

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques



Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : **Science de la Nature et de la Vie**

Filière : **Biologie**

Spécialité : **Biochimie appliquée**

Présente par : BENSABA Wahiba

GUITOUN Rahma

Thème

Effet synergique des épices constitutives de mélange « ras el hanout » sur les activités anti-inflammatoire et antioxydante

Soutenu publiquement

Le :

Devant le jury:

M^{elle} HAMMOUDI R.

M.C.B

Président

UKM Ouargla

M^{me} ANNOU G.

M.A.A

Encadreur

UKM Ouargla

M^{elle} HADJADJ S.

M.A.A

Examineur

UKM Ouargla

Année universitaire : 2015/2016

Remerciement

*Nous remercions avant tout **ALLAH** le tout puissant, de nous avoir guidées pendant toutes nos années d'étude et de nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour terminer notre travail*

*Nous exprimons nos profondes gratitudee et nos sincères remerciements à notre encadreur **M^{me} ANNOU G.**, maitre assistante A au département de sciences biologiques de la faculté SNV à l'université KASDI MERBAH-Ouargla, pour ses conseils et ses précieuses orientations qu'elle n'a cessé de nous apporter tout au long de ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à **Dr. HAMMOUDI R.**, maitre de conférence B au Département des sciences biologiques de Faculté des sciences de la Nature et de la Vie de l'université KASDI MERBAH – Ouargla, pour l'honneur qu'elle nos fait en acceptant de présider le jury de nos soutenance.*

*Nous remercions également **M^{elle} HADJADJ S.**, maitre assistante A à la faculté des sciences de la Nature et de la Vie de l'université KASDI MERBAH – Ouargla, de fait l'honneur d'accepter d'examiner notre mémoire de master.*

*Un remerciement particulier va à **Mr Boumakel M.**, chef de laboratoire de biochimie à l'hôpital de Mohammed Boudiaf Ouargla, pour leur aide durant la réalisation de ce travail, aussi nous remercions **Mr Khadraoui A.**, responsable de laboratoire de chimie dans la faculté des sciences de matière à l'université Kasdi Merbah Ouargla, pour leurs facilitations et leurs aides pendant notre travail.*

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



Dédicace

Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux

Tout d'abord je tiens à remercier le tout puissant de m'avoir donné le courage et la patience pour arriver à ce stade afin de réaliser ce travail que je dédie :

*A mes très chers parents : a celle qui m'a noyée avec ses sentiments et le cœur qui m'a réchauffe avec son amour a la personne la plus chère au monde : à ma mère : **MENSOURA** et aussi mon chère père : **BELKHEIR** que dieu protège et qu'Allah vous garde longtemps parmi nous.*

*A mes chers frères : **MOHAMMED, MOURAD, ABDELMADJID et KHALED.***

*A mes précieuses sœurs : **SOUHILA**, je souhaite son près retour et le bonheur dans sa vie.*

*A toute la famille: **BENSAHA.***

*A tous mes amis : **MARWA, AICHA, MEANISSA, AHLAM, IMANE, SEAD, HINDA, CHEAIBA, AZIZA, ZAINEB, RABOUHA, SALIHA, FATIMA** et*

*Surtout : **GUIOUN Rahma***

A toute mes amis partout et en particuliers et surtout étudiantes de promotion 2^{ème} Master biochimie.

WAHIBA



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 Aicha**, qui ma apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

*A mon **cher père Messaoud**, qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.*

Que dieu les gardes et les protégé.

*A mes frères : **Hamid, Moumen, Khairo et Allal***

*A mes sœurs : **Zoubida, Zahra, Khaira, Kadidja et ma belle Merioma.***

*A mes belles sœurs: **Khadidja et Messaouda.***

Aux leurs enfants, les plus chères à mon cœur.

*A mes amies: **Safa, Kawther, Aicha, Selma, Bedra, Djihad, Yamina, Soumaia, Samira, Marwa, Maria et Sara**, vous êtes mes bons amies qui ne peuvent que jamais oublier.*

*A ma chérie **Bensaha Wahiba**, mon binôme, d'être patiente et dépasser tous les circonstances durant ce travail et de m'aider dans les moments difficiles.*

A mes tantes, à mes oncles.

*A toute la promotion de **Biochimie appliquée***

*A toute la famille de **GUITOUN.***



RAHMA

Liste des abréviations

% : Pourcentage

°C : Degré Celçus

µl : Microlitre

Ac: Absorbance du contrôle négatif.

AGPI: Acide gras polyinsaturés.

AINS: Anti-inflammatoires non stéroïdiens.

AN : Anis vert

At: Absorbance du l'extrait testé.

CA : Carvi

CN : Cannelle

CO : Coriandre

COX : Cyclo-oxygénases.

CR : Curcuma

CRP : Protéine C réactive.

CU : Cumin

DO : Densité optique.

DPPH[•] : 2,2-diphényl-1-pikrylhydrazyl.

DPPH-H : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazin.

EAG : Equivalant acide gallique.

Emole: 2169 de l'acide gallique.

ER : Equivalent rutine.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FE : Fenouil.

g : Gramme.

GI : Gingembre.

GSH-Px : Glutathion peroxydase.

H₂O₂ : Péroxyde d'hydrogène.

HClO : L'acide hypochloreux.

I % : Pourcentages d'inhibition.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice 50 % des radicaux libres.

M : 300.

M : Molarité.

Me : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant.

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.

N : Noix de muscade

NO : Monoxyde d'azote.

O₂⁻ : Radical superoxyde.

OH : Radical hydroxyle.

ONOO⁻ : Peroxynitrite.

P : Poids de l'échantillon.

P : Poivre noire

p. ex : Par exemple

R(%) : Rendement en %.

Rpm : Rotation par minute.

SOD : Superoxyde dismutase.

T% : Pourcentage du taux des tanins.

USDA : United States Department Of Agriculture.

UV-Vis : UV-Visible

V : Volume d'extrait utilisé.

LISTES DES FIGURES

Figure	Titre	Page
1	Aspect « Ras el hanout » (Mélange d'épices).	07
2	Activation plaquettaire au cours des premières étapes de la phase vasculaire.	12
3	Modifications précoces de l'endothélium vasculaire au cours de la réponse inflammatoire.	13
4	Rôle des anaphylatoxines C3 et C5 au cours des réponses inflammatoire.	14
5	Migration trans-endothéliale des leucocytes.	15
6	Rôles des cellules phagocytaires.	15
7	Réactions enzymatiques de piégeage des espèces réactives oxygénées ERO.	20
8	Piégeage du radical libre DPPH [•] .	32
9	Rendement d'extraction des différentes épices étudiées.	36
10	Coloration de milieu réactionnel dans le dosage des polyphénols.	37
11	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	37
12	Teneur des épices en polyphénols.	38
13	Aspect de la coloration dans le dosage des flavonoïdes.	40
14	Courbe d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonoïdes.	40
15	Teneur des épices en flavonoïdes.	41
16	Coloration de milieu réactionnel des tanins condensées et hydrolysables.	43
17	Teneur des épices en tanins hydrolysables et condensés (%).	43
18	Couleur des milieux réactionnels dans la méthode de réduction de DPPH [•] .	48
19	Les valeurs d'EC50 des épices étudiées.	49
20	Evaluation de l'activité anti inflammatoire.	53
21	Pourcentages de stabilisation de la membrane des érythrocytes par les épices étudiées.	53

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N°	Titre	Page
01	Atteintes engendrées par les ERO.	19
02	Classifications systématiques des épices étudiées.	26
03	Mélange binaires et équimolaires des épices étudiées.	28
04	Teneur des mélanges binaires d'épices en polyphénols.	39
05	Teneur des mélanges binaires d'épices en flavonoïdes.	42
06	Teneur des mélanges binaires d'épices en tanins hydrolysables.	45
07	Teneur des mélanges binaires d'épices en tanins condensés.	46
08	Concentrations efficaces (EC50) des mélanges binaires des épices.	50
09	Pourcentages d'inhibition de l'hémolyse des mélanges binaires des épices.	55

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	

PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES EPICES

1. Historique	06
2. Définition	06
3. Domaines d'utilisation	07

CHAPITRE II : ACTIVITES BIOLOGIQUES A ETUDIER

1. Activité anti inflammatoire	10
1.1. Définition de l'inflammation	10
1.2. Facteurs déclenchant l'inflammation	10
1.3. Type d'inflammation	11
1.4. Étapes de la réaction inflammatoire	12
1.5. Marqueurs d'inflammation	16
1.6. Types d'Anti-inflammatoires	16
1.7. Activité anti-inflammatoire des épices	17
2. Activité anti-oxydante	18
2.1. Notion des radicaux libres	18
2.2. Le stress oxydatif	18
2.3. Antioxydants et activité antioxydante	20

PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

1. Matériels	25
1.1. Matériel végétal	25
2. Méthodes	27
2.1. Extraction des principes actifs	27
2.2. Préparation des mélanges binaires et équimoléculaires	28
2.3. Dosage quantitatif des polyphénols	28
2.4. Dosage quantitatif des flavonoïdes	29
2.5. Dosage des tanins	30
2.6. Evaluation de l'activité antioxydant par la méthode du DPPH	31
2.7. Evaluation de l'activité anti inflammatoire	33

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Rendement d'extraction	36
1.1. Résultats	63
1.2. Discussion	36
2. Résultats de dosage quantitatif	37
2.1. Résultats	37
2.2. Discussion	47
3. Evaluation de l'activité antioxydante	48
3.1. Résultats du test du pouvoir antioxydant	48
3.2. Discussions	51
4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	52
4.1. Résultats de l'activité anti inflammatoire	52
4.2. Discussion	56
Conclusion	
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Depuis la nuit des temps, les Hommes soignent par les plantes qu'ils avaient à leur disposition contre les maladies bénignes, ou plus sérieuses. Ni le hasard, ni la religion et ni la superstition qui a guidé la médecine traditionnelle à employer une plante plutôt qu'une autre. Certainement, c'est l'expérience où les gens apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes (Iserin, 2001).

Parmi les plantes médicinales, se trouvent les épices, qui sont des parties de plantes aromatiques à la saveur forte utilisées en petites quantités en cuisine comme conservateur, colorant ou en assaisonnement (Hertog *et al.*, 1993; Bremness, 2002).

Plusieurs mélanges d'épices sont utilisés en gastronomie. « Ras el Hanout » est l'un de ces mélanges traditionnellement préparé et largement utilisé chez les habitants de Ouargla. Les épices essentiellement rentrés dans leur composition sont : la coriandre, le cumin, la cannelle, le gingembre, le poivre noir, laurier, le piment, le Curcuma, le carvi, le fenouiletc.

Enormément de ces épices ont des activités contre le stress oxydatif. Actuellement, les sociétés scientifiques, biologistes et chimistes, mettent en évidence le rôle tragique du processus oxydatif incontrôlable induit par les espèces réactives oxygénées (ERO). Ces oxydants sont à l'origine directe de différents états pathologiques tels que le vieillissement et le cancer et indirecte sur la peroxydation des lipides des denrées alimentaires (Belyagoubi, 2012). Tenir en compte l'intérêt accru des antioxydants d'origine naturelle vu le risque de cancérogénicité posé par certains antioxydants synthétiques (Djahra, 2014).

Une des activités biologiques douée également par les épices est le pouvoir anti-inflammatoire (Doucet-leduc, 1993; Mohammedi, 2006; Droniou et Cassaro, 2012; Omar et Atrooz, 2013). L'exemple de curcuma, gingembre, poivron, et le piment (Grosogeat et Compper, 2009). Ceci pourraient constituer une alternative dans la thérapeutique anti-inflammatoire du fait de leur meilleure accessibilité et de leur moindre toxicité (Khalil *et al.*, 2006; Tomihara *et al.*, 1993).

Ces différentes activités sont douées grâce à la richesse des épices en composés phytochimiques appelés encore métabolites secondaires (Moulard, 2001).

C'est à ce niveau d'appréhension d'activité antioxydante et d'activité anti inflammatoire, s'inscrit notre travail qui est à l'objectif d'évaluer ces deux activités chez les épices sélectionnées séparément et également la mise en évidence des effets synergiques des mélanges binaires et équimolaires en ces différentes épices vis à vis les activités ciblées.

Le présent travail est scindé en deux parties. La première regroupant des généralités sur les épices, les activités biologiques à étudier sous forme d'une synthèse bibliographique. Dans la deuxième partie, le matériel biologique et la méthodologie de travail y sont présentés, et les principaux résultats obtenus suivie des discussions. Et enfin une conclusion achève notre travail.

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les épices

1. Histoire des épices

Les épices tiennent une grande place en cuisine, qu'elle soit moderne ou ancienne. Leur connaissance est très ancestrale. Elles tiennent leur nom du cuisinier Apicuis, dans la Rome Antique. Pour s'en procurer, les arabes qui en détenaient le monopole, les grecs et les romaines, engagèrent de périlleuses expéditions maritimes vers les Indes, puis tracèrent une route terrestre vers la Chine, lieu principale de la production des épices (Guilloton, 2005). Aujourd'hui, ces richesses sont à la portée de tous, et font partie de notre vie quotidienne (Armand, 2009).

2. Définition des épices

Les épices sont des substances aromatiques d'origine végétale, Elles sont utilisées en petite quantité en cuisine comme conservateur, assaisonnement ou colorant. Un grand nombre d'épices étaient employées autrefois en médecine (Figueredo, 2012). Les épices sont des parties naturelles des plantes, comme des racines (gingembre), des écorces (cannelle), des feuilles ([laurier](#)), des fleurs ([clou de girofle](#)) et des graines (coriandre) (Häfliger, 1999).

Le traitement des épices est nécessaire afin de conserver le plus possible leur gout naturel, le traitement s'effectue généralement en détachant la structure végétale voulue et en la séchant dans des bonnes conditions (Redhead, 1990). Plusieurs mélanges d'épices sont utilisés en gastronomie, pour associer les propriétés gustatives ou produire un effet esthétique. On connaît par exemple le « curry » et « grama-massala » caractéristique de la cuisine Indienne (Bahorun, 1997). Et « Ras el Hanout » originaire d'Afrique du Nord. Etymologiquement, «Ras el Hanout» signifie littéralement, « en haut de la boutique» indiquant que, c'est un produit noble et trop demandé (Zette, 2009). Ce mélange a la particularité d'être différent dans la composition d'un marchand d'épices à l'autre (Ruth, 2009; Tyler, 2001).

Cinquante épices différentes peuvent être intervenir dans la constitution de « Ras-el-hanout ». Parmi ces épices, environ une vingtaine sont sélectionnées pour préparer le mélange. Ceci donne une diversité constitutionnel au « Ras-el-hanout » varie d'une région à l'autre. Comme on trouve également des mélanges simplifiés, contenant moins de 10 épices.

Les épices essentiellement rentrés dans la préparation sont : le cumin, paprika, curcuma, coriandre, fenouil, gingembre, poivre noire, romarin et origan, les pétales de rose, la cannelle.....etc. (Samuel *et al.*,2007).



Figure 1: Aspect « Ras el hanout » (Mélange d'épices) (Droniou, 2012)

3. Utilisation des épices

Les épices ont de nombreuses utilisations. Elles sont employées, soit sous leur forme naturelle comme condiment et en pharmacopée traditionnelle, soit par leurs extraits renfermant des principes actifs recherchés dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et alimentaire (Bahorun, 1997).

3.1. Utilisation nutritionnel

Les épices apportent de la variété et du gout aux denrées de base et aux sauces, ce qui excite l'appétit et permet de manger plus (Redhead, 1990).

Les épices étant utilisés parcimonieusement, elles ne contribuent pas, d'un point de vue nutritionnel, au régime alimentaire, mais elles contiennent souvent des principes actifs qui permettent de protéger les denrées contre la dégradation microbienne et oxydative.

Certaines épices supportent la cuisson, d'autre ne doivent pas cuire longtemps, elles risquent de perdre toutes leurs qualités. En règle générale, les épices doivent être rajoutées aux trois quarts de la cuisson (Sophie, 2006).

1.2. Utilisation médicinale

Aux doses utilisées en cuisine, toutes les épices sont bonnes pour la santé. Certaines épices facilitent la digestion des mets lourds, soit par les tanins contenus qui favorisent la sécrétion biliaire, soit parce qu'elles contiennent des lipases ou des protéases qui pré-digèrent les aliments qu'elles accompagnent (Bahorun, 1997). Aussi, on utilise les épices de nombreuses façons contre les piqûres de serpents, l'incontinence, les douleurs dues aux règles mensuelles, la faiblesse de la vue, les hémorroïdes, la jaunisse, la constipation, le diabète, la migraine, et autres. En effet, le coriandre est connu comme un antiseptique utilisé contre l'insomnie et la constipation ; le gingembre facilite la digestion et la cannelle est utilisée comme anti diarrhéique et contre les maux d'estomac (Guilloton, 2005; Häfliger, 1999).

1.3. Utilisation en cosmétique

Un grand nombre d'épices **sont utilisés pour élaborer des cosmétiques de toute sorte qui sont destinés à l'usage dermique, chevelu... ..etc. les plus utilisées sont le curcuma, la vanille, le clou de girofle, le romarin, le gingembre, la lavande, l'anis, la noix de muscade et la cannelle. Ces épices sont employées pour leurs propriétés antiseptiques et parfumant** (Mountagud, 2014).

Chapitre II : Activités biologiques à étudier

Les plantes aromatiques et épices sont utilisées depuis des siècles dans les préparations alimentaires non seulement pour la saveur qu'elles apportent mais également pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes , immun modulatrices...etc. (Pauli, 2001; Fabian *et al.*,2006).

3. Activité anti inflammatoire

3.1. Définition de l'inflammation

La réaction inflammatoire est la réponse de l'organisme aux diverses agressions (Pauli, 2001; Fabian *et al.*,2006; Peltier, 2012) physiques, chimique et infectieuse (Gaziano *et al.*,2006). Le rôle de cette réponse inflammatoire est d'éliminer l'agent agresseur et de permettre au plus vite la réparation des tissus (Peltier, 2012).

La réaction inflammatoire est caractérisée par les 4 signes cardinaux : rougeur, gonflement, chaleur et douleur. Russo-Marie *et al.*,(1998) ont rajouté la perte de fonction comme signe d'inflammation (Davoust-nataf *et al.*,2015).

1.2. Facteurs déclenchant l'inflammation

Chaque cellules peut être soumise à des agressions diverses, à savoir :

*Traumatiques, comme coupure, écrasement, entorse, fracture... etc.

*Physiques, comme (brûlure par la chaleur, gelure par le froid et les radiations ionisantes).

