce dosage (polyphénols et flavonoïdes et tannins totaux sont représentés dans le tableau (6).

Tableau 6 : Teneurs en polyphénols flavonoïdes et tannins totaux de *Curcuma longa* L

Composés bioactifs	Polyphénols	Flavonoïdes	tannins totaux
	(μg d'acide gallique/ mg d'extrait)	(μg de quercetine / mg d'extrait sec)	(μg d'acide gallique / mg d'extrait sec)
L'extrait aqueux de <i>Curcuma longa</i> L	Moy \pm ES	Moy \pm ES	Moy \pm ES
	119.285 \pm 6.05	70.41 \pm 2.12	78.07 \pm 5.82

I. 3. Evaluation de l'activité antioxydante

Pour la mesure de l'activité antioxydante d'extrait de la plante étudiée, y'a compris le test de DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle), et le test de phosphomolybdate (PPM). La capacité antioxydante de *Curcuma longa* L a été déterminée et comparée à l'activité de composé anti-radicalaire, l'acide ascorbique comme étalon.

I.3.1. Piégeage du radical libre DPPH•

L'activité antioxydante de l'extrait de la plante étudiée vis-à-vis du radical DPPH• a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires. Cet extrait montre une activité antiradicalaire de $37,13 \pm 3.41 \mu\text{g/ml}$ moins importante en comparaison avec l'acide ascorbique $3.58 \pm 0.15 \mu\text{g/ml}$.

I.3.2. Pouvoir réducteur du phosphomolybdate (PPM)

C'est une méthode permet d'évaluer la capacité antioxydante qui est traduit par la formation d'un complexe de phosphomolybdène. L'estimation de cette activité d'extrait de *Curcuma longa* L. est exprimée en équivalence d'acide ascorbique, a montré que l'extrait de cette plante a un pouvoir réducteur remarquable pour le test de molybdate avec une valeur de $55.75 \pm 8.83 \mu\text{g}$ en équivalent d'acide ascorbique/mg d'extrait. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau (7).

Tableau 7 : Activité antioxydante d'extrait de *Curcuma longa* L

Tests antioxydants	DPPH(IC ₅₀) µg/ml	Test de PPM
L'extrait de <i>Curcuma longa</i> L	Moy±ES	Moy ± ES
	37.13± 3.41	55.75± 8.83

I.4. Expérimentation animale

I.4.1. Influence du traitement sur le profil lipidique

Le taux des triglycérides plasmatiques présentent une augmentation hautement significative ($P < 0.01$) chez les rats témoins hyperhomocystéimique (Hhcy) et non significative chez les rats des lots *curcuma* (cur) par rapport aux rats normales, et le lot méthionine+*curcuma* (méth+cur) présentent une diminution non significative ($P > 0.05$) du taux du triglycéride plasmatique par rapport aux rats témoins Hhcy. Les rats témoins Hhcy présentent toujours une hypercholestérolémie et augmentation non significative chez les lots cur en comparés aux rats normaux et aucune différence significative n'a été notée chez les deux lots méth+cur par rapport aux rats témoins Hhcy. Nous avons remarqué une diminution significative ($P < 0.05$) de concentration plasmatique de HDL chez le groupe Hhcy et de façon non significative ($P > 0.05$) chez le groupe cur par rapport au groupe témoin normale, cependant, cette concentration augmenté de façon significative ($P < 0.05$) chez les rats du groupe méth+cur et par rapport au groupe Hhcy. L'étude statistique montre que la concentration sérique des LDL est augmentée de façon significative ($P < 0.05$) chez le groupe Hhcy par apport témoin normale. D'autre part on remarque une diminution significative dans le groupe cur par apport témoin normale, et d'une façon non significative ($P > 0.05$) chez le méth+cur par apport aux témoins Hhcy (Figure15).

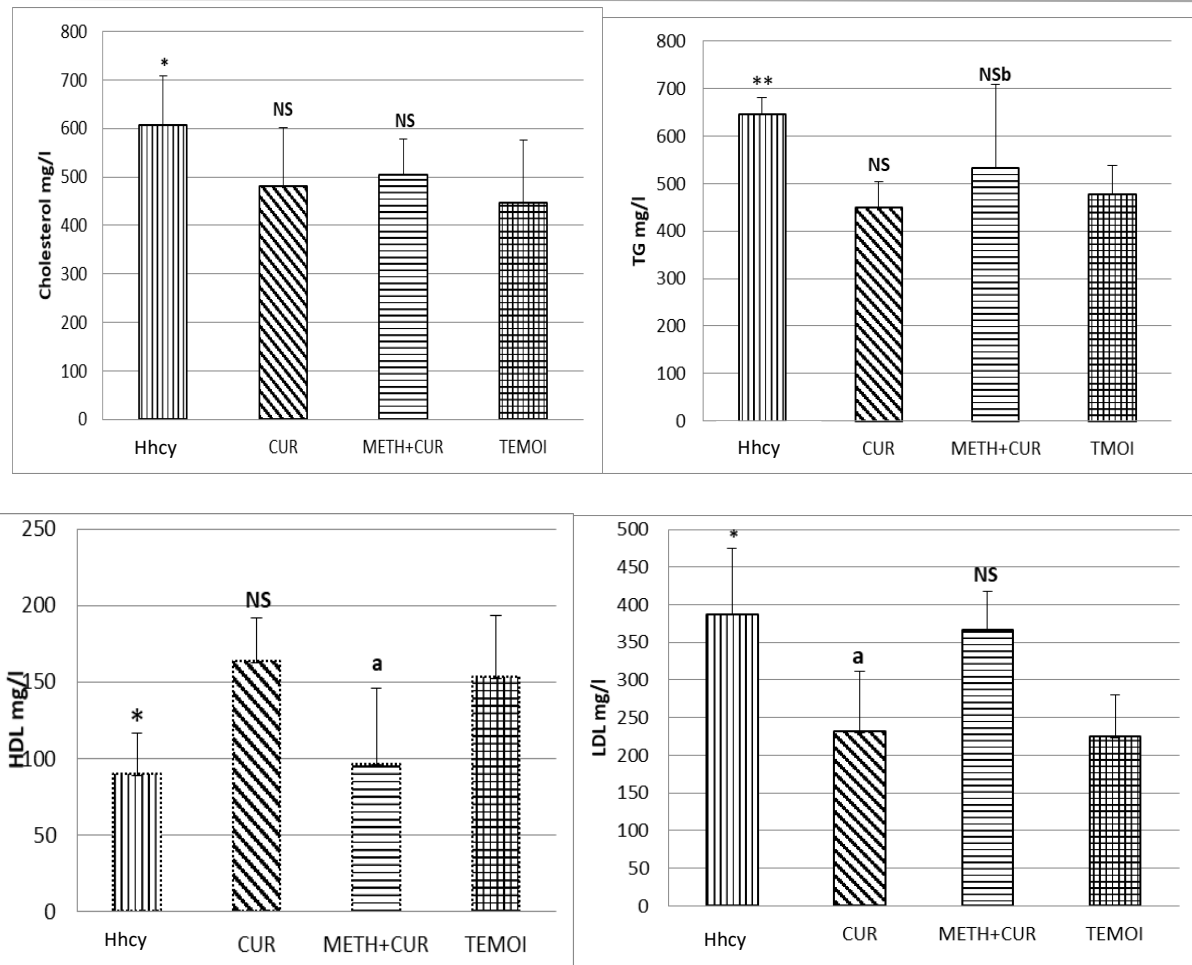


Figure 15 : Variation des paramètres lipidiques chez les rates des différents groupes

I.5. Influence du traitement sur la fonction hépatique et cardiaque

On observe une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration plasmatique de TGP chez le groupe témoin Hhcy et aucune différence significative ($P > 0.05$) n'a été vu pour le groupe cur comparé par le groupe témoin normal, une diminution significative ($P < 0.05$) de TGP chez les groupes Méth +cur par rapport au témoin Hhcy. Par ailleurs le taux plasmatique de TGO est augmenté non significativement ($p > 0.05$) chez le groupe Hhcy et le groupe cur montrent une augmentation non significative ($P > 0.05$) par rapport au groupe normale, le groupe méth +cur montrent une augmentation non significative ($P > 0.05$) par rapport au groupe Hhcy témoin. Le taux plasmatique de PAL est augmenté hautement significativement ($P < 0.01$) chez le groupe témoin Hhcy par rapport au groupe normal. Les lots méth traités par l'extrait représentent une différence non significative ($p > 0.05$) en comparaison avec le lot témoin Hhcy. En revanche, on remarque une différence significative ($p < 0.05$) chez les lots cur par rapport au groupe témoin Hhcy. Nous avons constaté une augmentation très significative du taux du LDH ($p < 0.01$) chez les rats Hhcy, par rapport aux

témoins sains. Par contre chez les rats traités par l'extrait *curcuma longa* L nous avons observé une diminution significative ($P < 0.05$), et

aucune différence significative ($P > 0.05$) dans le taux de LDH chez le groupe cur respectivement en comparaison avec les rats Hhcy (Figure16).

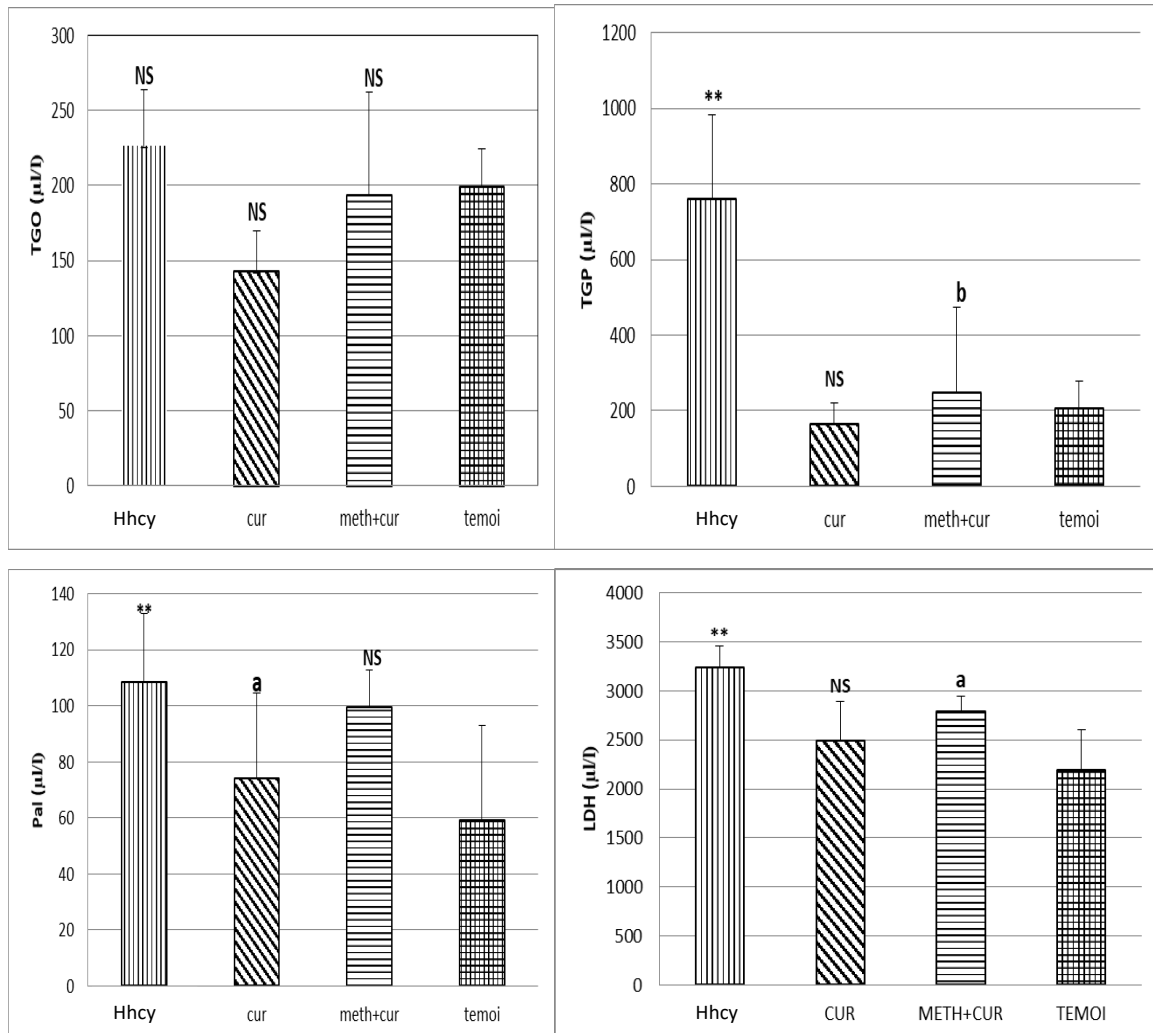


Figure16 : Variation des enzymes hépatiques et la lactate déshydrogénase chez les rates

I.6.Effet de l'extrait de *Curcuma longa* L sur la peroxydation lipidique aux niveaux cardiaque et hépatique

L'effet de la méthionine sur la peroxydation des lipides chez les rates, est illustré dans la figure17.

Nous avons constaté une augmentation significative ($P < 0.05$) du taux du MDA dans le cœur et hautement significative ($p < 0.01$) au niveau hépatique chez les rats Hhcy témoins par

rapport aux rats témoins sains. Par ailleurs, nous avons noté une diminution non significative ($P > 0.05$) dans le cœur et le foie, chez les rats administré l'extrait en comparaison avec les Témoins normale . D'autre part, chez le groupe méth +cur on constate une diminution très significative ($P < 0.01$) dans le taux de malondialdéhyde au niveau du cœur et hépatique.

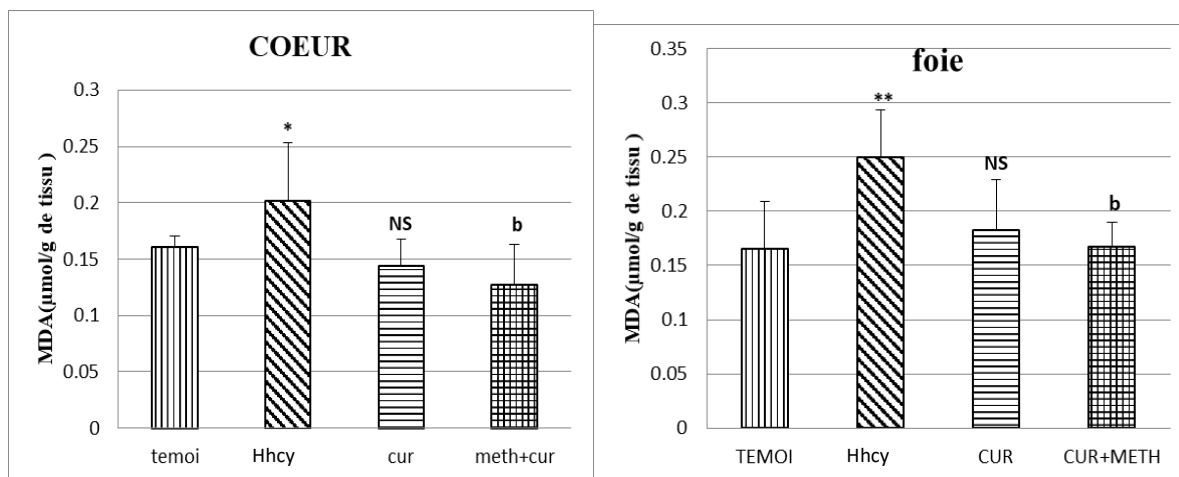


Figure 17 : Variation du taux de MDA chez les rates des différents groupes

I.7. Effet de l'extrait de *Curcuma longa* L et méthionine sur le niveau de GSH cardiaque et hépatique

La (figure18) détermine l'effet de l'extrait sur la variation de glutathion réduit (GSH) dans les cellules cardiaques et hépatiques chez les rates recevant la méthionine, prétraitée ou non par l'extrait de *Curcuma longa* L. Chez les rats Hhcy témoins, nous avons constaté une diminution significative du taux du GSH hépatique ($p < 0.05$), et de façon très hautement significative dans le cœur ($p < 0,001$) par rapport aux témoins sains. Par contre chez les rates traités par l'extrait *curcuma longa* L nous avons observé une augmentation significative ($P < 0.05$) au niveau de GSH dans le foie et de façon très significative ($P < 0.01$) au niveau de cœur par rapport les rates Hhcy. De plus, nous avons noté que le taux de GSH chez les rates administrés d'extrait hydrométhanolique de *curcuma longa* L, une augmentation non significative au niveau de GSH dans le foie et le cœur en comparaison avec le lot normale.

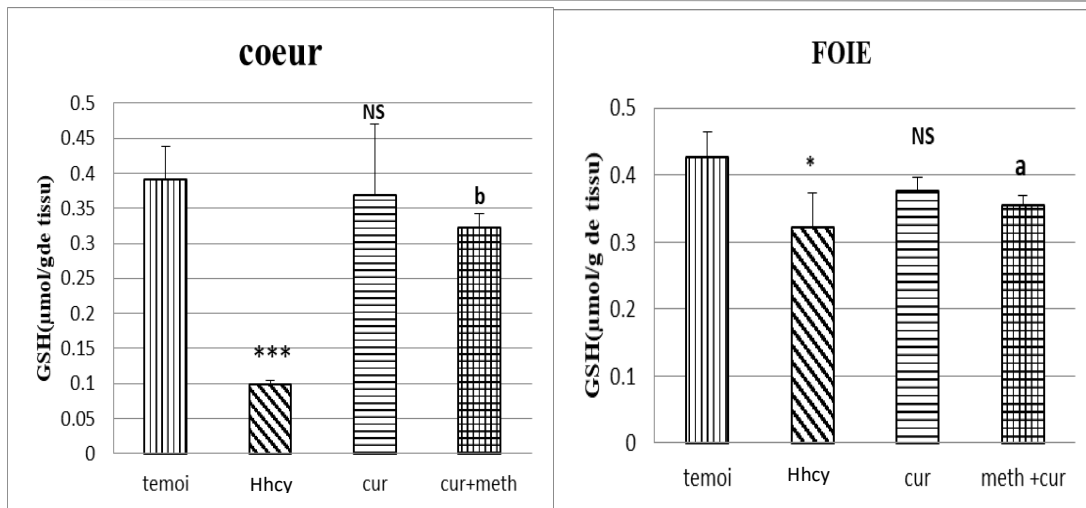


Figure 18 : Variation de glutathion réduit (GSH) chez les rates

I.8. Effet de l'extrait *Curcuma longa* L et la méthionine sur l'activité de la CAT cardiaque et hépatique

Les résultats obtenus montrent une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) dans le cœur et très significative ($p < 0,01$) dans le foie, chez les rate Hhcy par rapport aux rats témoins. Nous avons noté une augmentation hautement significative ($P < 0,01$) de l'activité de la CAT dans le cœur et non significative ($P > 0,05$) dans le foie chez le groupe méth+cur par rapport témoin Hhcy. D'autre part nous avons remarqué chez le groupe traités par l'extrait de *curcuma longa*L (cur), aucune différence significative ($P > 0,05$) dans l'activité enzymatique du catalase dans le cœur et une augmentation hautement significative ($P < 0,01$) dans le foie par rapport au groupe témoin normale .(figure19).

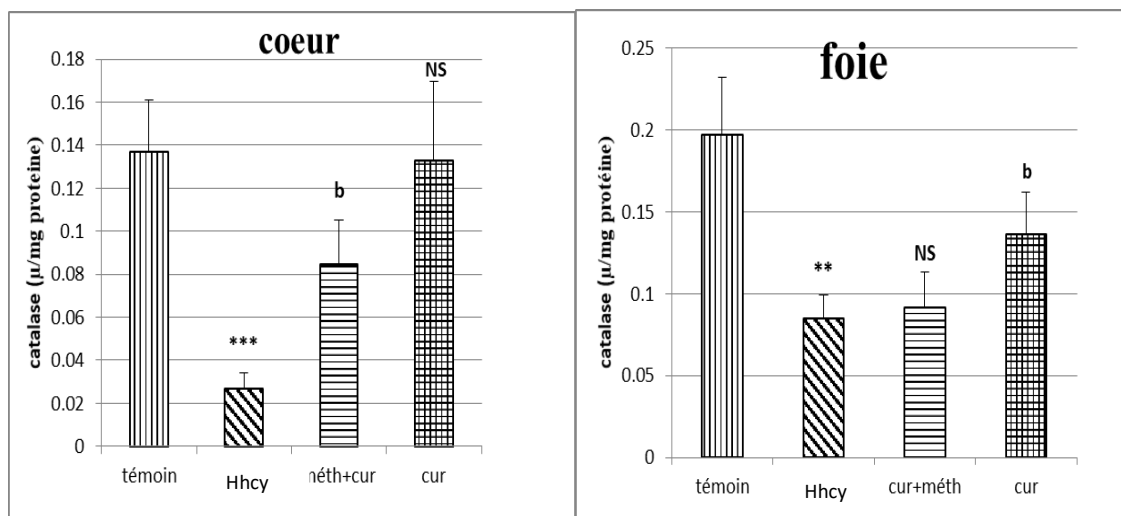


Figure19 : Variation d'enzyme antioxydant CAT chez les rates

I.9. Etude histopathologie

L'observation microscopique des cœurs et foies (différents groupes) est représentés dans la figure (20) et figure (21).