*Biologiques exogènes comme les pathogènes microbiens, dards d'insectes ou des microcristaux (cristaux d'urate). Ou endogènes comme les produits de dégradation tissulaires, des composés issus de la réaction immunitaire (complexes immuns, anticorps cytotoxiques, cytokines).

*Chimiques, comme les acides et les bases fortes (Zerbato, 2010).

Quelle que soit la nature du stimulus, les manifestations des réponses inflammatoires seront les mêmes. C'est l'intensité des manifestations et leur durée qui changent et conditionnent les effets bénéfiques ou délétères de la réaction inflammatoire (Weill et Batteux, 2003; Peltier, 2012).

1.3. Type d'inflammation

1.3.1. Inflammation aigue

L'inflammation aiguë représente la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines). D'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses (Zerbato, 2010). Suivie par le nettoyage du foyer inflammatoire par les macrophages, l'arrêt de l'afflux des phagocytes circulants, la mort par apoptose des cellules inutiles présentes dans le foyer inflammatoire et le retour à l'état initial sans aucune séquelle fonctionnelle ni anatomique (Peltier, 2012), mais si la destruction tissulaire est importante, l'inflammation peut laisser des séquelles (Zerbato, 2010).

1.3.2. Inflammation chronique

L'inflammation chronique correspond à une inflammation n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée et qui évolue en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années (Zerbato, 2010). Les signes de début sont identiques à ceux d'une inflammation aigue, mais les destructions tissulaires sont plus graves avec des conséquences fonctionnelles profondes. Au moins aussi fréquente que l'inflammation aigue, cette inflammation chronique laisse des séquelles anatomiques et fonctionnelles (Weill et Batteux, 2003). Dans beaucoup de cas, elle est liée à l'incapacité de l'organisme à éliminer la substance (Peltier, 2012).

On peut distinguer deux types de circonstances de survenue des inflammations chroniques :

- les inflammations aiguës évoluent en inflammations prolongées subaiguës et chroniques lorsque l'agent pathogène initial persiste dans les tissus, ou lorsqu'une inflammation aiguë récidive de façon répétée dans le même organe, en entraînant à chaque épisode des destructions tissulaires de moins en moins bien réparées (Zerbato, 2010).
- les inflammations peuvent parfois se manifester d'emblée sous une forme apparemment chronique. La phase aiguë vasculo-exsudative est passée inaperçue car brève ou asymptomatique. C'est souvent le cas de maladies auto-immunes et d'affections pour lesquelles les mécanismes dysimmunitaires sont prépondérants (cas de l'hépatite auto-immune) (Zerbato, 2010).

1.4. Étapes de la réaction inflammatoire

Habituellement, l'inflammation est divisée en trois grandes phases :

1.4.1. Phase vasculaire

La réponse vasculaire comporte une vasoconstriction très brève suivie d'une vasodilatation durable avec ralentissement du flux sanguin et augmentation de la perméabilité vasculaire, ce qui entraîne une fuite de liquide plasmatique et donc la formation d'œdèmes. L'augmentation de la perméabilité entraîne aussi la diapédèse et la migration extra vasculaire des leucocytes (Peltier, 2012; Heymone *et al.*, 2013).

La brève vasoconstriction de quelques secondes va perturber le mouvement des plaquettes dans la circulation sanguine et entraîner leur activation. La plaquette activée est capable de produire du thromboxane A2 aux propriétés agrégantes et vasoconstrictrices puissantes (Figure 2). Outre son rôle dans l'hémostase primaire, cette phase immédiate vasculaire a aussi pour fonction d'isoler l'agent étranger (Weill et Batteux, 2003).

De plus, l'activation des facteurs de coagulation en présence de facteurs tissulaires aboutit à la formation de fibrine qui vient consolider le clou hémostatique formé par l'agrégation des plaquettes (Figure2). La fibrine est un puissant agent chimiotactique des polynucléaires neutrophiles (Weill et Batteux, 2003).

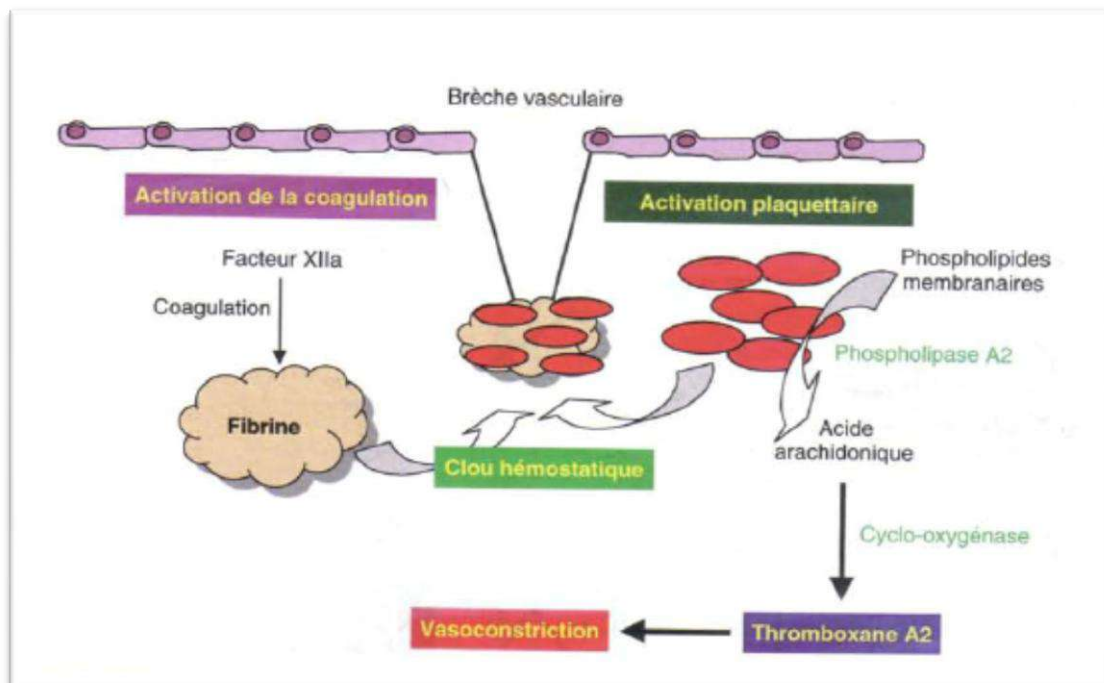


Figure 2 : Activation plaquettaire au cours des premières étapes de la phase vasculaire (Weill et Batteux, 2003).

Les phénomènes vasculaires dépendent de la libération de médiateurs tels que l’histamine, les eicosanoïdes (prostaglandines), les anaphylatoxines C3a et C5a générées par l’activation du complément. La libération de ces médiateurs induit une vasodilatation avec une modification de la perméabilité vasculaire et une augmentation des fenêtrures intercellulaires permettant l’extravasation des protéines plasmatiques et des cellules vers les tissus (Figure 3) (Weill et Batteux, 2003; Abadjian, 2012).

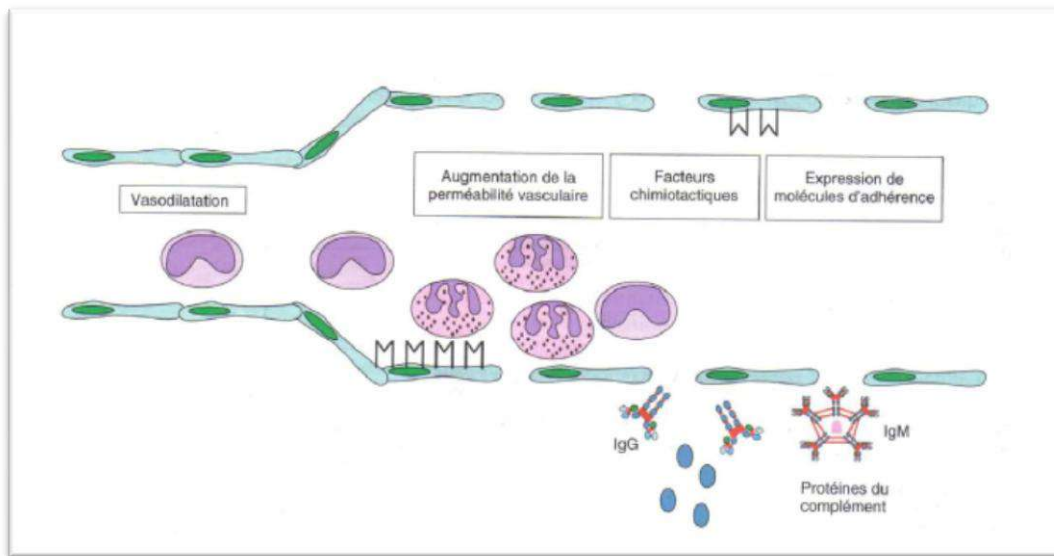


Figure 3 : Modifications précoces de l'endothélium vasculaire au cours de la réponse inflammatoire (Weill et Batteux, 2003).

Dès le début des phénomènes vasculaires, les polynucléaires et les monocytes quittent la partie centrale du flux sanguin pour gagner la paroi des vaisseaux, c’est la « margination » et y adhèrent, c’est « l’adhérence ». La diapédèse commence alors : les cellules marginées et adhérentes se frayent un chemin entre les cellules endothéliales (Figure 5 p 15). Arrivées dans l’espace extravasculaire, elles rejoignent ensuite le foyer inflammatoire grâce au chimiotactisme de diverses molécules telles que les anaphylatoxines C3a et C5a, les leucotriènes et les produits bactériens (Figure 4) (Russo-marie, 1998; Weill et Batteux, 2003).

L’altération des parois vasculaires va entraîner l’apparition de nouveaux récepteurs des cellules endothéliales comme ELAM-1 (endothelial leucocyte adhesion molecule-1) et VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) accentuant les phénomènes d’extravasation et de margination des cellules vers les tissus lésés (Russo-marie, 1998).

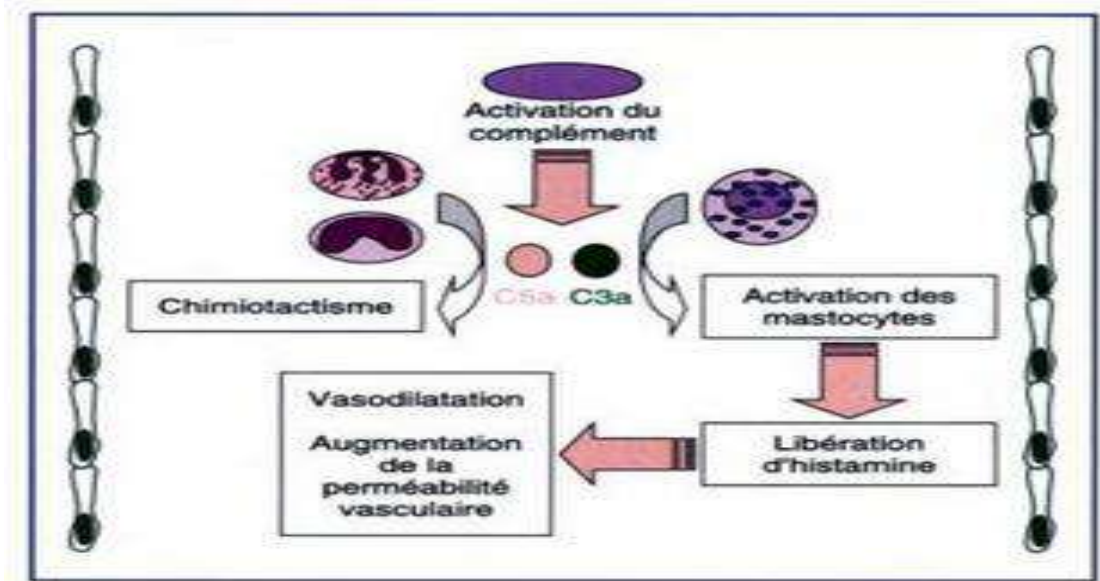


Figure 4 : Rôle des anaphylatoxines C3a et C5a au cours des réponses inflammatoire (Weill et Batteux, 2003).

1.4.2. Phase cellulaire

La phase cellulaire est caractérisée par un afflux extravasculaire interstitiel des leucocytes : les polynucléaires neutrophiles dans un premier temps puis les monocytes. L'accumulation des neutrophiles atteint un maximum à la 4^{ème} heure et décline rapidement, alors que le nombre de monocytes augmente après la 4^{ème} heure et atteint son maximum entre 18 et 24 heures (Abadjian, 2012).

Les polynucléaires circulants qui passent à proximité du foyer inflammatoire sont attirés vers celui-ci par des facteurs chimiotactiques. Les polynucléaires neutrophiles circulants se marginalisent et adhèrent aux cellules endothéliales. Les polynucléaires s'étalent sur les cellules endothéliales, on dit qu'ils « rampent ». Ils passent ensuite à travers la paroi vasculaire par diapédèse avec l'intervention d'une molécule d'adhérence spécifique : la PECAM (platelet et endothelial cell adhesion molecule). Les polynucléaires peuvent s'insinuer entre les cellules endothéliales et perforer la membrane basale grâce à la production de sérine-protéases puis pénétrer dans les espaces extravasculaires (Russo-marie, 1998). La migration du leucocyte dans le tissu conjonctif dépend du gradient de concentration en chimiokines sécrétées par les cellules phagocytaires et endothéliales présentes sur le site inflammatoire (Figure 5) (Russo-Marie, 1998 ; Weill et Batteux, 2013).

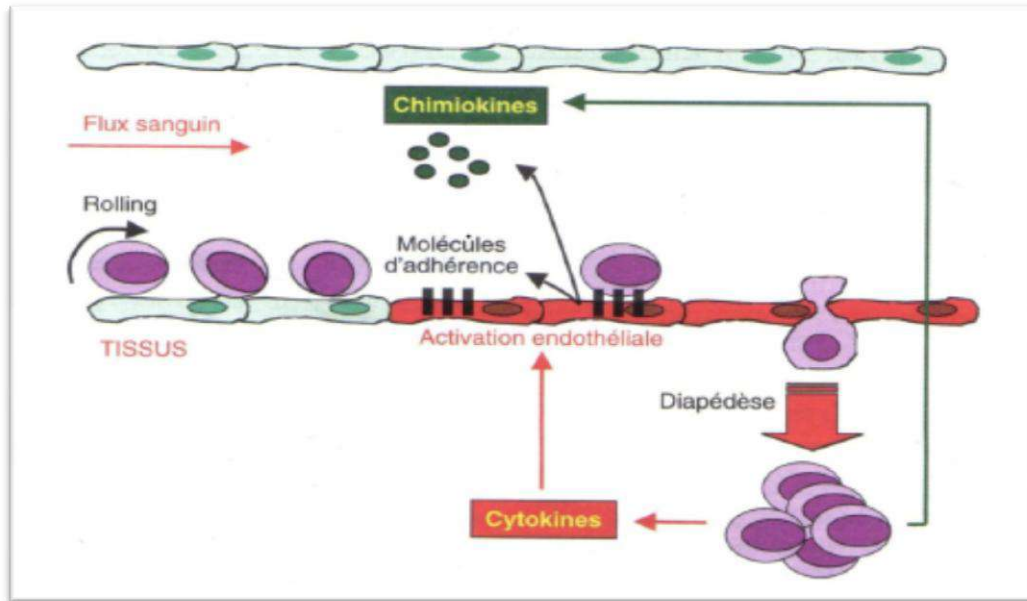


Figure 5 : Migration trans-endothéliale des leucocytes (Weill et Batteux, 2003).

Une fois présents dans le foyer inflammatoire, les polynucléaires phagocytent les substances étrangères opsonisées ou non (Figure 6) (Russo-marie, 1998; Weill et Batteux, 2003; [Defranco et al;](#)2009).

La deuxième vague cellulaire est constituée de monocytes circulants subissant le même sort que les polynucléaires (chimiotactisme, adhérence). Ils gagnent le foyer inflammatoire attirés par les facteurs chimiotactiques sécrétés par les neutrophiles où ils se transforment en macrophages. Ceux-ci assurent le nettoyage du foyer inflammatoire en cas d'inflammation aiguë et participe à la poursuite du processus inflammatoire en cas d'inflammation chronique par la production de nombreux médiateurs (cytokines, systèmes du complément, coagulation) (Russo-marie, 1998; Abadjian et Peltier, 2012).

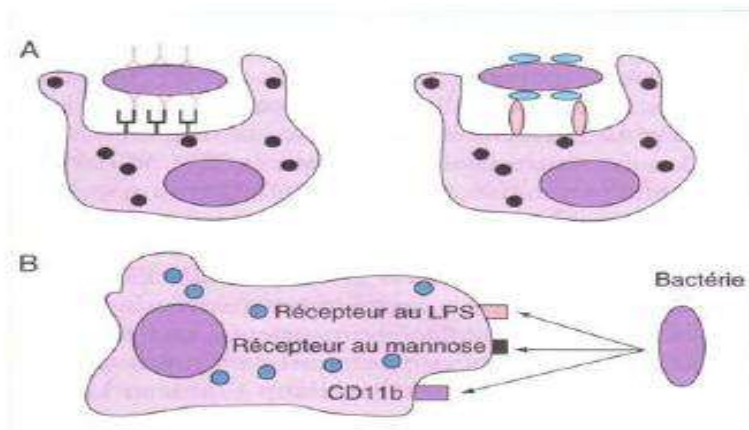


Figure 6 : Rôles des cellules phagocytaires (Weill et Batteux, 2003), Ces cellules phagocytent de nombreux pathogènes après leur opsonisation par des anticorps ou des protéines du complément (A) ou directement après interaction avec des récepteurs spécifiques (B).

1.4.3. Phase de résolution

Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps à la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes, ces cellules pouvant produire et remodeler les éléments de leur stroma (collagène de type I et III) ou de leur lame basale (collagène de type IV et V, laminine). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le tissu. Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, les fibrocytes puis les fibroblastes vont produire les protéines matricielles des tissus intercellulaires, comme le collagène, la fibronectine et la laminine (Revillar, 2001; Weill et Batteux, 2003).

1.5. Marqueurs d'inflammation

Des protéines supplémentaires sont souvent libérées depuis le site d'inflammation. Étant rapidement décelables dans la circulation sanguine, elles sont appelées marqueurs de l'inflammation. Le marqueur de l'inflammation sans doute le plus utilisé est la protéine C-réactive (CRP). La CRP a une action opsonisante favorisant la phagocytose des cellules apoptotiques et active le complément. Sa concentration plasmatique s'élève dès la 6^{ème} heure, est maximale à 24 heures et se normalise en 1 à 2 semaines. Elle est élevée en cas d'infection, de tumeur, de maladie auto-immune, mais aussi d'infarctus, de pancréatite, de stress physique et d'hyperoestrogénémie. La CRP augmente avec le degré d'inflammation, son dosage permet donc

d'apprécier l'évolution d'un foyer inflammatoire. En pédiatrie, une CRP>60mg/L est un signe de gravité justifiant souvent une hospitalisation (Heymonet, 2013).