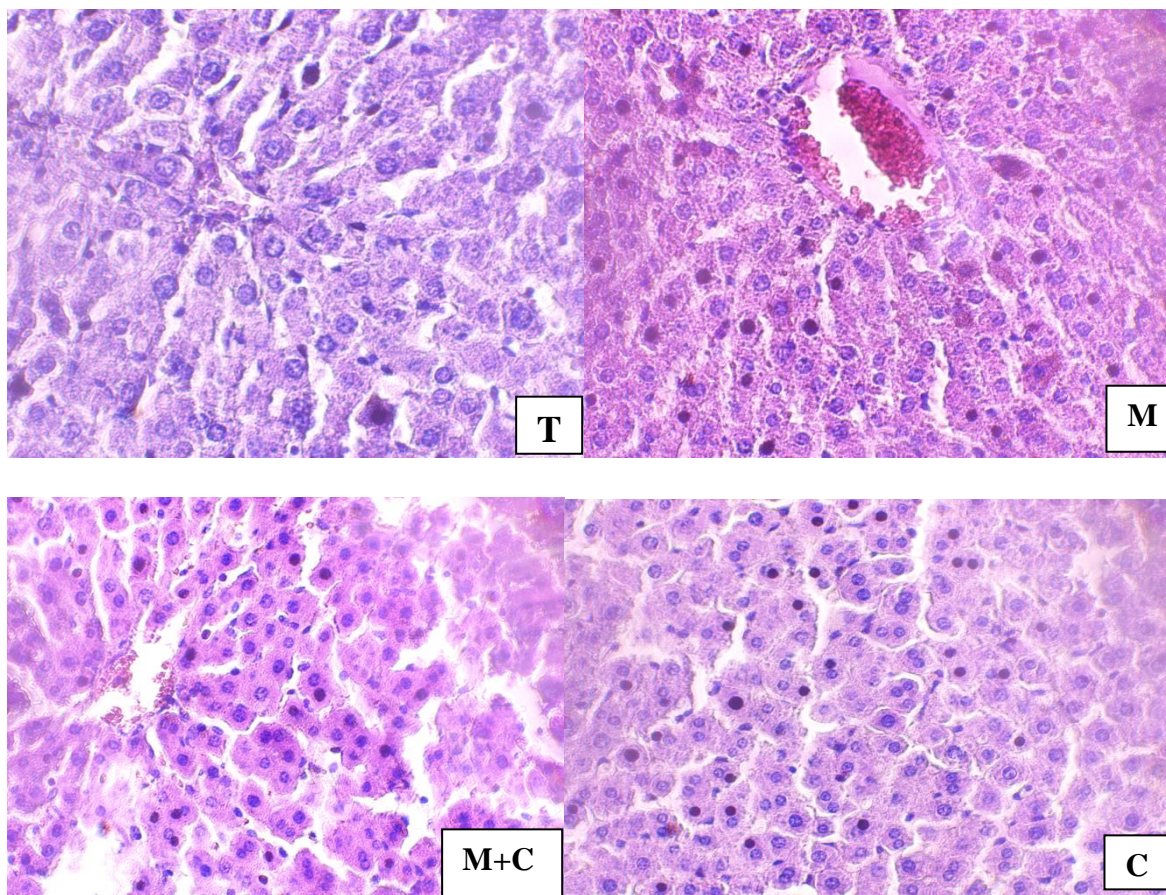


Figure 20 : Coupes histologiques des foies de différents groupes (X40).

(**T** : témoin, **M** : méthionine, **M+C** : méthionine + curcuma, **C** : curcuma)

Comparées aux témoins, les coupes histologiques du foie des rates *wistar* administrées laméthioninependant 15 jours, ont permis de révéler plusieurs altérations structurales caractérisées par une accumulation autour des différentes structures vasculaires de matériel conjonctif, par contre chez les groupes (Témoin , *Curcuma*), les cellules sont en forme normale. Et chez le groupe Méth+CUR on observe une légère altération structurale.

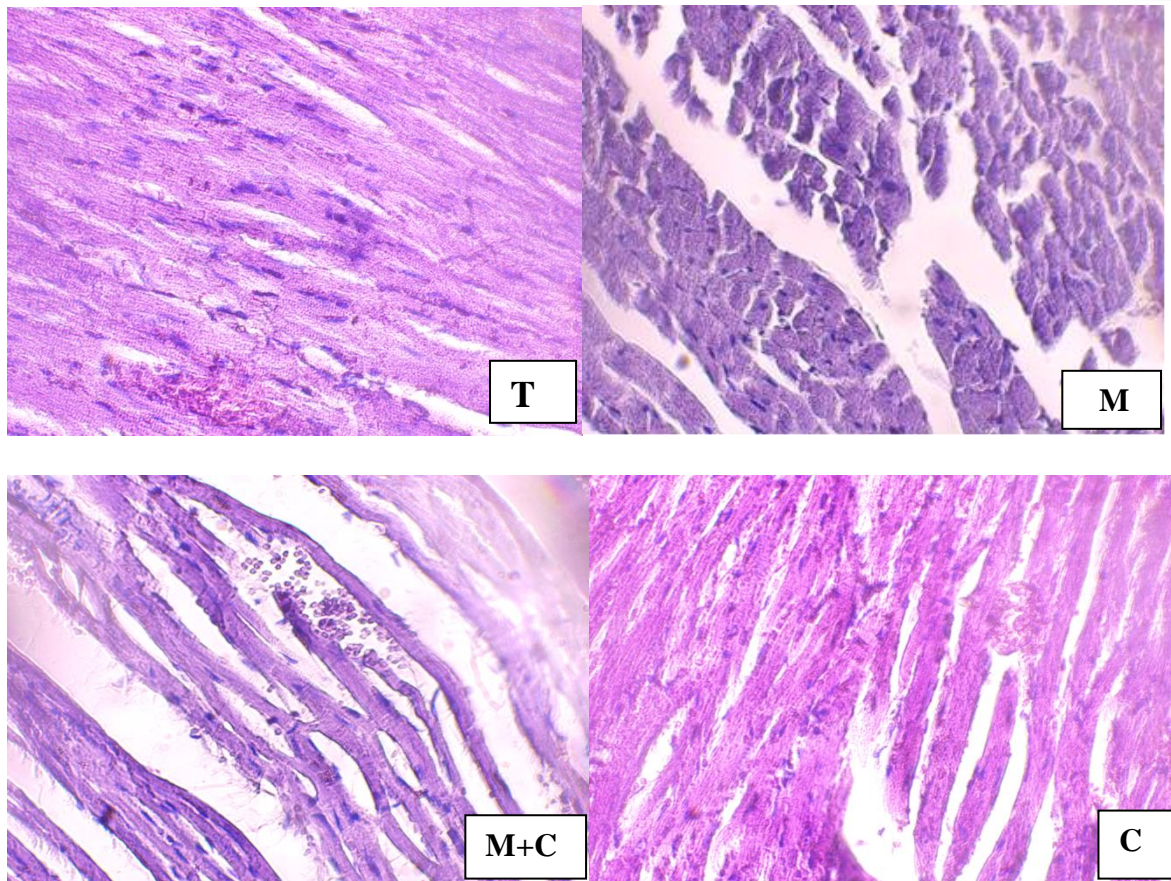


Figure 21 : coupes histologiques de cœur de différents groupes (x40).

(T : témoin, M : méthionine, M+C : méthionine + curcuma, C : curcuma)

Comparées aux témoins, les coupes histologiques du cœur de rates *wistar* administrées la méthionine pendant 15 jours, montre une morphologie intacte des fibres musculaires du cœur. Par contre, l'histologie pour le groupe (M) présente une lyse dans la structure des fibres musculaires. Pour les groupes (Cur), (M+C), on observe une morphologie intacte comparable à celle du groupe témoin.

Discussion

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiquement actifs (Iserin, 2001).

Le *Curcuma longa L* a fait l'objet de préparations thérapeutiques en vertu de ces propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires rapportées à travers les siècles dans différentes parties du monde (Wun, 2003).

L'extraction par les solvants organiques et inorganiques est une étape essentielle pour la préparation des extraits de plantes. Cependant, le choix des solvants d'extraction influence le rendement en métabolites secondaires des extraits. En effet, Khoddami *et al.*, (2013) ont montré que le méthanol et l'eau ainsi que leur mélange à différents ratios sont les solvants les plus utilisés pour une meilleure récupération de composés phénoliques. La plante de notre étude a donné un rendement de $9.96 \% \pm 2.99$, de couleur orange foncé et d'un aspect pâteux.

L'extraction est faite par un mélange hydroalcoolique (méthanol/eau). Le méthanol est capable d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires et de faciliter l'extraction d'un grand nombre de composés polaires ainsi que des composés de moyenne et de faible polarité (Seidel, 2005).

Il a été démontré que l'addition de l'eau au solvant organique augmente la solubilité des composés par modulation de la polarité de ces derniers, probablement à cause de l'affaiblissement des liaisons d'hydrogène dans les solutions aqueuses et la solubilisation des molécules (Albano et Miguel, 2010). Les rendements d'extraction dépendent de plusieurs facteurs à savoir la méthode d'extraction, le temps de macération, la température, le choix du solvant (Tabart *et al.*, 2007 ; Tiwari *et al.*, 2011 ; Terblanche *et al.*, 2017).

Le dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des tannins a été effectué dans cette étude, car la majorité des effets pharmacologiques des plantes sont attribués à ces substances (Amarowicz, 2007; Gulcin *et al.*, 2010). Ces composés possèdent aussi diverses activités biologiques telles que les activités anti-inflammatoire, antibactérienne, antivirale, antiallergique, antithrombotique et vasodilatatrice qui peuvent être reliées à leur activité antioxydante (Gulcin *et al.*, 2010).

L'analyse quantitative de *Curcuma longa L* a révélé la présence d'une teneur considérable très riche en polyphénols, flavonoïdes et tanins totaux ($119.285 \pm 6.05 \mu\text{g}$ d'acide gallique /mg d'extrait et $70.41 \pm 2.12 \mu\text{g}$ de quercitrine / mg d'extrait sec et $78.07 \pm 5.82 \mu\text{g}$ d'acide gallique /mg d'extrait) respectivement, par contre les résultats obtenus par **Rajeshwari Sahu et Jyoti Saxena (2013)** ; **Shirin et Jamuna (2010)** sont plus importants de l'ordre ($260 \pm 0.25 \mu\text{g}$ d'acide gallique / mg d'extrait et $79.36 \pm 0.01 \mu\text{g}$ de quercitrine / mg d'extrait sec et $1.12 \pm 0.05 \mu\text{g}$ d'acide gallique / mg d'extrait) pour les polyphénols et flavonoïdes et tanins totaux ce qui peut être attribué à la méthode d'extraction (**Ya-Qin et al., 2008**).

De plus, la période, le lieu de récolte, les conditions et la durée de stockage influencent grandement sur les teneurs en composés phénoliques (**Podsędek, 2007**).

Le taux des tanins dans une plante dépend de deux facteurs principaux : le stade de développement végétatif et les conditions environnementales. Leur concentration varie considérablement entre les différentes espèces végétales et au sein de la même espèce où elle dépend du degré de maturité, de l'âge des feuilles, des fleurs et de la saison (**Skadhauge et al., 1997**).

La présence des tanins dans nos extraits suggère la capacité de cette plante à jouer un rôle majeur en tant qu'agent antimicrobien et antioxydant (**Bruneton, 1993**).

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour estimer l'activité antioxydante *in vitro*. Certaines d'entre elles reposent sur la capacité réductrice d'un composé comme étant un indicateur significatif de son potentiel antioxydant, d'autres reposent sur la mesure d'une molécule à piéger les composés radicalaires (**Javanmardi et al., 2003**). Les deux méthodes appliquées dans notre étude sont : la méthode de piégeage du radical libre DPPH•, la méthode de pouvoir réducteur du phosphomolybdate (PPM).

Le DPPH• est un radical stable qui peut être utilisé pour évaluer le pouvoir de réduction des radicaux libres par des antioxydants. En effet, le DPPH• absorbe à 517 nm et cette absorbance diminuera proportionnellement à la présence de substances oxydantes (**Han et al., 2016**). Le pouvoir antioxydant de l'extrait de *Curcuma longa L* a été évalué par le dosage du pourcentage d'inhibition de l'oxydation du DPPH•. La principale caractéristique de tous les composés phénoliques qu'ils contiennent un ou plusieurs groupes hydroxyles fixés sur un cycle benzénique peuvent former une DPPH• réduite (**Min et Ebeler, 2008**; **Subirade et**

al.,1995). Ils brisent la chaîne de ces derniers grâce à leur effet donneur d'atome d'hydrogène (**Adedapo et al.**,2008; **Min et Ebeler**, 2008; **Subirade et al.**, 1995).