1.6. Types d'anti-inflammatoires

1.6.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) regroupent un ensemble des molécules présentant des propriétés anti inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques les plus connus sont, l'[aspirine](#) ou l'[ibuprofène](#), dont l'effet majeur une réduction de l'œdème inflammatoire (Lekeux et Swan, 1991; Gogny et Puyt, 1992). Dans la majorité des cas, ces molécules sont utilisées pour lutter contre une fièvre ou des douleurs diverses. Leur efficacité est liée à leur mécanisme d'action principal qui est une inhibition de la cyclo-oxygénase (COX), enzyme responsable de la biosynthèse des prostaglandines et du thromboxane (Goldman-Mottet, 2004; Bacchi *et al.*,2012).

En dépit d'un mode d'action commun, certains AINS ont moins d'effets indésirables que d'autres. Ces différences pourraient s'expliquer par des différences d'affinité pour les deux principales isoformes de cyclo-oxygénases: la COX 1 et la COX 2. La COX 1 est constitutive et participe à la formation physiologique des prostaglandines et de leurs dérivés. Au contraire, la COX 2 est essentiellement une enzyme inductible, en dehors de rares tissus comme l'ovaire et certaines zones cérébrales où elle est constitutive, apparaissant en particulier lors de processus inflammatoires. Il serait donc théoriquement idéal, pour traiter un phénomène inflammatoire, de bloquer sélectivement la COX 2, en évitant le blocage de la COX 1 responsable en particulier de la gastrotoxicité des AINS (Lipsky *et al.*,2000; Monassier, 2005).

1.6.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens ou glucocorticoïdes sont des dérivés synthétiques des hormones naturelles, le [cortisol](#) et la [cortisone](#), qui peuvent avoir un effet court, l'exemple de [prednisone](#), [prednisolone](#), méthylprednisolone. Ou un effet intermédiaire ou prolongé, exemple de [bêtaméthasone](#). Les glucocorticoïdes ont, comme les AINS, une action inhibitrice de la synthèse des prostaglandines. Cette action s'exerce principalement sur la phospholipase A2, en amont du métabolisme de l'acide arachidonique par la cyclo-oxygénase (Georges, 2007; [Hordé](#), 2013).

2.6. Activité anti-inflammatoire des épices

La recherche médicale moderne a montré le pouvoir anti inflammatoire de certains épices tels que le curcuma, le gingembre, le poivron, le piment (Grosogeat et Compper, 2009). La curcumine et les substances voisines possèdent des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires et anti-cancéreuses (Jansen, 2005; Grosogeat et Compper, 2009). L'activité anti-inflammatoire de la curcumine est mise en évidence aussi bien sur l'inflammation aiguë (oedème de patte de rat induit par carragénine) que sur des modèles d'inflammation chronique (arthrite au formol, granulomes) (Laty et Bernard, 2004; Jurenka, 2009). l'étude de Deodhar *et al.*,(1980), a signalé que l'administration de curcuma à une dose journalière de 1200 mg chez des patients souffrant d'arthrite rhumatoïde, réduit les signes inflammatoires (Bisht *et al.*,2010; Basnet et Skalko-Basnet, 2011).

Le gingembre possède également des propriétés anti-inflammatoires très utiles. Il est particulièrement recommandé pour réduire le ventre, qui se voit souvent affecté par des inflammations ou par une mauvaise digestion et aussi pour soulager les douleurs reliées à l'arthrite et aux autres rhumatismes inflammatoires (Souto, 2015).

4. Activité anti-oxydante

2.1. Notion des radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute molécule ou atome possédant un ou plusieurs électrons non appariés, sur sa couche externe. Ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (Finaud *et al.*,2006; Mac-Laren, 2007).

Les principales espèces réactives de l'oxygène sont: le radical superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (OH), le monoxyde d'azote (NO), mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Roberts *et al.*,2010).

Les espèces réactives de l'oxygène comprennent non seulement les radicaux libres oxygénés mais aussi les radicaux libres dérivant d'autres espèces que l'oxygène par exemple : l'acide hypochloreux (HClO), le monoxyde d'azote NO^* qui se combine aisément avec le $O_2^{\bullet-}$ pour former le peroxyde d'azote (ONOO⁻) (Moussard, 2006).

2.2. Stress oxydatif

2.2.1. Définition et origine

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd *et al.*,2003).

En raison de leur capacité à endommager les cellules, les tissus et les organes, les espèces réactives de l'oxygène sont impliquées dans un grand nombre de pathologies, tant aiguës que chroniques (Gutteridge, 1993).

Certains de ces pathologies ont présentées dans le tableau 01 suivant :

Tableau 01 : Atteintes engendrées par les ERO (Ouibrahimi, 2015).

Biomolécules	Constituents cibles	Consequences
PROTEINE	Acides aminés (liaisons peptidiques et chaine latérale)	-Morcellement de la chaine (Berlett et Stadtman ,1997). -Production des groupements d'hydroxyles et carbonyles suite à une oxydation des acides amines. -Vulnérabilité aux protéases et dégradation protéolytique au niveau du protéasome (Lehucher-Michel <i>et al.</i> ,2001; Valko <i>et al.</i> ,2007; Jung <i>et al.</i> ,2007). -Perturbation et inactivation enzymatique.
ACIDE NUCLEIQUE (AND)	Bases puriques Bases pyrimidiques Désoxyribose	-Cassure des brins. -Convection des bases, EX : Guanine est transformée en 8-hydroxy-2-déoxyguanosine (8-OHdG) qui éliminée par les enzymes de réparation. -Altération des enzymes de réplication, de réparation et du matériel génomique; qui peuvent être des facteurs de risque dans la mutagenèse, la carcinogenèse et le vieillissement (Lehucher-Michel <i>et al.</i> ,2001; Favier, 2003; Valko <i>et al.</i> ,2007).

LIPIDE

Acide gras
polyinsaturés
(AGPI)

- Peroxydation lipidique membranaire.
- Libération de lipoperoxydes et aldéhydes instables (membranes) également du matériel à partir du compartiment subcellulaire.
- Diminution de la fluidité membranaire.
- Perturbation enzymatique et des récepteurs de la membrane.
- Dysfonctionnement et altération cellulaire.

(Beckman et Ames, 1998; Lehucher-Michel *et al.*,2001; Favier, 2003).

2.3. Antioxydants et activité anti-oxydante

2.3.1. Antioxydants

Les antioxydants sont définis comme l'ensemble des molécules susceptible d'inhiber directement à faibles doses la production, de limiter la propagation ou de détruire les ERO (Favier, 2003). Les antioxydants sont aussi définis comme des substances capables de protéger l'organisme contre les effets du stress oxydatif (Beirão et Bernardo-Gil, 2006).

2.3.1.1. Antioxydants enzymatiques

L'un des systèmes de défense antioxydants enzymatiques est constitué de trois enzymes: le superoxyde dismutase SOD, la glutathion peroxydase GSH-Px et la catalase (Figure 7). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel *et al.*,2001).

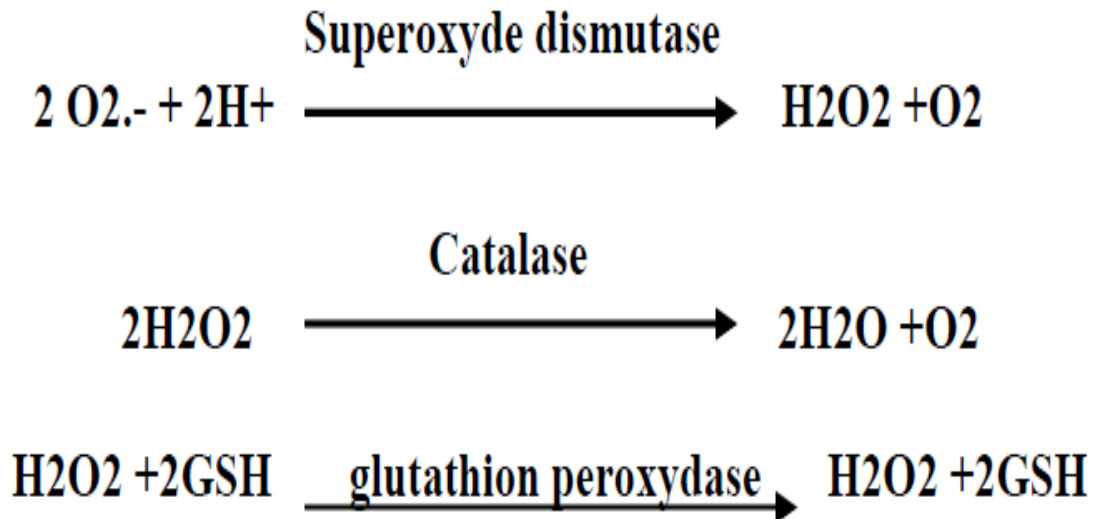


Figure 7: Réactions enzymatiques de piégeage des espèces réactives oxygénées ERO
(Halliwell, 2006).

2.3.1.2. Antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et nécessitent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant, nous retrouvons les oligoéléments, les vitamines E et C et les polyphénols (Kanoun, 2011).

a. Vitamine E

Un groupe de nombreux composants présents dans la nature désigne sous la vitamine E qui sont: les α -, β -, γ - et δ -tocophérols et tocotriénols (Ohrvall *et al.*;1996). Elle participe directement au niveau des membranes biologiques où elle piège les radicaux libres avant qu'ils n'atteignent leurs cibles (Goussard, 1999).

La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique (Evans, 2002; Packer *et al.*,1997).

b. Vitamine C (acide ascorbique)

La vitamine C ou acide ascorbique est l'antioxydant hydrosoluble majeur (Curtay et Robin, 2000). Elle se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire ; elle peut capter directement l' $\text{O}_2\cdot^-$ et l' $\text{OH}\cdot$. Elle peut aussi réduire le radical α -tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E (Evans, 2002; Packer *et al.*,1997).

c. β -carotène

La β -carotène est apporté par l'alimentation, Elle est précurseur de la vitamine A, elle capte l'oxygène singlet sous faible pression d'oxygène, et avec les autres caroténoïdes, elle a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipo peroxydation. Elle protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante car elle s'oppose à la génotoxicité de nombreux agents (Allard *et al.*, 1994).

La présence de nombreuses doubles liaisons au sein de leurs structures en fait des antioxydants reconnus, notamment par leur effet protecteur vis-à-vis des radiations solaires (UVA) (Biesalski *et al.*, 1996).

d. Oligoéléments

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Ces oligoéléments jouent le rôle de cofacteur pour maintenir l'activité catalytique des enzymes anti-oxydantes (Garait, 2006).

e. Composés phénoliques issus des végétaux

Les polyphénols, suscitent un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs (Beecher, 2003; Williams et Grayer, 2004; Kueny-Stotz, 2008). Une des raisons principales, est la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes et ainsi leur implication, probable dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant. Un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des maladies dégénératives telles que cancers, maladies cardio-vasculaires, ostéoporose ou maladies inflammatoires (Rock, 2003).

Les épices en générale, sont très riches en métabolites antioxydants, comme les Zingiberene, geranial, geraniol, b-bisabolene pour le gingembre ; Cinnamaldehyde, eugenol, eugenolacetate, cinnamylacetate, cinnamylalcohol, estragole, limonene, camphene pour la cannelle et le curcumine pour le curcuma...etc (Przygodzka *et al.*, 2014).

Partie II. ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I. Matériels et méthodes

1. Matériels

1.1. Matériel végétal

1. 1.1. Echantillonnage

Notre objectif est porté sur l'étude des activités anti-inflammatoire et antioxydant des mélanges binaires et équimolaires ainsi l'évaluation de leurs teneurs en métabolites secondaires (polyphénols, flavonoides et tannis) des épices usuellement constitutives de mélange «Ras el hanout », largement utilisées dans la gastronomie algérienne et sur tout Ouarglienne.



Le choix des épices est basé sur une enquête réalisé par Rahim et Reham, (2013) effectué auprès de 200 familles dans la région de Ouargla. Suivie d'un sondage réalisé par Boukri, (2014) et Atti, (2014), dans les herboristes de la région. Ces recherches ont révélé que la composition commune en épices participées dans la préparation du mélange « Ras el hanout », est estimée de dix épices. Qui sont la coriandre, gingembre, cannelle, anis vert, poivre noire, curcuma, carvi, noix de muscade, cumin et fenouil. Ces épices sont achetées d'après un herboriste au niveau de Ouargla.

1.1.2. Présentation des épices sélectionnées

La classification des épices choisies sont consignées dans le tableau 02 suivant :

Tableau 02 : Classifications systématiques des épices étudiées.

Epices	Classification	Epices	Classification
<p>Coriandre</p> 	<p>Règne Plantae Division Magnoliophyta Classe Magnoliopsida Ordre Apirals Famille Apiaceae Genre Coriandrum Espèce <i>Coriandrum sativum</i> L (Peter <i>et al.</i>,2006).</p>	<p>Gingembre</p> 	<p>Règne Plantae Classe Liliopsida Ordre Zingibérales Famille Zingibéraceae Genre Zingiber Espèce <i>Zingiber officinale</i> L (Mustafa, 1990).</p>
<p>Cumin blanc</p> 	<p>Règne Plantae Classe Magnoliopsida Ordre Apiales Famille Apiaceae Genre Cuminum Espèce <i>Cuminum cyminum</i> L (Lucienne, 2010).</p>	<p>Carvi</p> 	<p>Règne Plantae Classe Magnoliphyta Ordre Apiales Famille Apiaceae Genre Carum Espèce <i>Carum carvi</i> L (USDA).</p>
<p>Anis vert</p> 	<p>Règne Plantae Division Magnoliophyta Classe Magnoliopsida Ordre Apirals FamilleApiaceae (ombellifère) Genre Pimpinella Espèce <i>Pimpinella anisum</i> L (Bouderdara, 2013).</p>	<p>Cannelle</p> 	<p>Règne Plantae Classe Dicotyledonae Ordre Magnoliales Famille Lauraceae Genre Cinnamomum Espèce <i>Cinnamomum cassia</i> L (Girre, 2001).</p>
<p>Fenouil</p> 	<p>Règne Plantae Classe Magnoliopsida Ordre Apiales Famille Apiaceae Genre Foeniculum Espèce <i>Foeniculum Mill</i> L (Reduron, 2007)</p>	<p>Curcuma</p> 	<p>Règne Plantae Classe Liliopsida Ordre Zingibérales Famille Zingiberaceae Genre Curcuma Espèce <i>Curcuma domistica</i> L (Dupont <i>et al.</i>,2012).</p>

<p>Poivre noire</p> 	<p>Règne Plantae Classe Magnoliopsida Ordre Piperales Famille Piperaceae Genre Piper Espèce pipre <i>nigrum</i> L (Pham, 2007).</p>	<p>Noix de muscade</p> 	<p>Règne Plantae Division Magnoliophyta Classe Magnoliopsida Ordre Magnoliales Famille Myristicaceae Genre Myristica Espèce <i>Myristica fragrans</i> L (Jacquet <i>et al.</i>, 2007).</p>
--	---	--	--

2. Méthodes

2.1. Extraction des principes actifs

2.1.1. Principe et la méthode d'extraction

Après collecte, le matériel est bien nettoyé, lavé rapidement dans l'eau de robinet puis dans de l'eau distillé. Puis séché dans un endroit aéré et frais et à l'abri de soleil. Après séchage, les épices sont broyées grossièrement dans un moulin électrique.

L'extrait brut des épices étudiées est obtenu par macération. Ce type d'extraction est un simple contact entre le support solide et le solvant. La séparation se fait par filtration. Elle est utilisée couramment dans l'extraction des terpènes, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des acides gras, des amines.....etc (Penchev, 2010; Lumbu *et al* ;2005).

Les poudres des épices étudiées sont mises à macérer pendant 24 heures à température ambiante, dans un mélange méthanol-eau (80:20 V/V). L'extraction est refaite 3 fois avec renouvellement du solvant. Les macéras sont réunis et filtrés sur papier filtre. Le solvant est éliminé du filtrat sous vide à 40°C à l'aide d'un rotavapeur. Après l'évaporation du solvant, l'extrait sec est solubilisé dans le méthanol.

2.1.2. Rendement de l'extrait brut

Le rendement de l'extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé via l'équation :

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

R(%) : Rendement en %.

Me : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant.

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction (Harborne, 1998).

2.2. Préparation des mélanges binaires et équimolaires

Pour exécuter l'objectif de notre travail, des mélanges binaires et équimolaires ont été préparés, après l'extraction et la solubilisation des extraits secs dans le méthanol. Ces mélanges sont comptés de quarante cinq (tableau 03).

Tableau 03 : Mélange binaires et équimolaires des épices étudiées.

	CO	N	CR	P	FE	CU	CA	CN	G	A
Coriandre (CO)										
Noix de muscade (N)	CO/N									
Curcuma (CR)	CO/CR	N/CR								
Poivre noire (P)	CO/P	N/P	CR/P							
Fenouil (FE)	CO/FE	N/FE	CR/FE	P/FE						
Cumin (CU)	CO/CU	N/CU	CR/CU	P/CU	FE/CU					
Carvi (CA)	CO/CA	N/CA	CR/CA	P/CA	FE/CA	CU/CA				
Cannelle (CN)	CO/CN	N/CN	N/CN	P/CN	FE/CN	CU/CN	CA/CN			
Gingembre (G)	CO/G	N/G	CR/G	P/G	FE/G	CU/G	CA/G	CN/GI		
Anis vert (A)	CO/A	N/A	CR/A	P/A	FE/A	CU/A	CA/A	CN/A	GI/A	

2.3. Dosage quantitatif des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique de Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par (Wong *et al.*, 2006).

2.3.1. Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau, 1968). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765 nm est

proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Ghazi et Sahraoui, 2005; Boizot et Charpentier, 2006).

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué en 2007 par Li et ses collaborateurs. Brièvement 200 µl de chaque extrait (dissous dans le méthanol) ont été ajoutés à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans l'eau distillée. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après l'incubation, 800 µl de la solution de carbonate de sodium Na₂CO₃ (75g /l) a été ajoutée. Le mélange final a été secoué puis incubé pendant 30 minutes dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

2.3.2. Expression des résultats

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES) (Wong *et al.*,2006).

2.4. Dosage quantitatif des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) cité par Djeridane *et al.*,(2006) et Boudiaf,(2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

2.4.1. Principe

Le chlorure d'aluminium (AlCl₃) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 430 nm. 1 ml de chaque extrait et du standard (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

2.4.2. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) réalisé par un standard étalon " la rutine " à différentes concentrations

dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de la rutine par gramme d'extrait sec (mg ER/g ES).

2.5. Dosage des tanins

2.5.1. Dosage des tanins condensés (test de la vanilline avec H₂SO₄) (Swain et Hillis, 1956).

2.5.1.1. Principe

Ce test est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide. Il est spécifique des flavones-3-ols. 1 ml de chaque extrait (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à 2 ml d'une solution préparé par la vanilline à 1% avec l'acide sulfurique à 70%. Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 500 nm a été lue après 15 minutes d'incubation au bain marie à 20 °C.

2.5.1.2. Expression des résultats:

La teneur des tanins condensés en pourcentage est calculée par la relation suivante :

$$T(\%) = 5.2 \times 10^{-2} \times \frac{DO \times V}{P}$$

5.2×10^{-2} : Constante exprimée en équivalent de cyanidines.

DO : densité optique.

V : volume d'extrait utilisé.

P : poids de l'échantillon.

T% : pourcentage du taux des tanins condensés.

2.5.2. Dosage des tanins hydrolysables (au chlorure ferrique) (Mole et Watrman, 1987)

2.5.2.1. Principe

Cette méthode est basée sur une réaction avec le chlorure ferrique. Le mélange de l'extrait tannique avec le réactif chlorure ferrique provoque la coloration rouge violet du complexe, d'où la formation, des ions (Fe^{+3}). 1 ml de l'extrait et on ajoute dans chaque tube 3.5 ml d'une solution de FeCl_3 0.01M dans l'HCl 0.001M (V/V). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 660 nm a été lue directement.

2.5.2.2. Expression des résultats

La teneur des tanins hydrolysables en pourcentage est calculée par la relation suivante :

$$T(\%) = \text{DOx} \frac{\text{MxV}}{\text{Emole x P}}$$

DO : densité optique.

Emole : 2169 de l'acide gallique.

M : 300.

V : volume d'extrait utilisé.

P : poids de l'échantillon.

T% : pourcentage des tanins hydrolysables.

2.6. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode du DPPH

Le test DPPH, qui utilise une réaction d'oxydoréduction avec le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl radicale, a été utilisé pour déterminer la capacité anti-oxydantes des extraits (Manallah, 2012).

2.6.1. Principe

Le radical a une couleur violette en raison de l'électron non apparié d'azote et après réaction avec l'atome d'oxygène, d'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 suivie par spectrophotométrie à 515 nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (Molyneux et Songklanakarin, 2004; Cristina, 2009).

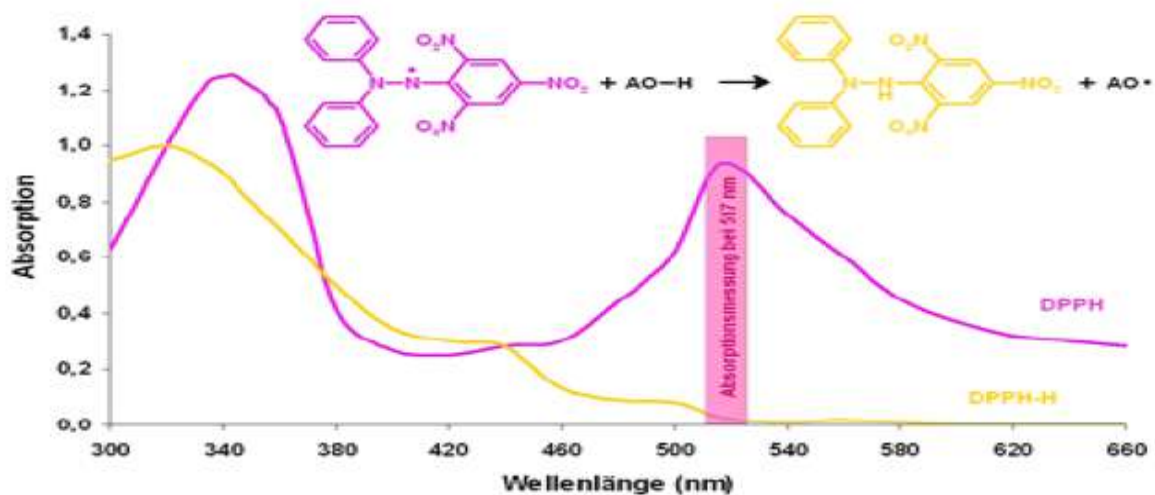


Figure 08 : Piégeage du radical libre DPPH• (Molyneux et Songklanakarin, 2004).

2.6.2. Mise en œuvre pratique

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Benhammou et *al.*, 2007.

Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait avec les mélanges binaires équimolaires sont ajoutés à 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH (0,024 g/l) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Ainsi que le témoin positif est l'acide ascorbique. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

2.6.3. Expression des résultats

2.6.3.1. Calcul des pourcentages d'inhibitions

Les pourcentages d'inhibition ont été calculés par la formule suivante :

$$I \% = ((Ac-At)/Ac) \times 100$$

Ac: absorbance à 515 nm du contrôle négatif.

At: absorbance à 515 nm du l'extrait testé.

2.6.3.2. Calcul les concentrations efficaces IC₅₀

Les pourcentages du DPPH résiduels en fonction des concentrations des extraits et leurs mélanges, nous permettent d'obtenir la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration de DPPH initiale à 50%. Cette valeur est appelée la concentration inhibitrice IC₅₀ et parfois notée EC₅₀ (Sanchez-Moreno *et al.*,1999). Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées (Prakash *et al.*,2007). Elle est exprimée en milligramme d'extrait par rapport au gramme DPPH dans le milieu réactionnel (Sanchez-Moreno *et al.*,1999).

2.7. Evaluation de l'activité anti inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire des extraits est évaluée *in vitro* via la méthode basée sur la déstabilisation des membranes des globules rouges induite par la chaleur.

2.7.1. Mise en œuvre pratique

Pour réaliser le test, le sang des volontaires sains, femmes, à différents âges, c'est collecté sur des tubes héparinés puis centrifugée à 3000 rpm et lavé 03 fois avec un volume égal de l'eau physiologique (0.9 %). Le volume du culot après lavage est mesuré et reconstitué en suspension à 10 % dans l'eau physiologique (Sadique *et al.*,1989; Saket *et al.*,2010).

Un volume de 1ml de différentes concentrations de chaque extrait avec les mélanges binaires équimolaires sont ajoutés à 1ml de suspension des globules rouges préparé. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 1ml de l'eau physiologique avec 1ml de la suspension. Ainsi que le témoin positif est le diclofénac. Après incubation 30 min à 56°C, les tubes sont centrifugés 5min à 2500 rpm. L'absorbance des surnagent est effectuée à 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

2.7.2. Expression des résultats

2.7.2.1. Calcul les pourcentages de stabilisation des membranes des globules rouges

Les pourcentages de stabilisation ont été calculés par la formule suivante :

$$I \% = ((Ac-At)/Ac) \times 100$$

Ac: absorbance à 560 nm du contrôle négatif.

At: absorbance à 560 nm du l'extrait testé (Shinde *et al.*,1999; Saket *et al.*,2010).

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction

1.1. Résultats

Le calcul des rendements fait ressortir les résultats mentionnés dans la figure 9

Suivante :

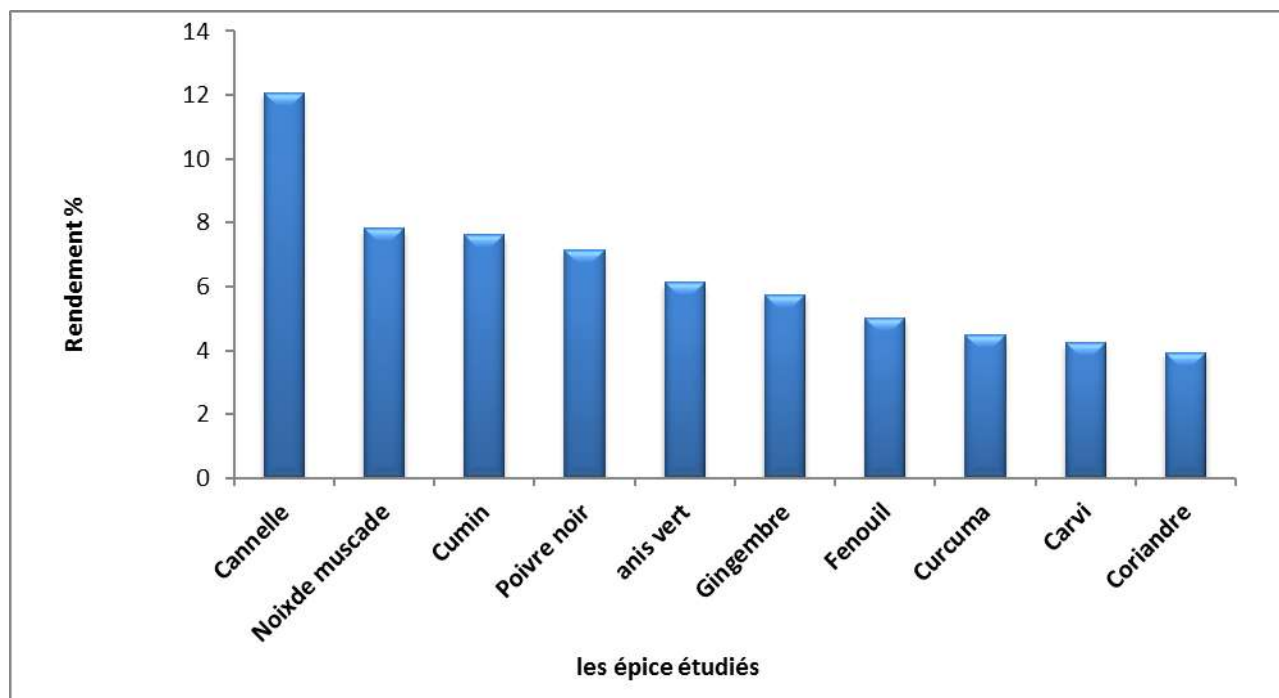


Figure 9 : Rendement d'extraction de différentes épices étudiées.

L'exécution de cette figure montre que, *Cinnamomum cassia* (Cannelle) a donné le meilleur rendement d'extraction avec un taux de 12.07%. Suivie de *Myristica fragrans* (Noix de muscade), *Cuminum cyminum* (Cumin), *Piper nigrum* (Poivre noir) et *Pimpinella anisum* (Anis vert) qui marquent les valeurs 7.81%, 7.62%, 7.15% et 6.13%, respectivement. Les rendements relativement faibles ont été obtenus avec les épices *Zingiber officinale* (Gengembre), *Foeniculum mill* (Fenouil), *Carum carvi* (Carvi), *Curcuma longa* (Curcuma) et *Coriandrum sativum* (Coriandre), dont les valeurs enregistrées sont de 5.75%, 5.02%, 4.24%, 4.48% et 3.93%, respectivement

1.2. Discussion

L'extraction des composés bioactifs à partir de matière végétale sèche ou fraîche est la première étape dans l'utilisation des composés phytochimiques ; pour la recherche, préparation de suppléments alimentaires ou nutraceutiques, comme ingrédients alimentaires, produits pharmaceutiques ou produits cosmétiques (Dai et Mumper, 2010).

Le méthanol, généralement, représente le solvant utilisé pour l'extraction de composés bioactifs. Ces composés appartiennent aux différents groupes chimiques tels que les composés phénoliques, des alcaloïdes, des glycosides, des lignanes, terpenoïdes,etc. Le méthanol a un indice de polarité moyen estimé de 5,1. Il est utilisé pour l'extraction de divers composés polaires, et certains groupes légèrement apolaires. Le méthanol est choisi également parce qu'il a un point d'ébullition faible (65 °C) permettant leur évaporation facile après l'extraction (Sun *et al.*, Rosangela *et al.*,2007).

2. Résultats de dosage quantitatif

2.1. Résultats

2.1.1. Dosage des polyphénols

Les concentrations des extraits en polyphénols totaux sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES), en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, dont l'aspect de la coloration est montré dans la figure 10. Ces concentrations sont calculées *via* l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Figure 11).



Figure 10 : Coloration de milieu réactionnel dans le dosage des polyphénols.

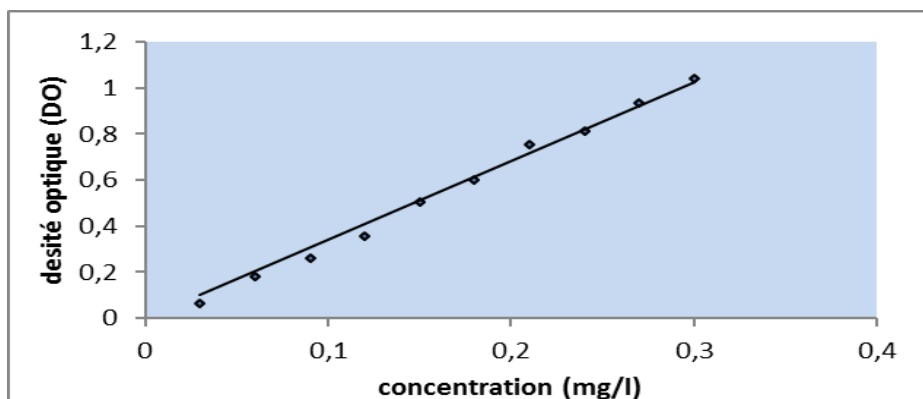


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les concentrations calculées pour chaque épice seule sont illustrées dans la figure 12 suivante. Alors que celles des mélanges sont enregistrées dans le tableau 04.

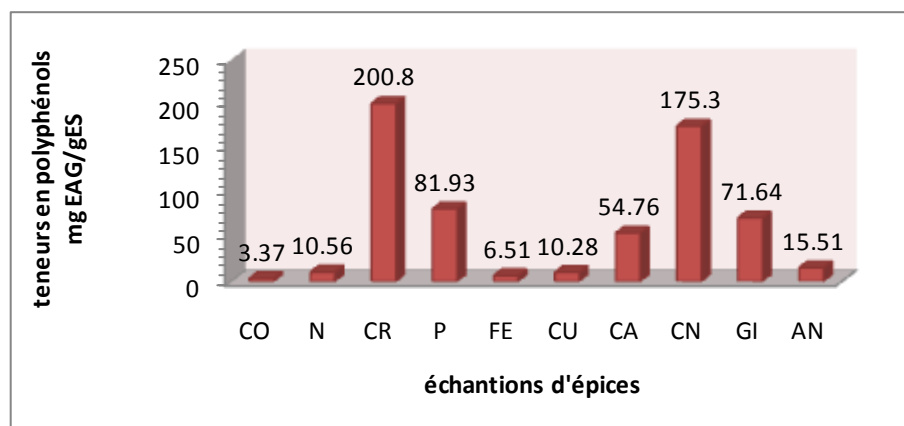


Figure 12 : Teneur des épices en poly phénols.

La figure 12 illustre le contenu des extraits bruts des épices étudiées en polyphénols. L'exécution des résultats fait ressortir, que le curcuma et la cannelle sont nettement les plus riches en polyphénols avec des concentrations atteignent respectivement 175.3 et 200.8 mg EAG/g ES. À la suite, se localisent le poivre, gingembre et le carvi avec des teneurs 81.93, 71,64 et 54,76 mg EAG/g ES. La figure montre également que l'épice le plus pauvre en polyphénol est la coriandre, dont la teneur ne dépasse pas 3.37 mg EAG/g ES.

Les teneurs mélanges binaires d'épices en polyphénols, sont citées dans le tableau 04 suivant, l'examen de tableau fait apparaitre une amélioration (synergie), addition ou diminution des concentrations par l'association des épices. Seulement deux effets synergiques sont observés au voisinage des couples noix de muscade-anis vert et cumin-anis vert (tableau 04). La plus part des mélanges témoignent une diminution de leurs contenu en polyphénols par rapports aux épices qui les composent.

Tableau 04: Teneur des mélanges binaires d'épices en polyphénols.

Epices	Coriandre	Noix de m.	Curcuma	Poivre noir	Fenouil	Cumin	Carvi	Cannelle	Gingembre	Anis vert
Coriandre	3.37	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Noix de m.	10.73	10.56	/	/	/	/	/	/	/	/
Curcuma	9.21	45.26	200.8	/	/	/	/	/	/	/
Poivre noir	18.73	21.17	35.55	81.93	/	/	/	/	/	/
Fenouil	1.24	13.64	48.68	16.04	6.51	/	/	/	/	/
Cumin	3.04	7.55	39.59	15.65	2.24	10.28	/	/	/	/
Carvi	8.98	3.73	35.33	1.55	43.11	18.26	54.76	/	/	/
Cannelle	24.22	127.11	132.18	113.73	146.51	76.58	110.98	175.3	/	/
Gingembre	15.34	6.43	75.41	18.42	30.90	54.09	35.4	124.81	71.64	/
Anis vert	19.81	44.4	88.18	23.93	8.56	27.49	5.27	138.39	17.39	15.51

2.1.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est réalisé par la méthode colorimétrique décrite par (Djeridane *et al.*,2006) l'aspect de la coloration obtenu est démontré dans la figure 13. Les concentrations sont calculées *via* la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée avec la rutine, les concentrations sont exprimées en mg équivalent rutine par gramme d'extrait sec (Figure 14).

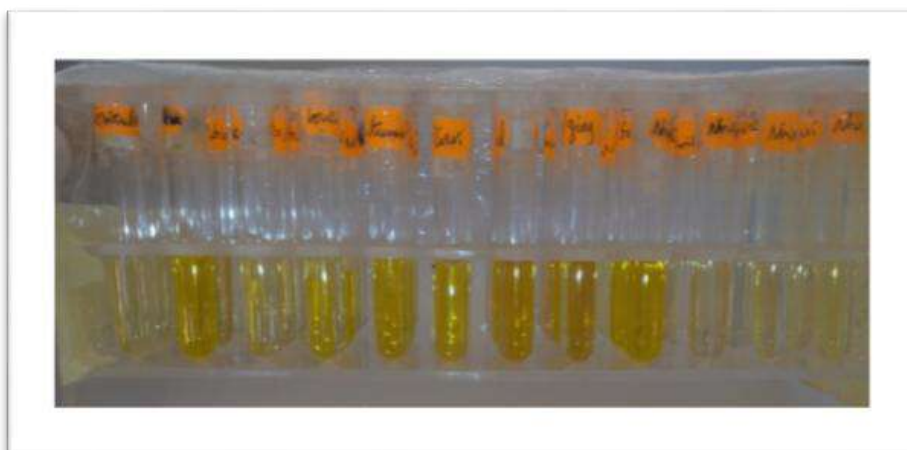


Figure 13: Aspect de la coloration dans le dosage des flavonoïdes.