L'activité antiradicalaire de l'extrait *Curcuma longa* L a été représentée par une IC₅₀ égale à 37.13± 3.41µg/ml, ce résultat est différent un peu que celui trouvé par **Maizura, M., et al (2011)** pour la même espèce *Curcuma longa* Lavec une IC₅₀ égale à 64.6 ± 2.4 µg/ml, peut être dû aux conditions d'extractions, des solvant utilisés et les méthodes suivies. L'activité antioxydante de polyphénols dépend généralement de leurs structures chimiques, du nombre et de la distribution des groupements hydroxyles (**Popovici et al.**, 2009). Ils peuvent piéger et neutraliser les radicaux libres, inhiber les enzymes responsables de la formation des radicaux libres et être des chélateurs de certains ions métalliques (**Dugas et al.**,2000 ; **Spiridon et al.**, 2011). Les polyphénols qui contiennent le noyau catéchol dans leur structure présentent un pouvoir réducteur du fer élevé, cela est dû à la participation des groupements OH liée au noyau catéchol (**Degraft-Johnson et al.**,2007).

La capacité antioxydante totale est basée sur la réduction de Mo (VI) en Mo (V) en présence des composés antioxydantes et la formation d'un complexe (phosphate /Mo (V) d'une couleur verte (**Nithiyananthamet al.**, 2012; **Ghedadbaet al.**, 2015). Cette capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (**Djeridane et al.**, 2006). L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait *Curcuma longa* L par la méthode de molybdate était de (55.75± 8.83µg d'acide ascorbique / mg d'extrait) Depuis une vingtaine d'années, il est établi que l'hyperhomocystéinémie est un facteur de risque cardiovasculaire indépendant pour les maladies coronariennes, cérébrovasculaires, vasculaires périphériques et les thromboses veineuses, même pour une élévation plasmatique modérée (**Eikelboom et al.**, 1999; **Bostom et al.**,1999).

L'étude de l'impact d'hyperhomocystéinémie sur l'induction du stress oxydatif au niveau du cœur et foie, indique l'établissement de ce dernier par l'augmentation du MDA, la diminution du GSHet de l'activité de l'enzyme antioxydante : CAT. Nos résultats sont net accord avec les études qui ont rapportés qu'un taux élevé d'homocystéine est à l'origine de la survenue des lésions tissulaires cardiaques des rats hyperhomocystéinémiques, ainsi que la réduction de défenses antioxydants (**Miller et al.**,2000 ;**Vahabzed et al.**,2008)

L'activité sérique des enzymes TGO, TGP, PAL et LDH est souvent utilisée comme marqueur préjuger la fonction hépatique ou lorsqu'il existe une lésion cellulaire et de lésion cardiovasculaire. L'administration d'une dose de la méthionine a provoqué une augmentation significative de l'activité des enzymes hépatiques et cardiaques dans le sang (TGP, PAL et LDH) et augmentation non significative TGO, qui peut être due à des lésions tissulaires dans le cœur ou en raison des modifications de la perméabilité de la membrane cellulaire (**Ahmed et Urooj, 2012**). En outre, TGO, TGP, PAL et LDH sont les biomarqueurs les plus sensibles, directement impliqués dans l'étendue des dommages cellulaires et de la toxicité, car ils sont cytoplasmiques et libérés dans la circulation après l'atteinte cellulaire. Ces résultats sont en accord avec les résultats **de Derouiche(2016)**.

Les animaux protégés par l'extrait présentaient des niveaux d'activité enzymatique (TGO, TGP, PAL et LDH) comparables avec ceux des rates témoins.

Plusieurs auteurs ont rapporté l'effet d'un régime riche en méthionine sur l'augmentation des triglycérides plasmatiques et du cholestérol tels **Koyama (1995)**. L'exposition des rates à la méthionine provoque une augmentation significative des triglycérides, du cholestérol et des LDL et diminution HDL en comparaison avec les rates témoins. Ces résultats sont en accord avec les travaux d'Ansari **et Bhandari(2008)** ; **Puneet Kapoor et al., (2008)**. Deux anciens marqueurs de risque cardiovasculaire ont également été dosés, ainsi nous avons noté une baisse des HDLc et une augmentation des LDL, ces évolutions sont considérées comme les principaux facteurs intervenant dans l'apparition de maladies cardiovasculaires (**the expert panel CNCEP., 2002** ; **Assmann et al., 2002**) et d'autant plus que ces variations sont associées à une augmentation du cholestérol total et des TG. Nos résultats sont en accord avec ceux **de Hidirolou et al.,(2004)** et **de Obeid et Herrmann (2009)**

Les résultats obtenus montrent aussi une diminution non significative du cholestérol, des triglycérides et diminution significative du LDL chez le groupe reçu l'extrait *Curcuma longa* L suivi par la méthionine. Ce résultat est confirmé par l'étude **d'Puneet Kapoor et al.,(2008)**; **Ramírez-Bosca et al., (2000)**. Dans la présente étude, la capacité de l'extrait végétale de moduler le profil lipidique chez les rates recevant la méthionine représente un bon signal de cardioprotection (**Wun, 2003**).

La peroxydation lipidique est une altération oxydative des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires, catalysée par les radicaux libres (**Bougatef et al., 2009**).

Nos résultats indiquent une augmentation bien définie de concentration de MDA tissulaire et diminution d'enzyme antioxydant CAT de foie et cœur chez les rates traitées par la méthionine par rapport aux témoins normal. Ces résultats sont en accord avec les études de **Ataie et al.,(2010);Ansari et maBhandari (2008)**.La méthionine attribuait l'augmentation des taux de MDAdû à une peroxydation lipidique accrue, conduisant à des dommages tissulaires **Ataie et al.,(2010)**. Nos résultats montrent que le traitement des rates par l'administration de l'extrait des *Curcuma longa* L empêche de manière significative ladiminution d'enzyme antioxydant CAT et l'augmentation de la concentration de MDA induite par laméthionine dans le foie et le cœur. Suggérant que l'extrait de *Curcuma longa* L exerce un effet protecteur et propriété antioxydante. Les flavonoïdes peuvent également agir comme désactivateurs des radicaux libres, ce qui a un effet direct sur la formation de malondialdéhyde (**Kwanget al., 2003**).

Le glutathion réduit (GSH), constitue la première ligne de défense antiradicalaire (C'est un piègeur direct des radicaux libres, un co-substrat nécessaire pour l'activité de GPx et de GST et participe dans la régénération de la vitamine E oxydée). C'est l'agent détoxifiant le plus efficace de l'organisme (**Haleng et al., 2007**). Sa diminution significative chez les rates traitées par la méthionine dû à une production élevée des espèces réactives de l'oxygène, et donc d'un faible pouvoir de défense du système antiradicalaire. L'augmentation significative des taux de GSH cardiaque et hépatique chez les rates prétraitées avec l'extrait *Curcuma longa*L suggère que l'extrait améliore les performances antioxydantes de l'organisme (**Wun, 2003**). Des résultats semblables ont été obtenus avec la même plante **Ansari etUma(2008) ; Ahmed et al.,(2012) ;Derouiche(2016)**.

Les résultats de l'examen histologique du groupe méthionine, révèlent une grande diversité structurale du foie, c'est une accumulation autour des différentes structures vasculaires de matériel conjonctif. Ces résultats sont en accord avec les résultats de **Bescond et al.,(1999)** et **Zerrouk1 et al.,(2010)**, etformation de lyse et d'endolyse et la présence de cellules avec un noyau clair. De plus, une étude menée par **Halifeoglu et al.,(2004)** a montré que l'Hcy constitue un facteur de risque pour les maladies du foie, notamment la cirrhose hépatique. au niveau du cœurune lyse dans la structure des fibres musculairesCes résultats sont en accord avec les résultats de **Derouiche(2016)**.

Ainsi, l'augmentation des transaminases (indicateurs principales des maladies cardiaques et hépatiques, notamment la cytolyse et la nécrose), explique en partie les images de lyse des fibres musculaires cardiaques et du tissu hépatique. Ces résultats concordent avec l'étude de **Bin et al., (2013)**, qui a montré une augmentation significative des transaminases chez des rats recevant un régime alimentaire enrichi par la méthionine.

De nombreuses investigations ont démontré que l'HHcy induite un stress oxydant dans différentes cellules, notamment les cellules endothéliales (**Gammoudi et al., 2013**) par une déplétion du glutathion (GSH) (**Bhandari et al., 2008**), par inhibition des enzymes antioxydantes telles que le glutathion peroxydase et le superoxyde dismutase (**Bhagwat et al., 2009 et Tulay et al., 2012**) et par une diminution du niveau tissulaire des vitamines C, A et E (**Tulay et al., 2012**). Par conséquent, l'élévation du stress oxydant et l'affaiblissement des capacités antioxydantes produisent des dégâts tissulaires (lyse et nécrose) à travers les modifications oxydatives des biomolécules cellulaires. De plus, la capacité de l'Hcy à oxyder les particules du LDL représente un facteur de risque supplémentaire (**Shidfar et al., 2009**) car, les LDL oxydés seront à l'origine des événements cellulaires et moléculaires intervenant dans le développement des lésions athéromateuses (**Gammoudi et al., 2013**).

Les traitements par l'extrait de la plante *curcuma longa* L exerce un effet correcteur sur les anomalies structurales de tous les organes étudiés. Il a été bien démontré que des extraits de plantes appartenant au genre *curcuma* exercent une activité anti-inflammatoire, Chimiothérapie, anti-cholestérol, Anticoagulants (**Wun, 2003**) qui expliquent l'effet protecteur de notre extrait sur les différents organes étudiés. En fait, cette protection semble liée à la diminution des taux d'Hcy et par conséquent, la suppression de leurs effets antioxydant exercés sur les différents organes.

Conclusion générale

Conclusion générale

Les plantes médicinales contiennent plusieurs métabolites secondaires tels que les polyphénols qui jouent un rôle important dans la prévention et le traitement de plusieurs maladies associées au stress oxydatif comme le cancer, les maladies neurodégénératives, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires et le vieillissement. Ce travail a montré l'importance de l'espèce *curcuma longa* L pour son usage dans la phytothérapie qui a un intérêt réel et potentiel par ses activités antioxydante qui ont été établies aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*.

Les résultats montrent que l'extrait hydrométhanolique obtenu par simple macération a donné une grande teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes ($119.285 \pm 6.05 \mu\text{g}$ d'acide gallique / mg d'extrait et $70.41 \pm 2.12 \mu\text{g}$ de quercétine / mg d'extrait sec) respectivement et des valeurs élevées en tannins totaux ($78.07 \pm 5.82 \mu\text{g}$ d'acide gallique / mg) respectivement. Ces molécules sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies. Ces activités antioxydantes ont été évaluées par différentes méthodes à savoir : le test anti radicalaire avec une IC_{50} de $37.13 \mu\text{g/ml}$, et la méthode de phosphomolybdate présentés par les valeurs (55.75 d'acide ascorbique / mg d'extrait) respectivement.

En outre, les dosages réalisés ont montré une relation plus probable entre l'HHcy et l'hyperlipidémie (une corrélation positive significative de l'Hcy avec le cholestérol total, les LDL et les TG et une corrélation négative significative avec les HDL). Ainsi, l'augmentation des transaminases chez les rates du groupeméthionine par rapport aux témoins, explique bien les anomalies constatées au niveau du cœur et du foie.

Parallèlement le taux de MDA est diminué chez le groupe traité par l'extrait, par contre une augmentation significative a été observée au niveau de GSH chez ce groupe, en comparaison avec le groupe témoin.

Toutes ces anomalies ont été plus ou moins corrigées par l'extrait de notre plante médicinale. Donc, l'utilisation de cette plante médicinale semble avoir un intérêt dans la prévention des maladies cardiovasculaires.