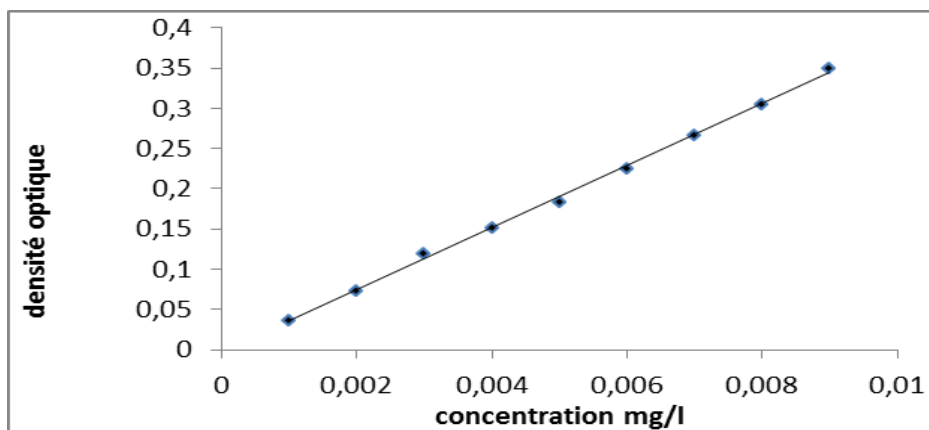


Figure 14: Courbe d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonoïdes.

Les concentrations calculées pour chaque épice seule sont illustrées dans la figure 15 suivante. Alors que celles des mélanges sont enregistrées dans le tableau 05.

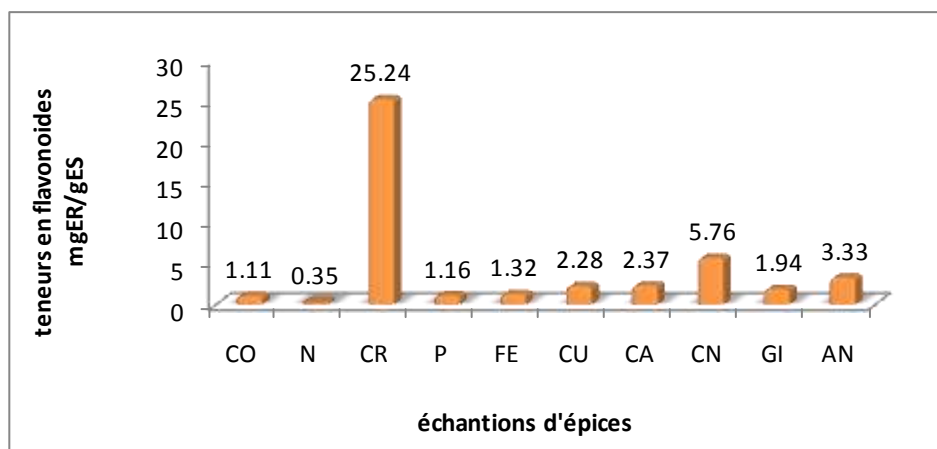


Figure 15: Teneur des épices en flavonoïdes.

La comparaison des teneurs en flavonoïdes de différentes épices, fait constater que le curcuma est le plus riche relativement en flavonoïdes. Avec une concentration de 25.24 mgER/gES. Les concentrations chez les épices restantes sont comprises entre 5.76 et 1.11, respectivement pour la cannelle et la coriandre (figure 15). Tandis que la valeur la plus faible est celle donnée par noix de muscade qui ne dépasse pas 0.35 mg ER/g ES.

En comparant les valeurs enregistrées pour les mélanges citées dans le tableau 05, on remarque une amélioration des concentrations en flavonoïdes de curcuma, mélangé avec la noix de muscade, fenouil, cumin, carvi, cannelle, et sur tout avec le gingembre (cases colorées en bleu foncé dans le tableau 05). D'autres mélanges faiblement synergiques sont également constatés (cases colorées en rose dans le tableau 05). Exemple des mélanges de poivre avec la coriandre, noix de muscade, cumin, carvi et la cannelle. Egalement les mélanges de gingembre avec la coriandre, fenouil, cumin, carvi et cannelle (tableau 05).

Tableau 05: Teneur des mélanges binaires d'épices en flavonoïdes

Epices	Coriandre	Noix de m.	Curcuma	Poivre noir	Fenouil	Cumin	Carvi	Cannelle	Gingembre	Anis vert
Coriandre	1.11	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Noix de m.	1.15	0.35	/	/	/	/	/	/	/	/
Curcuma	8.66	45.58	25.24	/	/	/	/	/	/	/
Poivre noir	1.81	2.37	3.55	1.16	/	/	/	/	/	/
Fenouil	0.94	1.04	51.07	1.17	1.32	/	/	/	/	/
Cumin	1.26	2.88	35.01	2.41	2.36	2.28	/	/	/	/
Carvi	1.03	1.63	51.27	3.37	2.08	0.36	2.37	/	/	/
Cannelle	5.73	4.65	44.82	6.5	5.85	7.28	6.23	5.76	/	/
Gingembre	2.22	1.59	59.67	1.85	3.25	4.22	3.26	6.6	1.94	/
Anis vert	3.3	3.2	39.24	2.89	4.74	4.59	3.69	5.59	3.57	3.33

2.1.3. Dosage des tanins condensés et hydrolysables

Les tanins sont des polyphénols distingués en deux groupes, basés sur des différences structurales: les tanins hydrolysables (tanins galliques et éllaquiques) et les tanins condensés (tanins catéchiqes) (Ghestem, 2001). Le dosage de ces molécules est effectués colorimétriquement, dont leurs aspect sont montrés dans la figure 16 A et B.

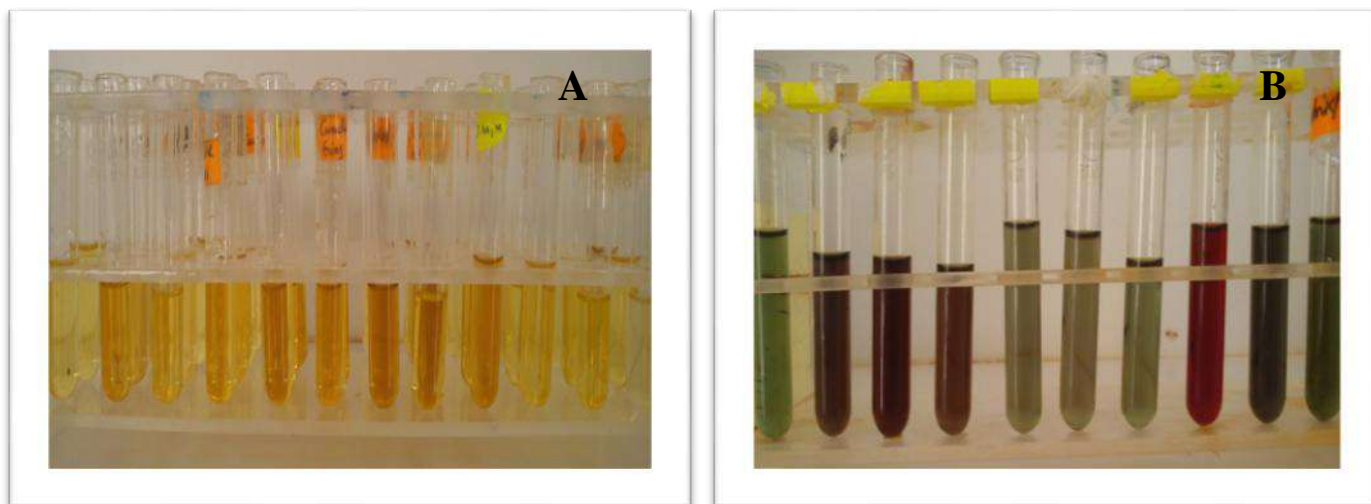


Figure 16 : coloration de milieu réactionnelle : **A.** tanins hydrolysables ; **B.** tanins condensés

Les concentrations, calculées par l'application des formules montrées antérieurement, sont exprimées en % par rapport à la matière sèche. Ces concentrations sont illustrées dans la figure 17 suivante.

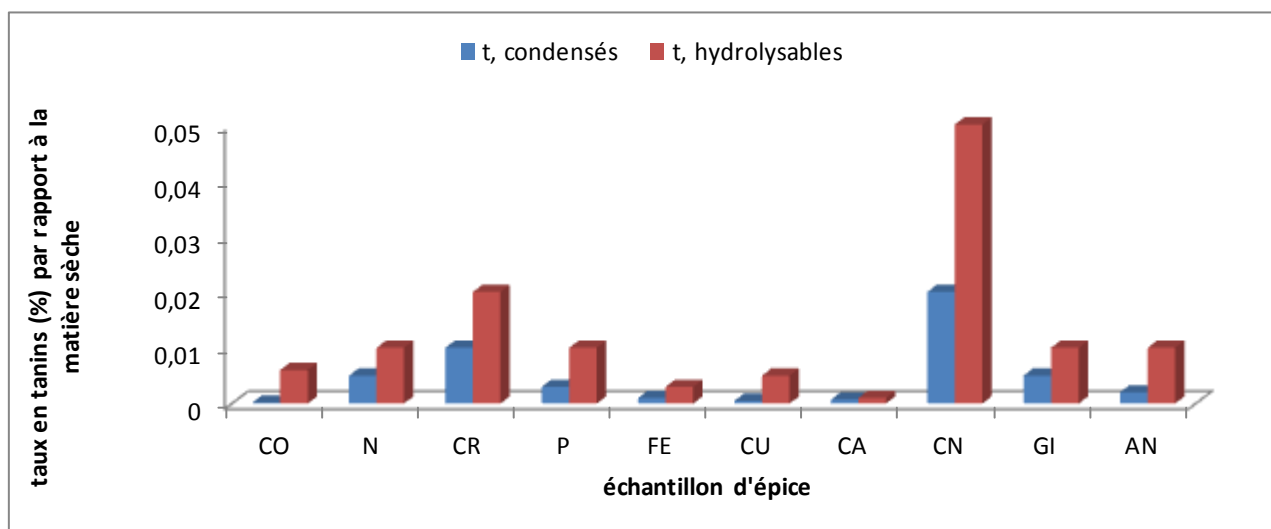


Figure 17: Teneur des épices en tanins hydrolysables et condensés (%).

L'examen de la figure au-dessus, laisse ressortir que les taux en tanins hydrolysable est remarquablement supérieur à ceux en tanins condensés chez toutes les épices. La comparaison des épices entre elle, fait enregistrer que la cannelle est la plus riche en tanins hydrolysables et condensés avec des taux 0.05 et 0.02% respectivement ; suivie de curcuma puis gingembre et noix de muscade (Figure 17). Le fenouil et le carvi semblent les plus pauvres en tanins, hydrolysables et condensés respectivement (Figure 17).

L'effet de la combinaison entre les épices sur les tanins est montré dans les tableaux 06 et 07 dont, peu d'effets synergétique ont été relevé (cases colorées en bleu). Pour les tanins hydrolysables on a trouvé une amélioration par la combinaison fenouil-cannelle. Cette amélioration est enregistrée chez les tanins condensés, au voisinage de la cannelle avec le curcuma, fenouil et carvi. Et dans le couple cumin-carvi (tableau 06 et 07).

Tableau 06: Teneur des mélanges binaires d'épices en tanins hydrolysables.

Epices	Coriandre	Noix de m.	Curcuma	Poivre noir	Fenouil	Cumin	Carvi	Cannelle	Gingembre	Anis vert
Coriandre	0.006	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Noix de m.	0.0001	0.01	/	/	/	/	/	/	/	/
Curcuma	0.005	0.007	0.02	/	/	/	/	/	/	/
Poivre noir	0.0013	0.0014	0.005	0.01	/	/	/	/	/	/
Fenouil	0.0001	0.002	0.007	0.002	0.003	/	/	/	/	/
Cumin	0.0008	0.004	0.006	0.001	0.001	0.005	/	/	/	/
Carvi	0.0003	0.0008	0.007	0.001	0.0005	0.0016	0.001	/	/	/
Cannelle	0.012	0.013	0.02	0.011	0.07	0.01	0.011	0.05	/	/
Gingembre	0.0011	0.01	0.01	0.003	0.0002	0.003	0.002	0.013	0.01	/
Anis vert	0.0023	0.002	0.004	0.002	0.0017	0.0021	0.002	0.008	0.0014	0.01

Tableau 07: Teneur des mélanges binaires d'épices en tanins condensés.

Epices	Coriandre	Noix de m.	Curcuma	Poivre noir	Fenouil	Cumin	Carvi	Cannelle	Gingembre	Anis vert
Coriandre	0.0002	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Noix de m.	0.002	0.005	/	/	/	/	/	/	/	/
Curcuma	0.0003	0.006	0.01	/	/	/	/	/	/	/
Poivre noir	0.0002	0.004	0.003	0.003	/	/	/	/	/	/
Fenouil	0.0003	0.004	0.003	0.002	0.001	/	/	/	/	/
Cumin	0.0002	0.002	0.003	0.002	0.001	0.0005	/	/	/	/
Carvi	0.0004	0.003	0.005	0.002	0.0007	0.001	0.0007	/	/	/
Cannelle	0.004	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.018	/	/
Gingembre	0.002	0.004	0.005	0.003	0.002	0.002	0.002	0.01	0.005	/
Anis vert	0.0008	0.003	0.003	0.002	0.0007	0.0012	0.002	0.014	0.0014	0.002

2.2. Discussion

Les composés phénoliques sont des molécules possédant un ou plusieurs noyaux aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyles. Représentent les métabolites secondaires les plus abondantes de règne végétal. Et sont à l'origine des propriétés organoleptiques des aliments d'origine végétale.

Le dosage des polyphénols dans les épices, a révélé la richesse de certaines d'elles en ces composés et la pauvreté relativement de certaines d'autres. Dont l'ordre décroissant suivant est constaté : curcuma > cannelle > poivre > gingembre > carvi > anis vert > noix de muscade fenouil > coriandre. Cet ordre trouve leur concordance avec d'autres études antérieures et parfois non. Maizura,(2011), a signalé que le gingembre est plus riche en polyphénols que le curcuma. Ainsi que l'étude de Kim *et al.*,(2011) sur un ensemble d'épices, ont trouvé que le coriandre est le plus riche en polyphénols suivie de carvi puis curcuma et fenouil puis le cumin. En réalité, il est difficile de comparer nos résultats avec d'autres, En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs à savoir les conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage (Falleh *et al.*,2008; Podsdek, 2007).

Les flavonoïdes représentent la sous classe des polyphénols les plus abondants dans notre alimentation. Les flavonoïdes sont eux-mêmes divisés en six sous-groupes: flavones, flavonols, flavanols, flavanones, isoflavones, et anthocyanes. Notre étude a montré des teneurs variables en flavonoïde d'une épice à l'autre mais c'est le curcuma qui prend la majeure classe. Ceci corrobore les résultats de kim *et al.*,(2011). Les flavonoïdes les plus répandus dans le curcuma sont représentés par la famille des curcuminoïdes, responsable de la coloration jaune. Cette famille comprend le curcumine, desméthoxycurcumine, bidesméthoxycurcumine et dihydrocurcumine.

L'ensemble des expériences menées avec la curcumine ont permis d'observer qu'elle contribue à inhiber la prolifération cellulaire et l'angiogénèse à différentes étapes du développement de différents [cancers](#). Elle possède aussi un fort pouvoir [antioxydant](#), [anti-inflammatoire](#) et immuno-modulateur (Li, 2011).

Un autre groupe des polyphénols est représenté par les tanins distingué en tanins hydrolysables (tanins galliques ou éllaquiques) qui sont des esters du glucose et d'acides phénolique (acide gallique et l'acide éllagique) (Ghestem, 2001) ; Et en tanins condensés (tanins catéchiques), chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités de flavonoïdes (Ghestem, 2001). Ces molécules sont solubles dans l'eau et caractérisés par leur

astriugence (Peronny, 2005). Le dosage des tanins a montré la richesse de la cannelle en ces molécules. Confirmant les résultats de Ahmed *et al.*,(2013) et Mazimba *et al.*,(2015), qui ont signalé la richesse de genre *Cinnamomum* en tanins.

La recherche de synergisme entre les composés phénoliques n'a pas apporté de résultats probants. Plus tôt c'est l'antagonisme ou l'addition qui est plus marqué. Surtout pour les polyphénols totaux et les tanins. Les flavonoïdes ont montré, relativement, beaucoup de combinaison en épices renforçant les concentrations en ces métabolites. Très peu d'étude ont été trouvée sur la synergie entre les épices, l'étude de Maizura,(2011), sur le mélange de curcuma et de gingembre a constaté une diminution de taux en polyphénols dans le mélange par rapport aux épices séparées. L'interprétation des résultats semble difficile vue la grande diversité des métabolites et les interactions chimiques au sein de chaque extrait. On estime que le mélange de deux extraits augmente les interactions hydrogènes et électrostatiques entre les molécules en gênant ainsi les réactif de dosage de s'interagir librement avec les molécules.

3. Evaluation de l'activité antioxydante

3.1. Résultats du test du pouvoir antioxydant

L'activité anti-oxydante des différents extraits est évaluée par la méthode de réduction de radicale DPPH[•] (figure 18). Les valeurs des DO obtenues en fonction de différentes concentrations sont converties en pourcentage d'inhibitions par l'application de la formule décrite dans la méthodologie. Ces pourcentages ont permis de tracer des courbes en fonction de différentes concentrations. Les courbes tracés ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui signifie la réduction presque totale du DPPH[•] en sa forme non radicalaire (annexelet 2). A partir de ces courbes nous pouvons déterminer les valeurs d'IC₅₀ (EC₅₀) de chaque extrait et des mélanges préparés. Plus la valeur d'EC₅₀ est petite, plus l'extrait a une forte activité antioxydante. L'acide ascorbique est utilisé comme témoin positif.



Figure 18: Couleur des milieux réactionnels dans la méthode de réduction de DPPH[•].

Les valeurs des concentrations efficaces des épices étudiées sont présentées dans la figure 19 alors que, celles des mélanges sont enregistrées dans le tableau 08.

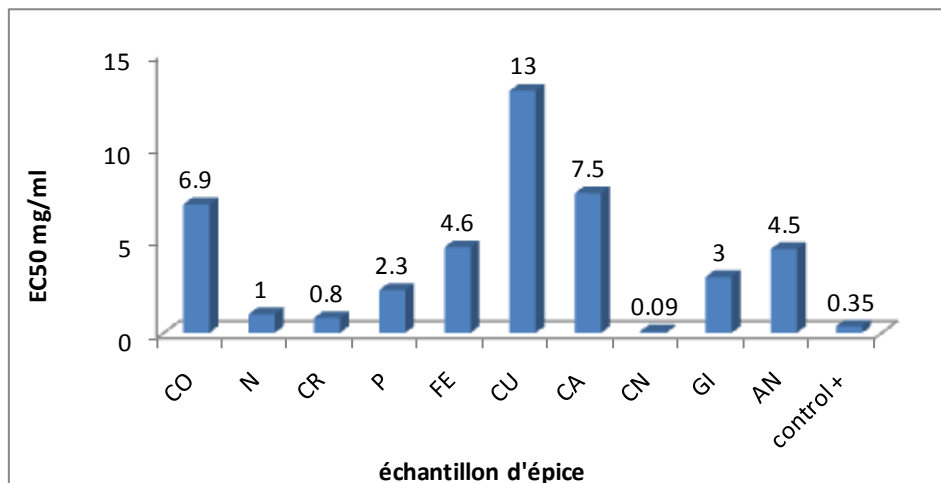


Figure 19: les valeurs d'EC₅₀ des épices étudiées.

La figure 19 présente les valeurs d'EC₅₀ des épices étudiées, l'exécution de cette figure laisse constater que la cannelle est relativement la plus efficace dans la réduction de DPPH•, la valeur de EC₅₀ est estimée de 0.09 mg/ml. Cette activité est nettement plus importante que celle de l'acide ascorbique avec une EC₅₀ égale à 0.35mg/ml. En seconde position se situe le curcuma *et* noix de muscade avec des activités antioxydantes voisines. Ceci se traduit par les valeurs de leurs IC₅₀ respectives (0.8 et 1 mg/ml). Le cumin est l'épice le plus faible relativement en ce qui concerne la réduction de radical DPPH avec une EC₅₀ égale 13 mg/ml (Figure 19).

Effet des interactions entre les couples d'épices, sur les valeurs des EC₅₀ est enregistré dans le tableau 08. L'exécution de ce tableau montre seulement deux effets synergiques sur l'activité antioxydante témoignés au voisinage de mélange cumin-coriandre et carvi- coriandre.

Tableau 08: Concentrations efficaces (EC50) des mélanges binaires des épices.

Epices	Coriandre	Noix de m.	Curcuma	Poivre noir	Fenouil	Cumin	Carvi	Cannelle	Gingembre	Anis vert
Coriandre	6.9	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Noix de m.	4	1	/	/	/	/	/	/	/	/
Curcuma	4	3.2	0.8	/	/	/	/	/	/	/
Poivre noir	7.9	4	1.3	2.3	/	/	/	/	/	/
Fenouil	5.6	5	2.2	5	4.6	/	/	/	/	/
Cumin	4	5	3.7	3	6	13	/	/	/	/
Carvi	2.3	5	5	5.9	6.9	4	7.5	/	/	/
Cannelle	7	0.28	0.18	0.32	0.01	0.25	0.18	0.02	/	/
Gingembre	3.2	3	2.6	3	2	4	4	1	3	/
Anis vert	18	4.1	4.3	3.8	6	5	6.5	0.27	4.6	4.5

3.2. Discussions

Les épices sont reconnues comme sources d'antioxydants naturels qui peuvent protéger l'organisme contre le stress oxydatif et donc jouer un rôle important dans la chimioprévention des maladies résultant de la peroxydation des lipides (Nakatami, 2000). Przygodzka *et al.*,(2014), montrent que les épices sont très riches en métabolites antioxydants, comme les Zingiberene, geranial, geraniol, b-bisabolene pour le gingembre ; Cinnamaldehyde, eugenol, eugenolacetate, cinnamylacetate, cinnamylalcohol, estragole, limonene, camphene pour la cannelle et le curcumine pour le curcuma...etc.

L'efficacité antioxydante de la cannelle est estimée par plusieurs auteurs. Asimi *et al.*, (2013), ont trouvé que la cannelle est nettement plus efficace que le cumin et le gingembre dans la réduction de radical DPPH. Cette efficacité en comparant avec le curcuma et le gingembre a été également estimée par Denre,(2014). Ce pouvoir est expliqué par la richesse de la cannelle en métabolites incluant le cinnamaldehyde et l'acide cinnamique qui ont des propriétés antioxydantes (Pasupuleti et Siew, 2014). Senanayake *et al.*,(2014) ont mentionné le potentiel inhibiteur significatif de la cannelle dans de l'oxydation des acides gras et dans la production d'oxyde nitrique.

Shahidi et Naczka,(2004), ont postulé que, les groupements fonctionnels présents dans les composés phénoliques en général peuvent céder facilement un électron ou un proton pour neutraliser les radicaux libres. Plusieurs mécanismes peuvent rendre compte de l'activité antioxydante des flavonoïdes, agissant comme piègeur de radicaux, chélateur des ions de métaux de transition, inhibiteur des enzymes oxydant ou producteurs de radicaux libres par les cellules (La Casa *et al.*,2000). Les flavonoïdes également en inhibent la peroxydation lipidique *in vitro* au stade d'initiation en agissant comme piègeurs d'anions superoxyde et de radical hydroxyle (Torel *et al.*,1986 ; Ratty et Das, 1988).

Les étude de Wong *et al.*,(2006) ; Tawaha *et al.*,(2007) ; Perez *et al.*,(2007) sur le cumin ont montré que le coefficient de corrélation entre la teneur des extraits du cumin en polyphénols et l'activité anti-oxydante était fortement significatif, indiquant que 81% de la capacité anti-oxydante d'extraits, soit due à la contribution des composés phénoliques et qu'ils sont les antioxydants dominants dans ces extraits.

L'étude de Dorman *et al.*,(2003) a constaté qu'il n'y a pas une corrélation significative entre la teneur des polyphénols et l'activité anti-oxydante des extraits du romarin. Ces derniers ont montré que la capacité antioxydante des extraits des plantes examinés (origan, romarin, sauge et

le thym) n'est pas nécessairement liée à un contenu élevé de composés phénoliques, mais vraisemblablement dépend d'autres composés à activité antioxydante.

Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité anti-oxydante est un aspect intéressant, mais il faut prendre en considération que les composés phénoliques totaux n'incorporent pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans un extrait (Tawaha *et al.*, 2007).

Pour nos résultats, la corrélation positive de l'activité antioxydant est trouvée beaucoup plus avec les polyphénols qu'avec les flavonoïdes. Exemple de la corrélation positif constatée entre les teneurs élevée de la cannelle et de curcuma en polyphénols et leur pouvoir antioxydant élevé. Par contre la noix de muscade et malgré sa pauvreté en flavonoïdes elle montre un pouvoir antioxydant relativement élevé.

La synergie constatée dans les mélanges coriandre-cumin et coriandre-carvi sur l'activité antioxydant n'a trouvé aucune corrélation synergique avec les teneurs de ces couples en polyphénols, ni en flavonoïdes ni en tanins.

4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

4.1. Résultats de l'activité anti inflammatoire

Les valeurs des DO obtenues sont converties en pourcentage d'inhibition de l'hémolyse (stabilisation de la membrane) (Figure 20) par l'application de la formule décrite dans la méthodologie. Plus le pourcentage de stabilisation de la membrane est grand, plus le surnageant a une couleur rouge claire et plus l'extrait a une forte activité anti-inflammatoire. Le diclofinac est un anti-inflammatoire utilisé comme control positif. Une concentration unique est utilisée (2mg/ml) pour les extraits et le control positif.



Figure 20: Evaluation de l'activité anti inflammatoire.

Les pourcentages de stabilisation de la membrane des érythrocytes par les épices étudiées sont rapportés dans la figure 21 suivante :

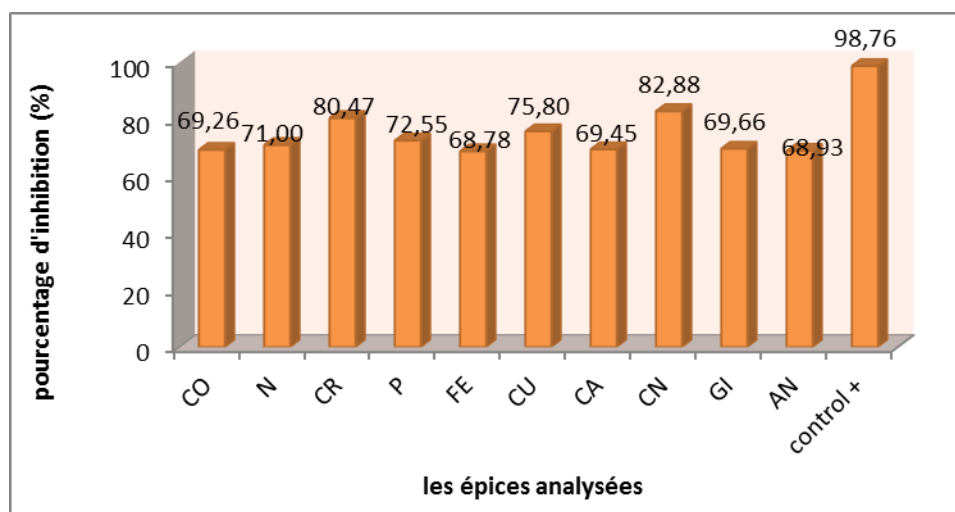


Figure 21: Pourcentages de stabilisation de la membrane des érythrocytes par les épices étudiées.

L'examen de la figure laisse constater que toutes les épices analysées exercent un effet anti-inflammatoire témoigné par la stabilisation membranaire des globules rouges contre l'effet de la chaleur.

La cannelle et le curcuma exercent la plus grande activité, les pourcentages d'inhibition de l'hémolyse sont évalués de 82,89% et 80,47%, respectivement (Figure 21). Tandis que les

pourcentages les plus faibles, relativement, sont enregistrés au voisinage de l'anis vert et le fenouil avec des pourcentages 68.93 et 68.78% (Figure 21).

Les résultats évalués avec les mélanges d'épices sont enregistrés dans le tableau 09.

L'exécution de ce tableau laisse constater des effets synergiques au voisinage des couples formés de poivre noir avec curcuma, noix de muscade, coriandre et gingembre. Egalement dans le couple cannelle-coriandre et gingembre-noix (tableau 09).

Tableau09 : Pourcentages d'inhibition de l'hémolyse des mélanges d'épices.

Epices	Coriandre	Noix de muscade	Curcuma	Poivre noir	Fenouil	Cumin	Carvi	Cannelle	Gingembre	Anis vert
Coriandre	69.26	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Noix de muscade	68.17	71.00	/	/	/	/	/	/	/	/
Curcuma	67.93	67.02	80.47	/	/	/	/	/	/	/
Poivre noir	75.43	83.91	82.27	72.55	/	/	/	/	/	/
Fenouil	68.38	70.02	66.02	71.91	68.78	/	/	/	/	/
Cumin	68.81	67.74	67.87	69.26	68.45	75.80	/	/	/	/
Carvi	68.41	68.08	67.54	70.02	67.32	68.57	69.45	/	/	/
Cannelle	85.37	68.35	74.58	69.32	67.87	79.23	67.29	82.88	/	/
Gingembre	68.29	74.49	70.51	81.06	66.54	68.17	69.75	70.48	69.66	/
Anis vert	70.66	67.71	67.71	67.44	66.14	66.25	65.36	68.38	67.58	68.93

4.2. Discussion

L'étude *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire des épices, par inhibition de l'hémolyse des hématies induit thermiquement, révèlent que les dix épices analysées ont exercé un effet antihémodolytique. Le principe de cette expérience est retirer de ce qui se passe *in vivo* car les brûlures ou une fièvre prolongé provoque la dilatation des membranes des hématies et leur éclatement (anémie inflammatoire).

De nombreuses études *in vitro* ont montré, l'effet significatif de stabilisation de la membrane des hématies par des plantes médicinales exemple de *Persicaria stagnina* (Ahmed *et al.*,1997), *Scoparia dulcis* (Ahmed *et al.*,2001), *Polygonum viscosum* (Datta *et al.*,2004) et *Sida cordifolia* (Sutradhar *et al.*,2007). Et ils trouvent que cette activité est douée par les sesquiterpène, diterpène, glycoside, flavonoïde et alcaloïdes. D'autres recherches ont mené l'étude anti inflammatoire en utilisant les extraits bruts et ont trouvé une activité significative (Rashid *et al.*, 2011. Garc'ia-Lafuente *et al.*,2009; Cho; Lee; Huh *et al.*;2013, ont mentionné que les flavonoïdes, exemple de, gossypin, gnaphalin, hespéridine, hibifolin, hypolaetin, oroxindine, et la quercétine ont été isolées des plantes et ont des activités anti inflammatoire.

Notre expérience a estimé que la cannelle et le curcuma sont les plus efficaces dans la stabilisation membranaire des hématies par rapport aux autres épices. Une étude récente a rapporté que 2-hydroxycinnamaldehyde isolé à partir de l'écorce de *Cinnamoum cassia* présentaient un effet inhibiteur sur la production d'oxyde nitrique par l'inhibition de l'activation du facteur nucléaire kappa-chaîne légère-activateur de cellules B (NF-kB), indiquant que cette substance peut potentiellement être utilisé comme agent anti-inflammatoire (Lee., Son *et al.*,2005).

Le curcuma qui semble majoritaire dans les teneurs en flavonoïdes et polyphénols, ainsi, d'une activité anti-inflammatoire remarquable. Il contient un composé appelé curcumine qui freine la synthèse de l'acide arachidonique (Grosogeat et Compper, 2009). La Curcumine inhibe certaines molécules impliquées dans l'inflammation, y compris la phospholipase, la lipoxigénase, la cyclo-oxygénase-2 (COX-2), les leucotriènes, la thromboxane, les Prostaglandines, d'oxyde nitrique, la collagénase, l'élastase, la hyaluronidase, MCP-1 (monocyte chimoattractant protein 1), interferon protéine inductible, TNF (facteur de nécrose tumorale) et l'interleukine-12 (Deodhar *et al.*,1980).

Singh et Duggal,(2009) ont indiqué que la pipérine isolé à partir de poivre noir inhibe l'adhérence des neutrophiles à l'endothélium et le facteur de nécrose tumorale- (TNF- α), et par conséquence le blocage de l'expression des molécules d'adhésion cellulaire. Ces auteurs ont aussi documenté les cytokines pro-inflammatoires (GM-CSF, l'IL-6 et IL-1) sont considérablement réduits par l'administration de la pipérine.

L'étude de Melo., Bion., Filho et Guerra,(2003); Sreelatha et Inbavalli,(2012) sur l'activité anti-inflammatoire de *Coriandrum sativum* a montré, l'effet le plus significatif de l'extrait aqueux par rapport à l'extrait éthanolique. Grâce la richesse de l'extrait aqueux en linalol, ce composé pourrait inhiber la phase proliférative de l'inflammation.

Le 6-shogaol et le 1-déhydro-6-gingerdione. Ont été découverts et caractérisés structurellement dans les différentes variétés de gingembre. Cette étude montre que 1-déhydro-6-gingerdione isolé de *Zingiber officinale* dans la conformation énolique. Cette structure est caractérisée par la présence d'un groupe carbonyle, à proximité du noyau aromatique à effet inhibiteurs, par l'intermédiaire d'une interaction hydrophobe et hydrogénique, sur l'activité de l'enzyme cyclo-oxygénase (COX-2) qui provoque l'inflammation (Aryaeian et Tavakkoli, 2015). Il a été récemment observé que l'effet synergique de Gingembre avec un traitement anti-tuberculose a un effet plus bénéfique plutôt que traitement anti-tuberculose seule (Subodh *et al.*,2013).

Les terpénoïdes, les flavonoïdes, les acides gras, les triglycérides, des polysaccharides, de lignine et les composés polyacétyléniques de carvi peuvent réduire les cytokines pro-inflammatoires et des chimiokines similaires aux glucocorticoïdes (Ngo-Duy *et al.*,2009).

Le composant le plus actif de carvi est la carvone, connu comme un agent anti-inflammatoire. Le Carvone inhibe la 5-lipoxygénase et l'activité de la cyclooxygénase de sorte qu'il peut diminuer la biosynthèse des leucotriènes et des prostaglandines. En outre, le carvone peut bloquer les canaux Ca^{++} potentiel dépendant, provoquant ainsi, des effets spasmolytique et anti-inflammatoire (Salehi Surmaghi *et al.*,2002; Aevang, 1996).

Compte tenu de notre objectif, résidant sur le synergisme entre les épices. On peut constater d'après la comparaison entre les teneurs des mélanges en polyphénols, flavonoïdes et tanins et leurs activités anti-inflammatoires, qu'il y a une corrélation positive entre les flavonoïdes et l'activité anti-inflammatoire au niveau des couples poivre-coriandre et poivre-noix. L'interprétation de ces relations reste difficile vue que les expériences ont été effectuées sur des extraits bruts, caractérisé par la diversité et la complexité en métabolites.

Conclusion

Dans le présent travail, on a contribué à évaluer les activités antioxydante et anti-inflammatoire de quelques épices constitutives de « Ras-el-Hanout ». Ces activités, sont précédées par le dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins. Les différents dosages et analyses sont effectués sur les extraits d'épices individuels et sur les mélanges binaires et équimolaires, afin de ressortir les effets synergiques entre les épices vis à vis les paramètres ciblés.

Les épices sélectionnées sont : *Coriandrum sativum* (coriandre), *Zingiber officinale* (gingembre), *Piper nigrum* (poivre noir), *Curcuma longa* (curcuma), *Pimpinella anisum* (anis vert), *Cinnamomum cassia* (cannelle), *Myristica fragans* (noix de muscade), *Foeniculum mill* (fenouil), *Carum carvi* (carvi) et *Cuminum cyminum* (cumin).

L'extraction méthanolique des principes actifs révèle que la cannelle a donné le meilleur rendement. Tandis que, la coriandre a donné le plus faible.

Le dosage des polyphénols, montre que, le curcuma et la cannelle sont nettement les plus riches en polyphénols, concernant les mélanges binaires d'épices, seulement deux effets synergiques sont observés au voisinage des couples noix de muscade-anis vert et cumin-anis vert.