Par conséquent, le Curcuma est un agent antioxydant naturel prometteur et non toxique, ayant un large spectre de fonctions biologiques et pouvait trouver une application en tant que nouveau médicament, indiqué notamment pour les désordres inflammatoires, la carcinogénèse, et les pathologies causées par le stress oxydatif.

Références

Bibliographiques

1. **Adedapo, A.A., Jimoh, F.O., Afolayan, A.J., Masika, P.J. (2008).** Antioxidant activities and phenolic contents of the methanolextracts of the stems of *Acokanthera oppositifolia* and *Adeniagummifera*. *BMC Complement Alternative Medicine*. The official journal of the International Society for Complementary Medicine Research, 8 (54), 1-7.
2. **Adewusi, E.A., Moodley, N., Steenkamp, V. (2011).** Antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activity of selected southern African medicinal plants. *South African Journal of Botany* (77), 638-644.
3. **Aebi, (1984).** Catalase. In L. Pacher (ED). *Méthod in enzymology académiepress*. Oelamode, (105) 121-126.
4. **Ahmed, F., Urooj, A .,(2012).** Cardioprotective activity of standardized extract of *Ficus racemosa* stem bark against doxorubicin-induced toxicity. *Pharmaceutical Biology*, (50), 468–473.
5. **Ahmed, S., Nada., Asrar., Hawas ,M ., Nour El-Din ,A., Magdy, M., Elnashar, Zakaria ,Y., AbdElmageed., (2012).** Radioprotective effect of *Curcuma longa* extract on γ -irradiation-induced oxidative stress in rats *Canadian journal of Physiology and Pharmacology*, (90), 415–423.
6. **Albano S.M., Miguel M.G. (2010).** Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial Crops and Products*, 1-6.
7. **Amarowicz ,R., (2007).** Tannins: The new natural antioxidant. *European Journal Lipid Science Technology*, (109), 549-551.
8. **Amin, A., Masoumeh ,S., Abbas, H., Akbar Hajizadeh ,M., Behrang ,K., (2010).** Neuroprotective effects of the polyphenolic antioxidant agent, Curcumin, against thiomycysteine-induced cognitive impairment and oxidative stress in the rat, *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, (96), 378–385.
9. **Amirouche, F.,(2010).** Homocystéine , stress oxydatif et remodelage cardiovasculaire chez le lapin domestique mâle p74.
10. **Ana, R., Alfonso, S., Miguel, A., Joaquin, D., August ,B., Cesar, Q., Eliseo, Q ., Jaime., (2000).** An hydroalcoholic extract of *Curcuma longa* lowers the apo B/apo A ratio Implications for atherogenesis prevention. *Mechanisms of Ageing and Development*, (119), 41–47.
11. **Anderson, J.L., Jensen ,K.R., Clarquist, J.F., Bair ,T.L., Horne, B.D., Muhlestein, J.B. (2004).** Effect of Folic Acid Fortification of Food on Homocysteine-Related Mortality. *The American Journal of Medicine*, (116), 158–64.

Références bibliographiques

12. **Anil K., Jyotsna D., Anup S. (2011).** A review on spice of life *Curcuma longa* (turmeric). *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2. ISSN 0976-4550, 372.
13. **Antoniades, C., Antonopoulos, A.S., Tousoulis, D., Marinou, K., Stefanadis, C. (2009).** Homocysteine and coronary atherosclerosis: from folate to the recent clinical trials. *European Heart Journal*, (30), 6-15.
14. **Apavatjirut, P., Anuntalabhochai, S., Sirirugsa, P., & Alisi, C. (1999).** Molecular markers in the identification of some early flowering *Curcuma L.* (Zingiberaceae) species. *Annals of Botany*, 84(4), 529-534.
15. **Araujo, A. R., Saraiva, M. L. M., & Lima, J. L. (2008).** Determination of total and oxidized glutathione in human whole blood with a sequential injection analysis system. *Talanta*, 74(5), 1511-1519.
16. **Aubard, Y., Darodes, N., Cataloube, M., Aubard, V., Diallo, D., Teissier, M. p. (2000).** Hyperhomocystéinémie et grossesse : une association dangereuse. *Journal de Gynecologie Obstetrique et Biologie de la Reproduction*, (29), 363-372
17. **Austin, R.C., Lentz, S.R., Werstuck, G.H. (2004).** Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. *Cell Death and Differentiation*; (11), S56-S 64.
18. **Bergmeyer, H.U. (1978).** *Clin Chem*, 24, 58-73. Cité par fiche technique BIOLABO. Réf. 80027
19. **Bescond, A., Augier, T., Chareyre, C., Garçon, D., Hornebeck, W., et Charpiot, P., (1999).** Influence of homocysteine on matrix metalloproteinase-2: activation and activity, *Biochemical and Biophysical Research Communication*, Vol. 263, p. 498-503.
20. **Bhagwat, V.R., Yadav, A.S., et Rathod, I.M., (2009).** Homocysteine, lipid indices and antioxidants in patients with ischaemic heart disease from Maharashtra, India. *Singapore Medical Journal* 50 (4):418-424.
21. **Bhandari, U., Ansari, M.N., Islam, F., et Tripathi, C.D., (2008).** The effect of aqueous extract of *Embelia ribes* Burm on serum homocysteine, lipids and oxidative enzymes in methionine induced hyperhomocysteinemia. *Indian Journal of Pharmacology* 40 (4) : 152157.
22. **Bin, M., Weina, G., Jingyu, W., Jijun, Y., Jianquan, W., Lingling, P., et Changjiang, G., (2013).** Quercetin reduces serum homocysteine level in rats fed a methionine-enriched diet. *Nutrition* 29 : 661-666.
23. **Boger, R.H., Bode-Boger, S.M., Sydow, K., Heistad, D.D., Lentz, S.R., (2000).** Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide

- synthase, is elevated in monkeys with hyperhomocysteinemia or hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20: 1557-64.
- 24. Bonnaille, C., Salacs, M., Vassiliova, E & Saykova, I. (2012).** Etude de l'extraction des composés phénoliques à partir de pellicules d'arachides (*Arachis hypogaea* L). *Revue des génie industriel* .(7), 35-45.
- 25. Bostom ,A.G., Shemin, D., Verhoef ,P., Nadeau, M.R., Jacques, P.F., Selhub, J., Dworkin, L., Rosenberg, I.H.(1997).** Elevated fasting total plasma homocysteine levels and cardiovascular disease outcomes in maintenance dialysis patients: a prospective study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, (17), 2554–8.
- 26. Bostom, AG., Rosenberg ,IH., Silbershatz, H., Jacques ,PF., Selhub ,J., D'Agostino ,RB., Wilson, PW., Wolf, PA., (1999).** Nonfasting plasma total homocysteine levels and stroke incidence in elderly persons: the Framingham Study. *Ann Intern Med*. Sep 7;131(5), 352-5. PubMed PMID: 10475888.
- 27. Bottiglieri ,T.(2005).** homocysteine and folate metabolism in depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*,(29), 1103-1112.
- 28. Boullard, B. (2001).** Plantes médicinales du monde: Réalités et Croyances. Estem.
- 29. Boushey, C.J., Beresford ,S.A., Omenn ,G.S., Motulsky, A.G.(1995).** A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease : probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* , (274) , 1049-57.
- 30. Brattstrom, L., Lindgren, A., Israelsson ,B., Andersson ,A., Hultberg, B. (1994).** Homocysteine and cysteine: determinants of plasma levels in middle-aged and elderly subjects. *Journal of Internal Medicine*,(236), 633-41.
- 31. Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2^oEd. Lavoisier Technique et documentation, Paris. p 200-279.
- 32. Cattaneo M.(1999).** Hyperhomocysteinemia, atherosclerosis and thrombosis. *Thromb Haemost* , (81), 165-76.
- 33. Çaliskan ,S., Kuralay, F., Onvural, B. (2004).** Effect of homocysteine concentration. *Turkiye Klinikleri Tip Bilimleri Dergisi*; (24), 35-38.
- 34. Chabrier, J.Y. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, pp165.
- 35. Chambers,J.C., Mcgregor,A., Jean-Marie,J, Kooner,J.S. (1998).** Acute hyperhomocysteinaemia and endothelial dysfunction. *Lancet* ,(351), 36-7.
- 36. Chang, C., Yang, M., Wen, H. et Chern, J. (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal .of Food and Drug Analysis*,(10), 178-182.

37. Chango ,A., Parrot-Rouland, F., Nicolas, J.P.(1999). Génétique moléculaire de la reméthylation de l'homocysteine. *Annales de Biologie Clinique*,(57), 37- 42.
38. Cheikh Ali, Z. (2012). Études chimiques et biologiques d'Aframomum sceptrum (Zingiberaceae) et de la curcumine (Doctoral dissertation, Paris 11).
39. Chelli-Chentouf, N., Tir TouilMeddah, A., Mullie, C &Aoues, A. (2012).In vitro and in vivo antimicrobialactivity of Algerian Hoggar Salvadorapersica L. extracts again stmicrobialstrains from childrens oral cavity. *Journal of Ethnopharmacology* (144), 57.
40. Christelle, H. (2010). *Le curcuma de l'épice au médicament* (Doctoral dissertation, Thèse doctorat université Henri Poincare Nancy, (17),18.
41. Chung ,KT., Wong ,TY., Wei, CL., Huang, YW., Lin, Y. (1998). Tannins and humanhealth: areview. *Criti. Rev. Food. Sci. Nutr*,(6), 421-464.
42. Christelle, H .2010. *Le Curcuma, De l'épice au médicament*. Thèse doctorat université henri poincare – nancy1 p 1
43. Clarke ,R., Collins, R., Lewington ,S., Donald ,A., Alfthan, G., Tuomilehto, J., Arnesen, E., Bonaa, K., Blacher ,J., Boers, G.H.J., Bostom, A. (2005). The Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a Meta analysis. *JAMA*, (288), 2015-22.
44. Clarke, R., Smith, A.D., Jobst, K.A., Refsum, H., Sutton, L., Ueland ,P.M. (1998). Folate, vitamin B12, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol*, (55), 1449-55.
45. Cravo, M., Gloria, L., Selhub, J., Nadeau, M.R., Camilo, M.E., Resend, M.P., Cardoso, J.N., Leitao, C.N., Mira, F.C. (1996). Hyperhomocysteinemia in chronic alcoholism : correlation with folate, vitamin B12 and B6 status. *The American Journal of Clinical Nutrition* , (63), 220- 4.
46. De Bree, A., Vershuren, M., Blom, H.J., Kromhout, D. (2001). Association between B vitamine intake and plasma homocysteine concentration in the general Dutch population aged 20-65y. *The American Journal of Clinical Nutrition*; (73), 1027-33.
47. Deb, N., Majumdar, P., &Ghosh, A. K. (2013). Pharmacognostic and phytochemicalevaluation of the rhizomes of *Curcuma longa* Linn. *Journal of PharmaSciTech*, 2(2), 81-86.
48. Degraft-Johnson, J., Kolodziejczyk, K., Krol, M., Nowak, P., Krol, B., Nowak, D., (2007).Ferricreducingability power of selected plant polyphenols and theirmetabolites : Implication for clinical studies on the antioxidant effects of fruits and vegetable consumption. *Basic &Clinical pharmacology &Toxicology*,(100), 345-352.