Le dosage des flavonoïdes fait constater que, le curcuma est le plus riche relativement en flavonoïdes. Pour les mélanges binaires, on remarque une amélioration des concentrations en flavonoïdes de curcuma, mélangé avec les autres épices et sur tout avec le gingembre.

Le dosage des tanins montrent que les taux en tanins hydrolysable sont remarquablement supérieurs à ceux en tanins condensés chez toutes les épices. Où la cannelle est la plus riche en tanins hydrolysables et condensés. Peu d'effets synergiques ont été relevés.

L'évaluation de l'activité antioxydante a révèlé que la cannelle est relativement la plus efficace dans la réduction de DPPH•. Cette activité est nettement plus importante que celle de l'acide ascorbique. L'effet des interactions entre les couples d'épices montre seulement deux effets synergiques témoignés au voisinage de mélange cumin-coriandre et carvi- coriandre.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, montre que la cannelle et le curcuma exercent la plus grande activité. Les pourcentages d'inhibition de l'hémolyse obtenues par les

mélanges, laisse constater des effets synergiques au voisinage des couples formés de poivre noir avec curcuma, noix de muscade, coriandre et gingembre.

Cette étude qui nécessite encore des répétitions pour leur validation, représente un démarrage d'un axe de recherche très large sur le synergisme entre les plantes médicinales ou bien entre ces dernières et les produits chimiques, afin d'avoir des activités biologique potentialisés, utilisés bien sûr dans la thérapie.

Références bibliographiques

A

Abadjian, AG,2012. Pathologie Générale, Inflammation et cicatrisation. Hôtel-Dieu de France ,Faculté de Médecine USJ. P31-33. *Am J Cardiol*, 97, 23-9.P 180.

Aevang, Y.1996. Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics. New York: John Wiley and Sons, p. 66-67.

Ahmed., Tradit, Afr J., Dildar, A., Saman, Z, and Hira, B.2013. IN vitro analysis of antioxidant activities of *Oxalis Corniculata Linn.* Fractions in various solvents. Depatment of Chemistry, Forman Christian College University, Ferozpur Road, Lahore, Pakistan.

Ahmed, M., Sadhu, SK., Datta, BK., Kundu, JK et Bachar, SC.1997. Preliminary studies on the antiinflammatory, analgesic and diuretic activity of stagninol, a sesquiterpene isolated from *Persicaria stagnina*. *Die Pharmazie*; 52(6): 472-475.

Ahmed, M., Shikha, HA., Sadhu S.K., Rahman M.T., et Datta, BK.2001. Analgesic, diuretic, and anti-inflammatory principle from *Scoparia dulcis*. *Die Pharmazie*; 56(8): 657-660.

Armand, A.B,2009. Contribution à l'étude du développement d'un aliment fonctionnel à base d'épices du Cameroun : Caractérisation physico-chimique et fonctionnelle. Thèse de Docteur de L'INPL et Docteur Ph D de l'Université de Ngaoundéré.

Atti, I,2014. Evaluation des activités antioxydant et antiradicalaire d'un mélange d'épices « Ras el hanout ».Mémoire master.Université KASDI MERBAH Ouargla. P5.

B

Bacchi, S., Palumbo, P., Sponta, A., Coppolino, M.F.2012. Clinical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs: areview. *Anti-inflammatory & anti-allergy agents in medicinal chemistry*;11:52-64.

Bahorun, T,1997. Substances naturelles actives. La flore Mauricienne. une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council, Réduit, Mauritius, Université de Maurice, pp 83-94.

Barouda, D.,Kherfi, N.E.H, 2015. Etude de l'impact de traitement thermique sur l'activité antioxydante des épices constitutives de "ras el hanout".Mémoire de master.Université Kasdi Merbah Ouargla.

Basnet, P., Skalko-Basnet, N.2011. Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. *Molecules* ; 16 : 4567–4598.

Belyagoubi, N,2012. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien.Thèse doctorat - Université Abou Bakr Belkiid Tlemcen.p2.

Benhammou, N., Atik-Bekkara, F., Kadifkova, P.2007. Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus*L. and *Pistacia atlantica* Desf. *Advances in Food Sciences*. pp 29(3) .155-161.

Bisht, K., Wagner, K.H., Bulmer, A.C.2010. Curcumin, resveratrol and flavonoids as anti inflammatory, cyto- and DNA-protective dietary compounds. *Toxicology* ; 278 : 88–100.

Boizot, N., Charpentier, J.P.2006. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. P 80.

Bouderdara, N,2013. Séparation et détermination de structures des métabolites secondaires de *Cachryslibanotis* L. Thèse de doctorat en sciences. Université Mentouri-Constantine. p7.8.

Boudiaf, K,2006. Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti radicalaires des extraits des graines de *Nigellasativa*. Mémoire de magister .Setif.

Boukri, N.E.H,2014. Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Université kasdi merbah Ouargla.

Bremness, L,2002. Plantes aromatiques et médicinales. Bordas (Ed). Paris. p 303.

C

Cho,N., Lee ky., Huh J et al.2013. “Cognitive-enhancing effects of *Rhus verniciflua* bark extract and its active flavonoids with neuroprotective and anti-inflammatory activities,” *Food and Chemical Toxicology*, vol. 58, pp. 355–361.

D

Dai, J., Mumper, R. J,2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties *Molecules*, 15 : 7313-7352.

Datta, BK., Datta, SK., Chowdhury, M.M., Khan, TH., Kundu, JK., Rashid, MA., Nahar, L., et Sarker, SD.2004. Analgesic, antiinflammatory and CNS depressant activities of sesquiterpenes and a flavonoid glycoside from *Polygonum viscosum*. *Die Pharmazie*; 59(3): 222-225.

Davoust-Nataf, N., Cavalie, F., Mayol, K.2015. Immunité et vaccination, L'immunité innée : barrières naturelles et réaction inflammatoire. Institut français de l'éducation. P 25.

Defranco, A.L., Robertson, M., Locksley, R.M.2009. Immunité: la réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires. Université des Minimes 39, B-1000 Bruxelles ; www.deboeck.com. P 80.

Deodhar, S.D., Sethi, R., Srimal, R.C.1980. Preliminary study on antirheumatic activity of curcumin (diferuloylmethane). *Indian J. Med. Res.* 1980 ; 71 : 632–634.

Deodhar, SD., Sethi, R., Srimal, RC.1980. Preliminary studies on antirheumatic activity of curcumin. *Ind J Med Res*;71:632–634.

Djahra, A,2014. Etude phytochimique et activité antimicrobienne,antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L.

Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N.2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* 97: 654-660.

Dorman, H.J.D., Kosar, M., Kahlos, K., Holm, Y., Hiltunen, R.2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties and cultivars. *J. Agric. Food Chem*; 51: 4563-4569.

Doucet-Leduc, H,1993. Échec à la contamination des aliments. Montréal, Modulo.

Droniou-Cassaro, 2012. Les épices. Les symposiarques, pp 2-6.

Dupont, F., Guignard, JL., Pelt, JM.2012. Botanique les familles de plantes. Issy-les Molineaux : Elsevier Masson.

F

Fabian, D; Sabol, M; Domaracke, K; Bujnekova, D.2006. Essential oils – their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. *Toxicol. in vitro* 20, 1435-1445(in PIOCHON M).

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

G

García-Lafuente, E., Guillamon, A., Villares, MA., Rostagno, and Martínez, J.A.2009. “Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease,” *Inflammation Research*, vol. 58, no. 9, pp. 537–552.

Gaziano, J.M; Gibson, C.M.2006. Potential for drug-drug interactions in patients taking analgesics for mild-to-moderate pain and low-dose aspirin for cardio protection.

- Georges,2007.** Les anti-inflammatoires UF : Anatomie – Physiologie Pharmacologie. P 1.
- Ghazi, F., Sahraoui, S.2005.** Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de datte communes Tantbouchtet Hamraia, mémoire d'ingénieur en agronomie, El Harrach.
- Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M., Orecchioni, AM.2001.** Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, Botanique-Pharmacognosie-Phytothérapie-homeopathie. Tec et Doc (Ed), p 272.
- Girre, L,2001.** Les plantes et les médicaments : l'origine végétale de nos médicaments. Food Chemistry, 111: 925-929.
- Gogny, M., Puyt, J.D.1992.** Activité thérapeutique des anti-inflammatoires non stéroïdiens. Rec. Med. Vet ; 168: 8-9, 603-608.P 27.
- Goldman-Mottet, S,2004.** Utilisations, toxicité et effets indésirables des anti-inflammatoires non stéroïdiens : ACTUALITES. Thèse de doctorat vétérinaire. La faculté de médecine de Créteil. École nationale vétérinaire d'Alfort. P 13.
- Grosogeat, H., Compper, H.2009.** Ma promesse anti -âge. 15 rues soufflot, 75005, Paris. P 146
- Grosogeat, H., Compper, H,2009.** MA PROMESSE Anti-âge. Odile Jacob. 15, Rue Soufflot, 75005. Paris.www.odilejacob.fr.ISBN 978-2-7381-2199-8.P 154- 155
- Guilloton, M,2005.** Hypersensibilité aux épices, incluant les condiments et aromates. Faculté de médecine, Université de LIMOGES.
- H**
- Häfliger, K,1999.** Epices Herbes Graines. P 4-14.
- Halliwell, B,2006.** Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *Journal of Neurochemistry*. Department of Biochemistry, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore,Singapore.
- Harborne, J.B,1989.** Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology, New series. p8, 329-402.
- Hertog, M.G.L., Holliman, P.C., Katan, B., Kromhout, D.1993.** Intake of potential carcinogenic flavonoids and their determinants in adults in Netherlands. Nutr. Cancer, 20, 21–29.
- Heymonet, C,2013.** Les plantes à visée anti-inflammatoire utilisées en phytothérapie, thèse pour obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Faculté de pharmacie, Université de LORRAINE. P 17-33.

Heymonet, C,2013. Les plantes à visée anti-inflammatoire utilisées en phytothérapie, thèse pour obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Faculté de pharmacie, Université de LORRAINE. P 17-33.

Hordé, R,2013. Anti-inflammatoire stéroïdien. **Santé-Médecine**, Franc. P1.

I

Iserin, P,2001. Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations,soins. 2nd edition, Dorling Kindersiey Limited, Londres.

J

Jacquet, S., Moneret-Vautrin, D.A., Rev, F.A.2007. Classification botanique des fruits à coque. 47, 487-491.P1.

Jansen, P.C.M,2005. Ressources végétales de l'Afrique tropicale 3, Colorant et tanins. Fondation PROTA/Backhuys Publishers /ATA. Wageningen, Pays-Bas.

K

Kim, I.S., Yang, M.R., Lee, O.h., and Kang, S.N.2011.Antioxidant Activities of Hot Water Extracts from Various Spices International Journal of Molecular Sciences; 12, 4120-4131.

L

La Casa, C, Villegas, I, Alarcón de la Lastra, C., Motilva, V and Martín Calero, M.2000. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *Journal of Ethnopharmacology*, 71: 45-53)

Lee, SH., Lee, SY., Son, D J et al.,2005. “Inhibitory effect of 2- hydroxycinnamaldehyde on nitric oxide production through inhibition of NF- κ B activation inRAW264.7 cells,” *Biochemical Pharmacology*, vol. 69, no. 5, pp. 791–799.

Lee, Y., Jeon, K., Lee, J.T., Kim, S and Kim, V.N.2002. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization.Institut of Molecular Biology and Genetics ,Seoul National University, Seoul 151-742, Korea.

Lekeux, P,1991. Pharmacodynamie (des AINS). Segré : Schering-Plough Santé Animale,29-37.

Li, H.B., Cheng, K.W., Wong C.C., Fan, K.W., Chen, F., Tian, Y.2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae.*Food Chimestry*, 102 : 771-776.

Li, S., Yuan, W., Deng, G., Wang, P., Yang, P., and Bharat, B.2011. Aggarwal.Chemical Composition and Product Quality Control of Turmeric (*Curcuma longa* L.) *Pharmaceutical Crops*, , 2, 28-54.

Lipsky, P.E., Brooks, P., Crofford, L.J.2000. Unresolved Issues in the Role of Cyclooxygenase-2 in Normal Physiologic Processes and Disease, *ArchIntern Med*, vol. 160, 913 – 920. P 21.

Lucienne, A.D,2010. Les plants médicinaux.

Lumbu, S., Kahumba, B., Kahambwe, T., Mbayo, T., Kalonda, M., Mwamba, M., Penge, O.2005. Contribution à l'étude de quelques plantes médicinales anti diarrhéiques en usage dans la ville de Lubumbashi et ses environs, *Annales de Pharmacie*, 3 (1) : 75-86.

M

Maizura, M., Aminah, A., and Wan Aida, W. M.2011. School of Chemical Sciences and Food Technology, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, *Food Research Journal* 18: 529-534.

Manallah, A,2012. Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Thèse pour obtenir le Diplôme de Magister. Université Ferhat Abbas-Sétif. P50.

Melo, EA., Bion, FM., Filho, JM et Guerra, NB.2003. In vivo antioxidant effect of aqueous and etheric coriander (*Coriandrum sativum* L.) extracts. *Eur J Lipid Sci Technol*; 105:483-7.

Mohammedi, Z,2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister- Université Abou Bakr Belkiid Tlemcen. P24.

Mole, S., Waterman, P.G.1987. Tannic acid proteolic enzymes: enzyme inhibition

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

Monassier,2005. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens, Faculté de Médecine de Strasbourg. P 12.

Mountagud, F,2014. Epices, cosmétiques et allergies. American College of Allergy, Asthma & Immunology. P02.

Mustafa, T,1990. Ginger (*Zingiber officinale*) in Migraine Headache. Journal of Ethnopharmacology, vol. 29 : pp 267–273 PMID 2214812.

N

Nakatami, N,2000. Phenolic antioxidants from herbs and spices. *Biofactors*, 13 (Suppl 1-4): 141-146).

Ngo-Duy, C., Destailats, F., Keskitalo, M., Arul, J., Angers, P.2009. Triacylglycerols of Apiaceae seed oils: composition and regiodistribution of fatty acids. *Eur J Lipid Sci Technol*;111:164-169.

O

Ofentse Mazimba, Kabo Wale, Tebogo E. Kwape, Shetonde O. Mihigo, Bokolo M.2015. Kokengo *Cinnamomum verum*: Ethylacetate and methanol extracts antioxidant and antimicrobial activity *Journal of Medicinal Plants Studies*; 3(3): 28-32.

P

Pauli, A ,2001. Antimicrobial properties of essential oil constituents. *Int. J. Aromather.* 11, 126-133 (in PIOCHON M).

Peltier, A.P,2012. Universalis: INFLAMMATION; <http://www.universalis-edu.com/bases-doc.univ-lorraine.fr/encyclopedie/inflammation/>. P 17-18.

Penchev, P.I,2010. Étude des procédés d'extraction et de purification des produits bioactifs à partir des plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, Institut National Polytechnique de Toulouse, doctocat. p51-52.

Perez, M.B., Calderon, N.L., Croci, C.A.2007. Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*). *Food Chem.* 104:585-592.

Peronny, S,2005. La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (*Lemur catta*). Thèse de doctorat, p 151.

Peter, Y., Wong, Y., David, D., Kitis.2006. « Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts ». *Food Chemistry.* vol. 97. no 3. pp 505-515.

Pham, J,2007. *Pipernigrum* L. : aspects botanique, chimique et pharmacologique. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Nantes. P 13.

Piochon, M,2008. Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Université du Québec à Chicoutimi. P 400.

Podsedek, A,2007. Naturel antioxidants and antioxidant capacity of *Brassica* vegetables : Areview.LWT-Food science and Technology 40,1-11.

Prakash, C., Shaffer, C.L., Nedderman, A.2007. Analytical strategies for identifying drug metabolites. Mass Spectrometry Reviews. P 340-369.

R

Rahim, L., Rehaïem, H.2013. Etude de l'activité antimicrobienne de quelques épices utilisés chez la population d'OUARGLA. Université de Kasdi Merbah OUARGLA. p 48-49.

Rashid, MA., Sikder, MAA., Kaiser, MA., Miah, M.K., Parvez, M.M.et Hossian, AKMN.2011.Membrane stabilizing activity-a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of two Bangladeshi medicinal plants: *Mesua nagassarium* (Burm.F.) and *Kigelia pinnata* (jack) DC. International Journal of Pharmaceutical Research and Development; 3(3): 1-5.

Ratty, A.K., Das, N.P. 1988. Effects of flavonoids on nonenzymic lipid peroxidation: Structure activity relationship. Biochem. Med. Metabol. BioL 39, 69-79

Redhead, J,1990. Utilisation des aliments tropicaux : sucres, épices et stimulants, organization des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, p 24.

Revillar, J.P, 2001. Immunologie. Edition de Boek. Université Claude-Brenard, Lyon. P 17-19.

Russo-Marie, F., Peliera, S., Polla, B.1998. L'inflammation. Edition John Libbey Eurotext. Paris ,ISBN 2-7420-0117-4.P 172-192.

Ruth, R,2009. The Gourmet Cookbook. p 88.

S

Sadique, J., AL-Rqobahs, W.A., Bughaith EI-gindi, A.R.1989. The bioactivity of certain medicinal plants on the stabilization of RBS membrane system. Fitoterapia, 60:525-532. P 45.

Sakat, S., Juvekar, A.R., Gambhire, M.N.2010. *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn. I. J. Pharm. Pharm. Sci., 2(1): 146-155.P 45.

Salehi-Surmaghi, MH., Amin, GhR., Kaveh, Sh.2002. Carvi fructus. In: Iranian herbal pharmacopeia scientific committee, editors. Iranian herbal pharmacopeia. 1st ed. Tehran: Iranian Ministry of Health & Medical Education Publications. p 419-424.

Samuel, B., Guillaume, M., Patrick, A., Herve, C.2007. Nouvelles recettes de tajines, p 2-8.

Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-Calixto, F.1999. Free radical scavenging capacity of selected red, rosé and white wines. J. Sci Food Agric, 79: 1301-1304.

Senanayake, S.S.H.M.M.L., Ranasinghe, J.G.S., Waduge, R., Nizanantha, K and Alexander, P.A.B.D.2014. Changes in the Serum Enzyme Levels and Liver Lesions of Broiler Birds Reared Under Different Management Conditions. Postgraduate Institute of Agriculture University of Peradeniya .Peradeniya.

Shinde, U.A., Phadke, A.S., Nari, A.M., Mungantiwar, A.A., Dikshit, V.J., Saraf, M.N.1999. Membrane stabilization activity- a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood. Fitoterapia, 70: 251-257. P 45.