Références bibliographiques

49. **Delaveau, P. (1987).** Les épices: Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. A. Michel. p.130-136.
50. **Delaveau, P.(1987).** Les épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. Paris : Albin Michel, pp130-136.
51. **Demuth, K., Drunat, S., Paul, J.-L., Moatti, N.(2000).** Hyperhomocystéinémie et athérosclérose. *médecine/sciences* (16), 1081–1090.
52. **Derouiche, F. (2016).** Évaluation du stress oxydatif induit par l’hyperhomocystéinémie dans le cœur et l’aorte chez le rat Wistar albinos :implication du système ubiquitineprotéasome Thèse doctorat université des frères mentouri-constantine . (6) , 89-112.
53. **Divakaruni, C.B. (2006) :** La maîtresse des épices (trad.M0 Probst).Toil d'épices.
54. **Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P & Vidal, N., (2006).**Antioxi-dantactivity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* (97), 654-660
55. **Dohare, P., Garg, P., Jagannathan, N. R., & Ray, M. (2008).** Neuroprotectiveefficacy and therapeuticwindow of curcuma oil: in rat embolic stroke model. *BMC complementary and alternative medicine*, 8(1),55.
56. **Ducros ,V., Demuth ,K., Sauvant, M.P., Quillard, M., Caussé, E., Candito, M., Read, M.H ., Draï, J., Garcia, I., Gerhardt, M.F.(2002).**Methods for homocysteine analysis and biological relevance of the results. *Journal of chromatography B*, (781), 207-26.
57. **Dugas, A.J., Castaneda-Acosta, J., Bonin, G.C.,(2000).** Evaluation of the total peroxy radical scavenging capacity of flavonoids: structure- activity relationships. *Journal Nat online Production* , (63), 31-327.
58. **Dupont F., Guignard J.L.(2015).** Botanique : Les familles de plantes. 16e éd. France : Elsevier-Masson, P 164
59. **Durand ,P., Prost, M., Blache, D.(1998).** Altérations du métabolisme de l’homocystéine et maladies cardiovasculaires. *Revue Française des Laboratoires*; 307:33- 44.
60. **Dutertre, J. (2011).** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l’île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse. Doc. Univ. Bordeaux 2 - Victor Segalen. U.F.R des sciences médicales, pp120.
61. **Eberhard,T., Lostein ,A.(2005).** Plantes aromatiques. Ed TEC et DOC : France .
62. **Eikelboom, JW., Lonn ,E., Genest ,JJr., Hankey ,G., Yusuf, S.,(1999).** Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: acriticalreview of the epidemiologicvidence. *Annals of Internal Medicine*. Sep 7;131(5):363-75. PubMed PMID: 10475890

63. Elizabeth ,A., Varg , A., Amy ,C., Sturm., Caron ,P., Moll, S.(2005). Homocysteine and MTHFR Mutations: Relation to Thrombosis and Coronary Artery Disease. *Circulation* (111), 289-293
64. Ellman G-L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, (82), 70–7.
65. Faeh, D., Chiolero, A., Paccaud ,F.(2006). Homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease: should we (still) worry about it? *SWISS Med Wkly*; (136), 745-56.
66. FAO/WHO expert consultation. Rome 2001.
67. Fouzia, Z.,Khira,O.,Lila ,Kh.,Billel, Ch.,Adel Ghoul1,Nabila ,R.,Samia,N., Souhila A., Mohamed El Hadi,Ch., et Yasmina,B.,(2010). Impact d'une hyperhomocystéinémie sur les lipoprotéines plasmatiques et sur la structure hépatique du Rat des sables, *Psammomys obesus* *Revue Synthèse* N° 22, pp.32.
68. Friedwald t.w., Fredrickson D.S., Levy R.J.(1972). LDL cholesterol estimation. *Clinical Chemistry*. Vol. (18), 499-501.
- Ganesan ,K., Xu, B. (2017). A Critical Review on Polyphenols and Health Benefits of Black Soybeans. *Nutrients*, 9(5).
69. Ganji, V., Kafai, M.R.(2003).Demographic, health, lifestyle, and blood vitamin determinants of serum total homocysteine concentrations in The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *The American Journal of Clinical Nutrition*; , (77), 826-33.
70. Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M.C., Bousselfela, H &OueldMokhtar, S.M., (2015).Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de Marrubiumdeserti de Noé. *Phytothérapie* (13), 118-129.
71. Gigon, F. (2012). Le gingembre, une épice contre la nausée. *Phytothérapie*, 10(2) : 87-91.
72. Grubben, M.J., Boers, G.H ., Blom, H.J ., Broekhinzen , R., De Jnd, R., Van Rijt, L., De Ruijter, E., Swinkels ,D.W., Nagengast, F.M., Katan, M.B.(2000).Unfiltered coffee increases plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers: a randomized trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*;, (71),480-4.
73. Guillard, J.C., Favier, A., Potier de Courcy, G., Galan ,P., Hercberg ,S. (2003). L'hyperhomocystéinémie : facteur de risque cardiovasculaire ou simple marqueur ? 1. Données fondamentales. *Pathologie Biologie*; (51), 101-10.
74. Gulcin ,I., Huyut, Z., Elmastas, M., and Aboul-Enein, H.Y., (2010). Radical scavenging and antioxidantactivity of tannicacid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(1), 43-53.

- 75. Gurung, R. B., Gong, S.Y., Dhakal, D., Le, T.T., Jung,N.R., Jung, H.J., Jin Oh,T and Sohng, J.K.(2017).** Synthesis of Curcumin Glycosides with Enhanced Anticancer Properties Using One-Pot Multienzyme Glycosylation Technique. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(9), 1639–1648.
- 76. Grugeau ,C.(1995).***Curcuma longa L.* Thèse de doctorante en pharmacie. Université limoge.
- 77. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C. and Chapelle, J.P.,(2007).** Oxidative stress. *Revue Medicale de Liege*, (62), 628–638.
- 78. Halifeoglu1,I., Gur1,B., Aydin1,S., et Ozturk ,A.,(2004).**Plasma trace elements, vitamin B12, folate, and homocysteine levels in cirrhotic patients compared to healthy controls. *Biochemistry (Moscow)* 69 (6) : 693-996.
- 79. Han, N., Wang, L., Song, Z., Lin, J., Ye, C., Liu, Z & Yin, J., (2016).**Optimization and antioxidantactivity of polysaccharides fromPlantagodepressa. *International Journal of BiologicalMacromolecules*, (93), 644-654.
- 80. Harpel, P.C., Chang, V.T., Borth, W.(1992).** Homocysteine and other sulfhydryl compounds enhance the binding of lipoprotein (a) to fibrin : a potential biochemical link between thrombosis, atherogenesis, and sulfhydryl compound metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA*, (89), 10193-7.
- 81. Haslam, E., (1996).** “Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: Possible modes of action”, *Journal of. Natural Products*, (59), 205-215.
- 82. Herrmann, W., Schorr, H., Obeid, R., Geisel, J. (2003).** Vitamin B-12 status, particulary holotranscobalamin II and methylmalonic acid concentrations, and hyperhomocysteinemia in vegetarians. *The American Journal of Clinical Nutrition*; (78), 131-6.
- 83. Heydrick, S.J., Weiss, N., Thomas, S.R., Cap, A.P., Pimentel, D.R., Loscalzo, J., Keaney, J.F., Jr. (2004).** L-Homocysteine and L-homocystine stereospecifically induce endothelial nitric oxide synthase-dependent lipid peroxidation in endothelial cells. *Free Radic Biol Med*, (36), 632-40.
- 84. Hidiroglou, N., Gilani, G., Long, L., Zhao, X., Madere, R., Cockell, K., Belonge, B., Ratnayake, W., Peace,R., (2004).** The influence of dietaryvitamin E, fat, and methionine on bloodcholesterol profile,homocysteinelevels, and oxidizability of lowdensitylipoprotein in the gerbil*The Journal of NutritionalBiochemistry*, Volume 15, Issue 12, pp 730-740.

- 85. Hustad, S., Ueland, P.M., Vollset, S.E., Zhang, Y., Bjorke-Monsen, A.L., Schneede, J. (2000).** Riboflavin as a determinant of plasma total homocysteine: effect of modification by the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism. *Clinical of Chemistry* (46), 1065-71.
- 86. Hultberg ,B., Berlund, M., Anderson ,A., Frank, A. (1993).** Elevated plasma homocysteine in alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res*, (17), 687-9.
- 87. Iserin ,P ., (2001).**Encyclopedies des plantes médicinales. Ed: Larousse Bourdesse. Paris, pp 335
- 88. Jacobsen ,D.W. (2000).** Hyperhomocysteinemia and oxidative stress: time for a reality check? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, (20), 1182-4.
- 89. Jain, A., & Parihar, D. K. (2018).** Antibacterial, biofilm dispersal and antibiofilm potential of alkaloids and flavonoids of Curcuma. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, (16), 677-682.
- 90. Janosik , M., Kery ,V., Gaustadnes , M ., Maclean ,K.N ., Kraus , J.P. (2001).** Regulation of human cystathionine beta-synthase by S-adenosyl-L-methionine: evidence for two catalytically active conformations involving an autoinhibitory domain in the C-terminal region. *Biochemistry* (40) ,10625-33
- 91. Jansen, P.C.M., Grubben ,G.J.H., Cardon, D.(2005).** Ressources végétales de l'Afrique tropicale 3. Colorants et tanins. Wageningen, Pays-Bas, PROTA, pp 238.
- 92. Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., Vivanco, J., (2003).**Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food chemistry* 83, 547-550.
- 93. Jean ,G.(2010).** Ils ont domestiqué plantes et animaux : Prélude à la civilisation, Éditions Quæ, pp 456
- 94. Jordan, J. (2015).**Curcuma et curcumine: de l'histoire aux intérêts thérapeutiques. Thèse doctorat université de CAEN, pp141.
- 95. Kalyanaraman ,B.(2003).** Superoxide reacts with hydroethidine but forms a fluorescent product that is distinctly different from ethidium: potential implications in intracellular fluorescence detection of superoxide. *Free Radical Biology and medicine*, (34)1359-68.
- 96. Kaneria, M ., Kanani, B & Chanda, S. (2012).** Assessment of effect of hydroalcoholic and decoction methods on extraction of antioxidants from selected Indian medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. pp 195-202.
- 97. Khoddami, A., Wilkes, M.A., Roberts, T.H. (2013).** Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, (18), 2328-2375.

98. Kimberly, M., Leary, E., Cole T., Waymack, P. (1999). Selection, Validation, standardization and performance of a designated comparison method for HDL cholesterol for use in the cholesterol reference method laboratory network, *Clinical of Chemistry*, Vol, (45) pp 12.
99. Kothekar ,M.A. (2007). Homocysteine in cardiovascular disease: a culprit or an innocent bystander? *Indian Journal of medicine Sciences* ,(61),361-71.
100. Kullo, I.J., Ding, K., Boerwinkle, E., Turner, S.T., Mosley, T.H.Jr ., Kardia, S.L., De ,A.(2006). Novel genomic loci influencing plasma homocysteine levels. *Stroke*, (37),1703–9.
101. Laufer, E.M., Hartman, T.J., Baer, D.J., Gunter, E.W., Dorgan, J.F., Campbell, W.S., Clevidence, B.A., Brown ,E.D., Albanes, A., Judd, J.T., Taylor, P.R. (2004). Effects of moderate alcohol consumption of folate and vitamin B12 status in postmenopausal women. *European Journal of Nutrition*, (58), 1518-24.
102. Koyama, J., (1995). The influence of methionine and its metabolites on the progression of atherosclerosis in rabbits. *Nippon Ika Daigaku Zasshi*, 62(6), 596-604.
103. Ksouri ,R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi ,N., Boulaaba, M., Smaoui ,A. , Abdelly C.,(2008). Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendus biologies*. 331(11),865-873.
104. Ksouri, R., Falleh ,H., Megdiche, W., Trabelsi ,N., Hamdi., Chaieb ,K., Bakhrouf, A., Magné, C., Abdelly ,C.,(2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L and related polyphenolic constituents. *Food and Chemical Toxicology*. 47(8), 2083-2091.
105. Kumar, A., Dora, J., & Singh, A. (2011). A Review on Spice of Life *Curcuma longa* (turmeric). *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, (2), 371-379.
106. Kwang, G., Takayuki, S., Gary, R., Sung, E., Jeong, H., & Byeoung, S., (2003). Inhibitory Effects of Plant-Derived Flavonoids and Phenolic Acids on Malonaldehyde Formation from Ethyl Arachidonate. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 51(24), 7203-7207. doi: 10.1021/jf0345447.
107. Loap, S. (2008). Curcuma (partie I). *Phytothérapie*, 6(1) ,22-28.
108. Lonn, E., Yusuf, S. (2006). The Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) 2 Investigators. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *New England Journal of Medicine*; (354), 1567-77.

- 109. Lucie ,V. (2010).** Intérêt d'un nouveau nutriment a visée anti-inflammatoire dans la gestion de troubles locomoteurs chez le cheval. Aspects bibliographiques et étude clinique. Doctorat vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort. Faculté de médecine de Gréteil, pp199.
- 110. Maizura, M., Aminah, A. , Wan Aida, W. M.,(2011).**Total phenolic content and antioxidant activity of kesum (*Polygonum minus*), ginger (*Zingiber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) extract *International Food Research Journal*, (18), 526-531
- 111. Malinow, M.R., Bostom ,G., Krauss, R.M. (1999).**Homocyst(e)ine, diet and cardiovascular disease: A statement for healthcare professionals from the nutrition committee, American Heart Association. *Circulation*, (99), 178- 82.
- 112. Mato, J.M., Martinez-Chantar, M.L & Lu, S.C.(2008).** Methionine metabolism and liver disease. *Annual Review of Nutrition*(28),273-293.
- 113. McCully ,K.S. (1983).** Homocysteine theory of arteriosclerosis : development and current status. Gotto AM, Paoletti R, eds. *Atherosclerosis Rev*,(11), 157-246.
- 114. McCully ,K.S.(1969).** Vascular pathology of homocystéinemia : implications for the pathogenesis of atherosclerosis. *The American Journal of Pathology*, (56), 111-112.
- 115. Mckinley M, Strain JJ, Mc Partlin J, Scott JM, McNulty H. (2001).** Plasma homocysteine is not subject to seasonal variation. *Clinical Chemistry*; (47),1430-6.
- 116. McNulty, H., Pentieva ,K., Hoey, L., Ward, M. (2008).** Homocysteine, B-vitamins and CVD. *Proceeding of Nutrition Society*, (67), 232-7.
- 117. McNulty, H., Pentieva, K., Hoey, L., Ward, M. (2008).** Homocysteine, B-vitamins and CVD. *Proceeding of Nutrition Society*, (67), 232-7.
- 118. McCully, K .S. (2007).**Homocysteine, vitamins, and vascular disease prevention. *The American Journal of Clinical Nutrition*, (86), 1563S- 8S.
- 119. Miller ,J.W., Ribaya-Mercado ,J.D., Russell, R.M., Shepard ,C., Morrow, F.D., Cochary, E.F., Sadowski, J.A., Gershoff, S.N., Selhub, J. (1992).** Effect of vitamin B6 deficiency on fasting plasma homocysteine concentrations. *The American Journal of Clinical Nutrition*, (55), 1154-60.
- 120. Miller, A., Mujumdar, V., Shek ,E., Guillot, J., Angelo, M., Palmer, L ,et al., (2000).**Hyperhomocysteinemia induced multiorgan damage, *HealthVessels*, (15), 135–143.
- 121. Min, K ,Ebeler, S.E., (2008).**Flavonoideffects on DNA oxidationat low concentrations relevant to physiological levels. *Food and Chemical Toxicology*, (46), 96–10.
- 122. Moatti ,N., Hanon, O., Benoit, M.O., Safar, M., Girerd, X.(1998).** Opposite effects of plasma homocysteine and the methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation on carotid

Références bibliographiques

artery geometry in asymptomatic adults. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, (18), 1838-43.

123. Moens ,A.L., Vrints .C.J., Claeys, M.J., Timmermans ,J.P., Champion, H.C., Kass ,D.A. (2008).Mecanisms and potential therapeutic targets for folic acid in cardiovascular disease. *The American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* , (294), 1971-7.

124. Molyneux, P., Songklanakarin, J.(2004).The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl(DPPH) for estimating antioxidant activity. *SciencesTechnology*, 26 (2) , 211-219.

125. Morand, C., Milenkovic, D. (2014). Polyphénols et santé vasculaire: mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire. *Innovations Agronomiques* ,(42), 47-62.

126. Mouchabac ,S.(2008). Homocystéinémie, hyperhomocystéinémie et dépression. *Neuropsychiatrie : Tendances et Débats*,(32), 9-18.

127. Muanda, N. F., Kone, D., Dicko, A., Soulimani , R & Younos, C. (2011). Phytochemical composition and antioxidant capacity of three Malian Medicinal plant parts, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* (109), pp 1 - 8.

128. Nithiyantham, S., Selvakumar, S., &Siddhuraju, P., (2012). Total phenolic content and antioxidant activity of twodifferentsolventextractsfromraw and processedlegumes, *Cicer arietinum L And Pisumsativum L. Journal of Food composition and analysis* (27), 52-60.

129. Norlund, A., Grubb, A., Fex, G., Leksell, H., Nilsson, J.E., Scheuck, H., Hultberg, B.(1998).the increase of plasma homocysteine concentrations with age is partly du to thedeterioration of renal function as determined by plasma cystatin C. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, (36),175-8.

130. Nygard ,O ., Nordrehaug , J.E ., Refsum , H ., Ueland , P. M., Vollsed, S. E.(1997). Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease.*New England journal of Medicine* ,(337), 220-236.

131. Ohrvik , V.E ., Witthoft , CM. (2011). Human folate bioavailability. *Nutrients* (3),475-490.

132. Nygard ,O., Nordrehang, J.E., Refsum, H., Ueland ,P.M ., Farstad , M ., Vollset , S.E.(1997). Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease*New England journal of Medicine*, (337), 230-6.

133. Obeid,R .,et Herrmann ,W., (2009).Homocysteine and lipids: S-Adenosylmethionine as a key intermediate. *FEBS Letters* ,(583), 1215-1225.

- 134. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K.,(1979).** Assay of lipid peroxides in animal tissue by hiobarbituric reaction. *Analytical Biochemistry*, (95), 351–8.
- 135. Okwu, DE., Josiah, C.,(2006).** Evaluation of the chemical composition of two Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*,; 5(4): 357361.
- 136. Omenn ,G.S., Beresford, S.A.A ., Motulsky, A.G .(1998).** Preventing coronary heart disease,B vitamins and homocysteine. *Circulation*, (97), 421-4.
- 137. Pandey ,K. B ., Rizvi , S.I. (2009).** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2 (5): 270-278.
- 138. Patil, M.; Shivaprakash, B. V.(2013).** Pharmacology and Clinical Use of Dimethyl Sulfoxide (DMSO): A Review. *International Journal of Molecular Veterinary Research*, 3 (6), pp 23– 33.
- 139. Perry, M. C. (2008).** Évaluation de la curcumine comme agent anti-cancéreux dans le traitement des tumeurs cérébrales.
- 140. Pikulthong, V., Teerakathiti, T., Thamchaipenet, A., &Peyachoknagul, S. (2016).**
- 141. Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B., (2009).** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue du Génie Industriel*,(4), 26-39.
- 142. Podsedek, A. (2007).** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT*, 40:1-11. Percival SL. *Microbiology of waterborne diseases*. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston, 2004, p. 480.
- 143. Pritchard ,K. A .Jr., Groszek , L ., Smalley , D.M ., Sessa , W.C ., Wu, M ., Villalon, P ., Wolin , M.S ., Stemerman , M.B.(1995).** Native low density lipoprotein increases endothelial cell nitric oxide synthase generation of superoxide anion. *Circulation Research*, (77), 510-8.
- 144. Refsum ,H ., Ueland ,P.M ., Nygard, O ., Vollset ,S.E. (1998).** Homocysteine and cardiovascular disease. *Annual Review of Medicine*; (49), 31–62.
- 145. Puneet, K.,M Nazam,A.,Uma,B., (2008).**Modulatory effect of curcumin on methionine-inducedhyperlipidemia and hyperhomocysteinemia in albino rats.*Indian Journal Of ExperimentalBiology* Vol. (46), July, pp. 534-540
- 146. Puneet, K.,M Nazam,A.,Uma,B., (2008).**Protective effect of EmbeliaribesBurm on methionine-inducedhyperhomocysteinemia and oxidative stress in rat brain*Indian Journal of ExperimentalBiology* Vol. (46), July, pp. 521-527.

- 147. Quave, C.L., Planol.R.W., Pantuso, T., Bennett, B.C. (2013).** Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*.(118),418-428.
- 148. Rajeshwari ,S., Jyoti,S., (2013).** *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* Screening of Total Phenolic and Flavonoid Content in Conventional and Non-Conventional Species of *Curcuma* Vol. (2), pp178
- 149. Ramu, G., Krishna Mohan, G., Jayaveera, K.N., Dhanapal, S.P & Senthilkumar, G. (2012).** Preliminary phytochemical and antioxidant study of hydroalcoholic extracts from selected genera of Indian Lamiaceae. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. pp 685-688
- 150. Refsum ,H ., Ueland, M ., Nygaard , O., et al.(1998).** Homocysteine and cardiovascular disease. *Annual Review of Medicine* ,(49), 31-62.
- 151. Refsum , H ., Smith ,D ., Ueland , P.M ., Nexo , E ., Clarke ,R ., McPartlin ,J ., Johnston ,C ., Engbaek , F., Schneede ,J ., McPartlin ,C ., Scott ,J.M. (2004).** Facts and recommendations about total homocysteine determinations: An expert opinion. *Clinical Chemistry*, (50), 3-32.
- 152. Refsum ,H ., Nurk ,E ., Smith, D ., Ueland , P.M ., Gjesdal , C.G ., Bjelland , I ., Tverdal , A ., Tell ,G.S ., Nygard ,O ., Vollset ,S.E. (2006).** The Hordaland Homocysteine study: A community-Based Study of homocysteine, its determinants, and associations with disease. *Journal Nutritional*; (136), 1731S-40S.
- 153. René C. (2010).** 250 examens de laboratoire. Cholestérol des HDL et des LDL. 11ème Ed. Elsevier Masson SAS, (89), 361–362.
- 154. Ribéreau-Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod. Paris, pp 173-201.
- 155. Rivlin ,R.S ., Menendez, C., Langdon, R.G. (1968).** Biochemical similarities between hypothyroidism and riboflavin deficiency. *Endocrinology*, (83), 461-9.
- 156. Ross, Ivan A. (2005).** *Medicinal Plants of the World. Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses.* 1ere Edition. Totowa, New Jersey : Humana Press, 3: 648. (ISBN: 1-59259-887-0).
- 157. Roux, D & Catier, O. (2007).** *Botanique, Pharmacognosie et Phytothérapie.* Wolters Kluwer France Edition, pp 74.
- 158. Sachadyn ,A.S ., Woodside ,J.V ., Brown ,K.S ., Youg ,I.S ., Murray, L ., McNulty ,H ., Strain ,J.J ., Boreham ,C.A ., Scott, J.M ., Whitehead ,A.S ., Mitchell ,L.E.(2008).** Evidence for sex differences in the determinants of homocysteine concentration. *Molecular Genetics and Metabolism*; (93), 355-62.

Références bibliographiques

- 159. Sanago, R. (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali), pp 53.
- 160. Schlienger ,J.L. (2003).** Homocystéine et consommation d'alcool une relation ambiguë et un nouveau paradoxe. *La PresseMedicine* (32), 262-7.
- 161. Seidel, V .,(2005). Initial and Bulk Extraction.** In: naturalproducts isolation. Sarker S D, Latif Z, Gray A I. Eds. Humana Press (Totowa), 27-37.
- 162. Sengupta ,S ., Wehbe, C ., Majors, A.K ., Ketterer ,M.E ., DiBello ,P.M ., Jacobsen ,D.W.(2001).** Relative roles of albumin and ceruloplasmin in the formation of homocysteine, homocysteine-cysteinemixed disulfide and cystine in circulation. *Journal Biology and Chemistry* , (276), 46896– 904.
- 163. Shahide, N. (2016).** Valeurs thérapeutique de curcuma. Laboratoire phytomisan France, pp98.
- 164. Shameli, K., Ahmad, M. B., Zamanian, A., Sangpour, P., Shabanzadeh, P., Abdollahi, Y., & Zargar, M. (2012).** Green biosynthesis of silver nanoparticles using *Curcuma longa* tuber powder. *International journal of nanomedicine*,(7), 5603
- 165. Sharma ,P ., Senthikumar , R.D ., Brahmachari, V., Sundaramoorthy , E ., Mahajan , A ., Sharma ,A ., Sengupta ,S.(2006).** Mining literature for a comprehensive pathway analysis: a case study for retrieval of homocysteine related genes for genetic and epigenetic studies. *Lipids Health Dis*, (5), 1-19.
- 166. Shidfar,F.,Homayounfar,R.,Fereshtehnejad,S.M., et Kalanic,A.,(2009).** Effect of Folate Supplementation on Serum Homocysteine and Plasma Total Antioxidant Capacity in Hypercholesterolemic Adults under Lovastatin Treatment: A Double-blind Randomized Controlled Clinical Trial. *Archives of Medical Research* 40 : 380-386.
- 167. Shiliang.** Liu et al Évaluation de la fortification en acide folique des produits alimentaires pour la prévention primaire des anomalies du tube neural Cat. No. H39-4/57-2003-1F-PDF- ISBN 0-662-78307-7.
- 168. Shishodia ,S., Sethi, G., Aggarwal, B.B.(2005).** Curcumin: getting back to the roots. *Annals of the New York Academy of Sciences* ,(1056),206-17.
- 169. Singal ,R ., Ferdinand, L ., Das ,P.M ., Reis, LM ., Schlesselman ,J.J.(2004).** Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and prostate cancer risk. *Int J Oncol*, (25), 1465–71.
- 170. Skadhauge, B., Gruber, MY., Thomsen ,KK., von Wettstein, D. (1997).** Leucocyanidin reductase activity and accumulation of proanthocyanidins in developing legume tissues. *American Journal of Botany* 84: 494–503.

- 171. Spiridon, I., Bodirlau, R., Teaca, C.A., (2011).** Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Central European Journal of Biology* , (6), 388-396.
- 172. Stea ,T.H ., Mohammad , M., Wandel , M ., Uglem , S., Frolich , W. (2008).** Changes in predictors and status of homocysteine in young male adults after a dietary intervention with vegetables, fruits and bread. *European Journal Nutritional* (47), 9-102.
- 173. Stern, L.L ., Shane , B ., Bagley, P.J ., Nadeau ,M ., Shih, V ., Selhub, J. (2003).** Combined marginal folate and riboflavin status affect homocysteine methylation in cultured immortalized lymphocytes from persons homozygous for MTHFR C677T mutation. *Journal Nutritional*, (133), 2716–20.
- 174. Subirade, I., Fernandez, Y., Periquet, A & Mitjavilla, S., (1995).** Catechin protection of 3T3 Swiss fibroblasts in culture under oxidative stress. *Biological Trace Element Research*, (47), 313- 319.
- 175. Tabart, J., Kevers, C., Sipel ,A., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Dommès ,J., (2007).** Optimisation of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and of stability during storage. *Food Chemistry*, (105), 1268–1275.
- 176. Tapiero , H ., Tew , K. D., Nguyen , G ., Mathé ,G . (2002).** Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? *Biomedicine & Pharmacotherapy*, (56), 200-7.
- 177. Terblanche, U., Semakalu ,CC., Mtunzi ,F., Pillay, M., (2017).** Screening of Variables Influencing Extraction Yield of *Cotyledon orbiculata*: 2 3 Full Factorial Design. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* , 9(3), 303-312.
- 178. The Expert Panel., (2002).** Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Final report. *Circulation.*;106:3143–3421.
- 179. The homocysteine Studies Collaboration.(2002).** Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke : a meta-analysis. *JAMA*,(288), 2015-2022.
- 180. Tietz.(2006).** *Clinical Guide to Laboratory Test* , 4th ed., N :W, pp 648-651
- 181. Tiwari ,P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H., (2011).** Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internal Pharmacology Sciences* ,1(1),98–106.
- 182. TPE Gingembre du Lycée Frédéric Joliot Curie d'Aubagne. [Internet].** [cité 29 sept 2016]. Disponible sur : <http://tpegingembre.free.fr/accueil/accueil.php?rep=botanique&page=botanique>

- 183. Trabetti ,E .,Genet. (2008).** Homocysteine, MTHFR gene polymorphisms, and cardio-cerebrovascular risk. *Journal of Applied* , (49) , 267-282.
- 184.Tulay,S.,Onalan,E., Baydas,G.,Yuce,H., Ozercan,H.I.,Kuloglu,T.,Koz,S.,Etem,A., et Demir,N., (2012).** Effects of resveratrol on blood homocysteine level, on homocysteine induced oxidative stress, apoptosis and cognitive dysfunctions in rats. *Brain Research* 1484 : 29-38.
- 185. Tyagi , N ., Mishra , P.K., Tyagi ,S.C.(2009).** Homocysteine, hydrogen sulfide (H₂S) andNMDA-receptor in heart failure. *Indian journal of biochemistry & biophysics* (46),441-446.
- 186. Ubbink ,J.B ., Fehily, A.M ., Pickering, J ., El Wood ,P.C ., Wermaak ,W.J.H. (1998).** Homocysteine and ischemic heart disease in the Caerohilly cohort. *Artherosclerosis*, (140), 349-56.
- 187. Ubbink ,J.B ., Vermaak ,W.J ., van der Merwe, A ., Becker ,P,J ., Delpport , R ., Potgieter , H.C.(1994).** Vitamin requirements for the treatment of hyperhomocysteinemia in humans. *Journal Nutrional*,(124),1927-33.
- 188. Ueland , P.M ., Nygard ,O ., Vollset ,S.E ., Refsum, H.(2001).** The Hordaland Homocysteine Studies. *Lipids*,(36), S33–9.
- 189. Urgert. R ., Vliet , T.V., Zock ,P.L ., Katan, M.B.(2000).** Heavy coffee consumption and plasma homocysteine: a randomized controlled trial in healthy volunteers. *The American Journal of Clinical Nutrition*; ,(72),1107-10.
- 190. Vahabzed ,Z., Abolfathi ,A., Ansari, M K., Safaiyan, A., (2008).**Effect of dietary Taurineon lipid profile and oxidative stress in tissues of homocysteine-treated rats, *Research . Journal of biology and sciences*. 3 (11), 1271–1275.
- 191. Valdiguié P (2000).** *Biochimie clinique*. 2eme édition. Médicales inters nationaux. France. P 247249-267-290.181- Wenger, C. &al., (1984). Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. *Clinical of Chemistry* the C.V. Mosby
- 192. Van der Gaag ,M.S ., Ubbink ,J.B ., Sillanaukee ,P ., Nikkari ,S ., Hendriks ,H.F.(2000).** Effectof consumption of red wine, spirits, and beer on serum homocysteine. *TheLancet*; (355), 1522.
- 193. Vesin ,C ., Horellou , M.H ., Mairesse, S ., Conard, J ., Safar, M ., Blacher, J.(2007).** Homocystéine et risque cardiovasculaire. *Sang thrombose vaisseaux*,(19), 143-9.
- 194. Villano,D.,Fernandez-Pachon, MS.,Moya, ML.,Troncoso, AM.,Garcia-Parilla,MC. (2007).**Radical scavenging ability of phenolic compoundstowards DPPH free radical. *Talanta*,(71), 230–235.

- 195. Vuorela S. (2005).** Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. Département of applied chemistry, microbiology and food chemistry. University of Helsinki, pp 9-70.
- 196. Weisberg, I ., Tran, P ., Christensen ,B ., Sibani ,S ., Rozen , R.(1998).** A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab*, (64),169-72.
- 197. Welch ,G. N ., Loscalzo , J.(1998).** Homocysteine and atherothrombosis. *New England journal of Medicine* .(338), 1042-50.
- 198. Wenger, C. (1984).** Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. *ClinChem the C.V. Mosby*
- 199. Wichtl, M., Anton, R. (2003).** Plantes thérapeutiques-Tradition, Pratique officinale, science et thérapeutique. Ed. Tec et Doc et EMI.
- 200. Wilcken ,D ., Wilcken , B.(1976).** The pathogenesis of coronary artery disease: a possible role for the methionine metabolism. *Journal Clinical Invesitare*, (57), 1079-1082.
- 201. Wohlmuth, H. (2008).** Phytochemistry and pharmacology of plants from the gingerfamily, Zingiberaceae. Development of somaticembryos for genetic transformation in *Curcuma longa L. and Curcuma mangga*Valeton&Zijp. *Agriculture and Natural Resources*, 50(4),276-285.
- 202. Wong, S.P., Leong, L.P., Koh, J.H.W. (2006).** Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food chemistry*,(99),775-783.
- 203. Wun, C.(2003).** Safty and antiinflammatory activity of curcumin. *Compoment medicine the research*, (131), 682-91.
- 204. Yang, M., and Vousden, K.H.(2016).** Serine and one-carbon metabolism in cancer. *Nature reviews Cancer*,(16), 650-662.
- 205. Ya-Qin, M., Xing-Qian,Y., Zhong-Xiang, F., Jian-Chu, C., Gui-Hua, X & Dong-Hong, L., (2008).**Phenolic Compounds and Antioxidantactivity of extractsfromultrasonic treatment of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) Peels. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 56 (14), 5682-5690
- 206. Zingiberaceae [Internet].**[cité 7 sept 2016]. Disponible sur: http://www.plantesbotanique.org/famille_Zingiberaceae
- 207. Zittoun, J.(1998).** Homocystéine et pathologie vasculaire. *Hématologie*, (4), 7–16.
- 208. Zoungas ,S., Mcgrath , B.P., Branley , P., KERR P, G., Muske , C., Wolfe ,R., Atkins ,R.C. (2006).** Homocystéine. *Wikipedia* 47 (6), 1108-16.

Annexes



Figure 1 : Préparation des extraits (Photo originale, 2021)



Figure 2 : Evaporation et séchage des extraits (Photo originale, 2021)



Figure 3 : Extrait sec (Photo originale, 2021)



Figure 4 : Préparation de l'homogénats des organes (Photo originale, 2021)



Figure 5 : Analyseur biochimique (TGO, TGP, PAL) de modele le fameux BASC (Photo originale, 2021)



Figure 6 : Préparation des coupes histologiques (Photo originale, 2021)



Figure 7 : Microscope optique avec appareil photo (Photo originale, 2021)