Singh, A., Duggal, S.2009. Piperine- Review of Advances in Pharmacology. Inter. J. Pharma. Sci. Nanotech; 2: 615-620.

Sophie, J,2006. La culture des plantes aromatiques, Edition artémis pour la présente édition ISBN : 2.84416-418-8 N° d'éditeur : 84416, p 91,92.

Souto, E,2015. Les bienfaits insoupçonnés du gingembre. P1. substrat derivation. Phytochemistry, 26, 99-102.

Sreelatha, S., Inbavalli, R.2012. Antioxidant, Antihyperglycemic, And Antihyperlipidemic Effects Of *Coriandrum Sativum* Leaf And Stem In Alloxan-Induced Diabetic Rats. J Of Food Sci ;77(7):119-123.

Subodh, K., Singh, UN., Kiran, S., Ravi,S.2013. Supplementation of ginger with anti-tuberculosis treatment (ATT): A better approach to treat anemic pulmonary tuberculosis patients. International Journal of Herbal Medicine; 1(3):17-20.

Sutradhar,RK., Rahman, AM., Ahmad, M., Bachar, SC., Saha, A., et Guha, KS.2007. Anti-inflammatory and analgesic alkaloid from *Sida cordifolia* linn. Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics; 20(3): 185-188.

Swain, T., Hillis, WE.1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J Sci Food Agric* 10:63-68.

Swan G.E,1991. Non steroidal anti inflammatory drugs in domestic animals: I their classification, mechanisms of action and pharmacological effects. *J. South Afr. Vet. Med. Ass*, 62 : 35-38.

T

Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., El-elimat, T. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chem.*, (in press).

Torel, J., Cillard, J., and Cillard, P.1986. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry* 25, 383-385), (Ratty, A.K. and Das, N.P. (1988)

Tyler, T.R,2001. Public trust and confidence in legal authorities: What do majority and minority group members want from the law and legal authorities? *Behave. Sci. Law* 19:215–35.

U

United States Department of Agriculture (USDA). Classification for Kingdom Plantae Down to Species *Carum carvi* L. Naturellere sources conservation service.

V

Villano, D., Fernandez-Pachon, M.S., Moya, M.L., Troncoso, A.M., Garcia-Parilla, M.C.2007. Radical scavenging ability of phenolic compound towards DPPH free radical. *Talanta*,71: 230–235.

W

Weill, B., Batteux, F.2003. Immunothologie et réactions inflammatoires. Edition de Boeck, Université rue des Minimes 39,B-1000 Bruxeelles. P12-24.

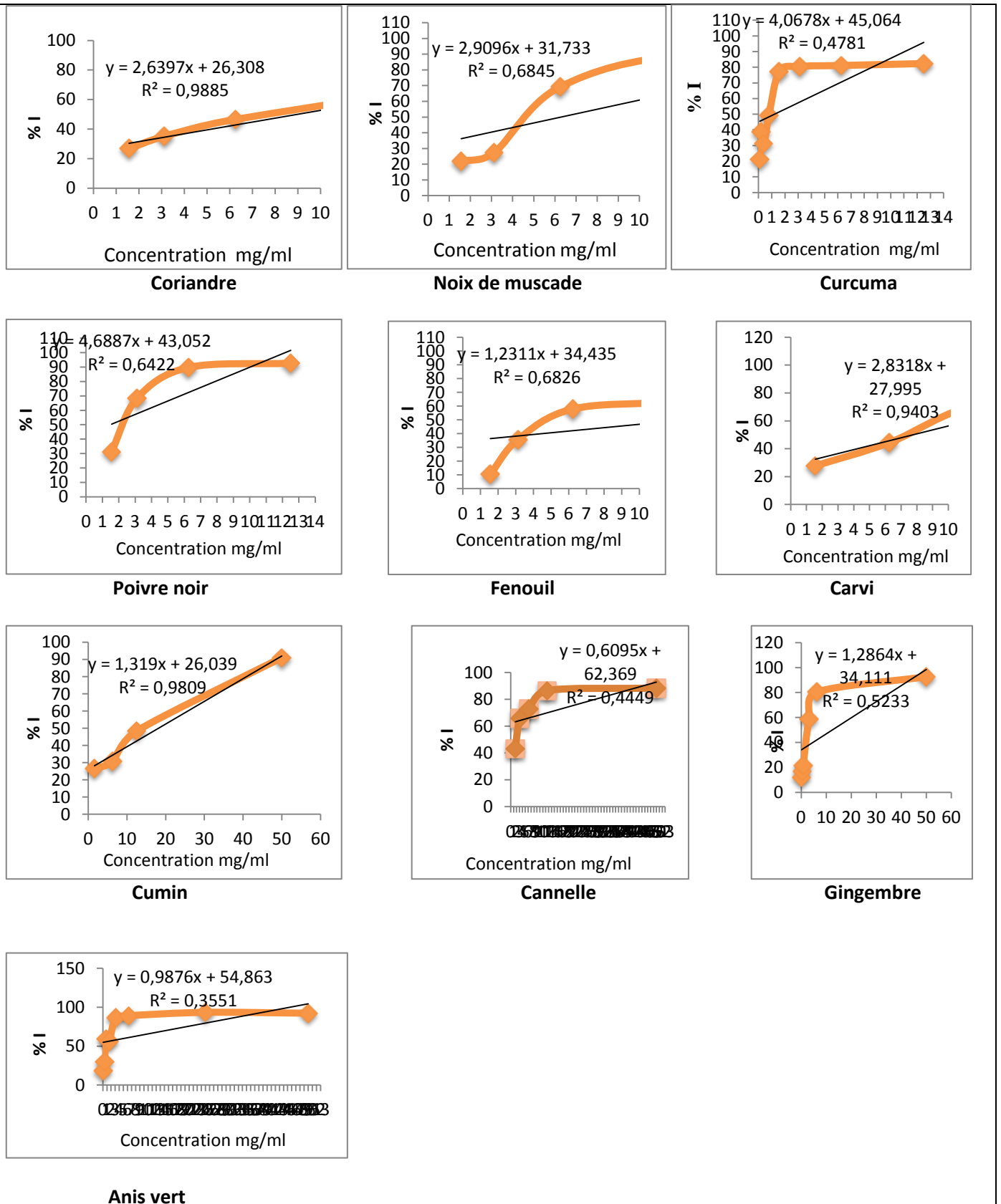
Wong, J.G., Anderson, R. A., Graham, G. M., Chu, M.C., Sauer, M .V., Guarnaccia, M. M., Lobo, R. A.2006. The effect of cinnamon extract on insulin resistance parameters in polycystic ovary syndrome: a pilot study.

Z

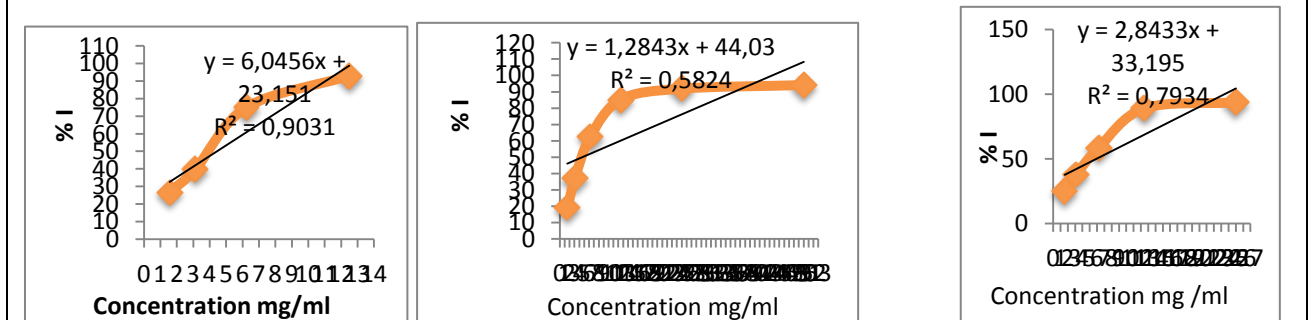
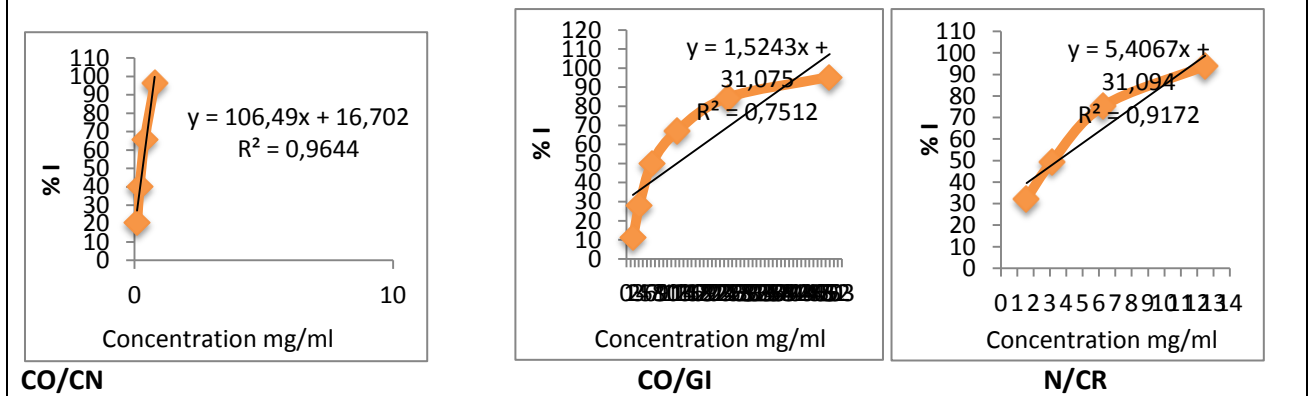
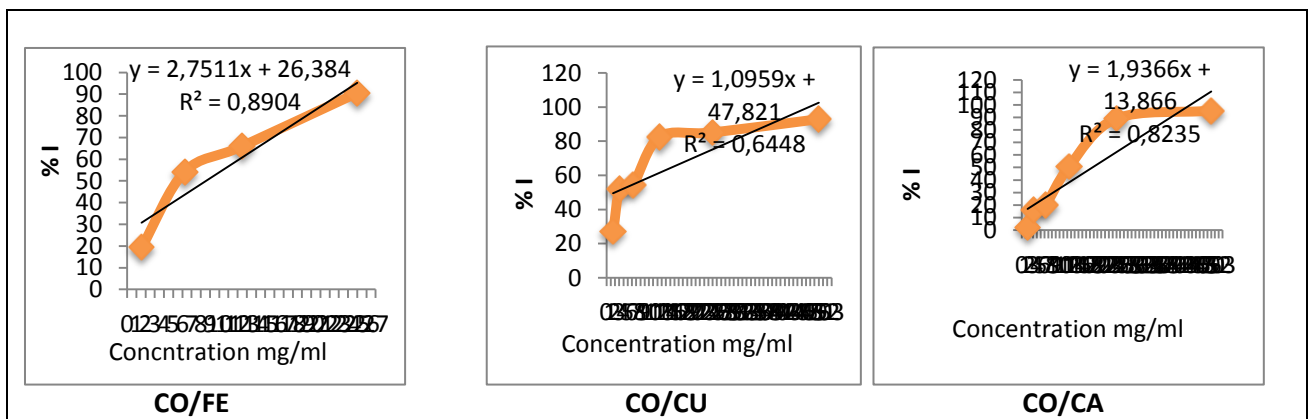
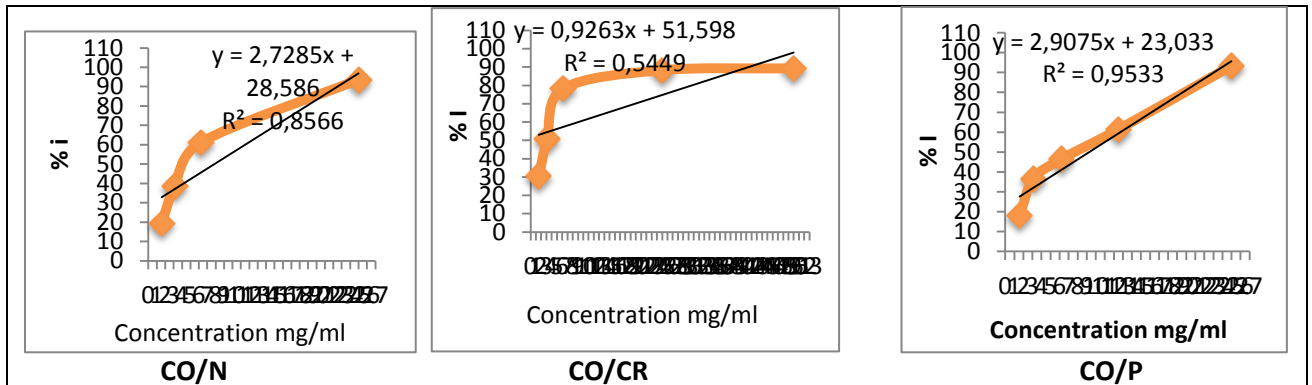
Zerbato, M,2010. Intérêt du dosage par micro méthode de la Protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie. Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Faculté de pharmacie. Université HENRI POINCARÉ – NANCY. P 7-9.

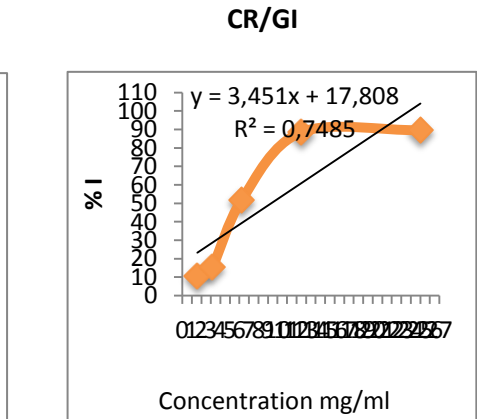
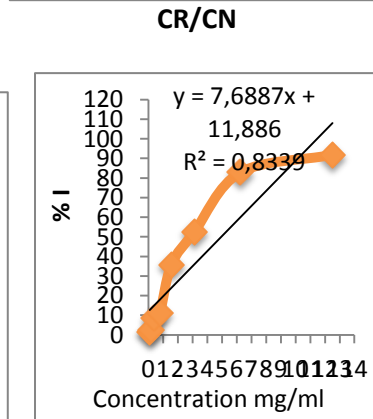
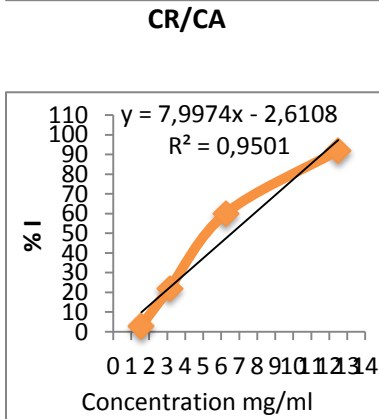
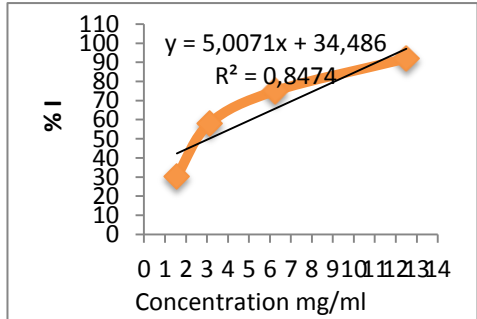
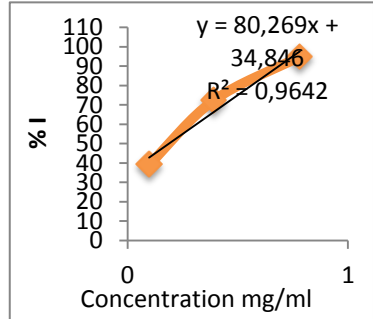
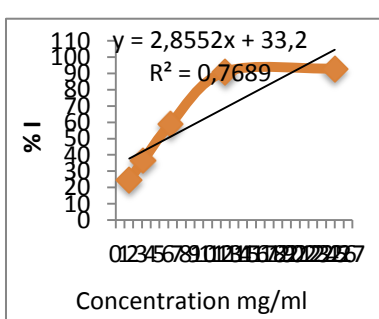
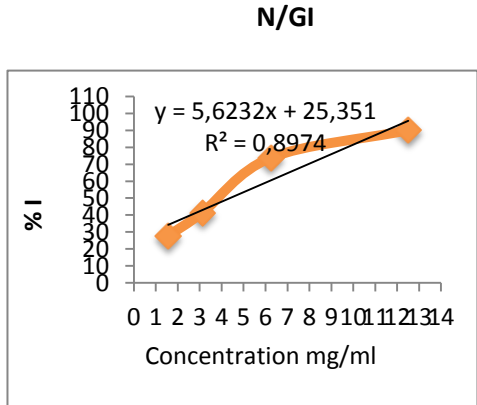
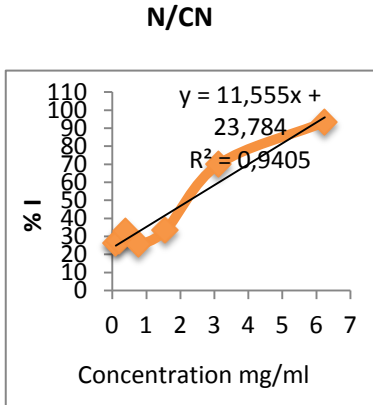
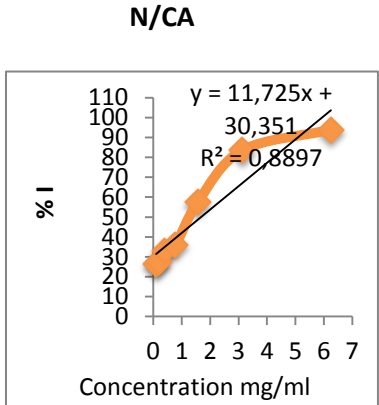
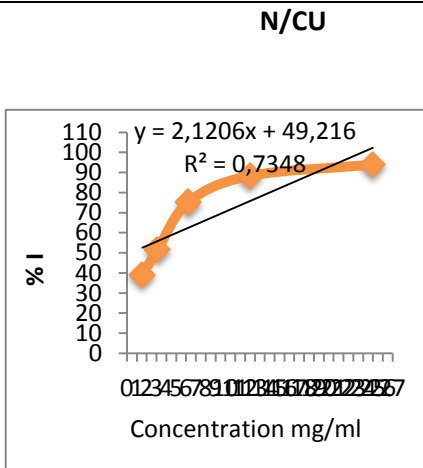
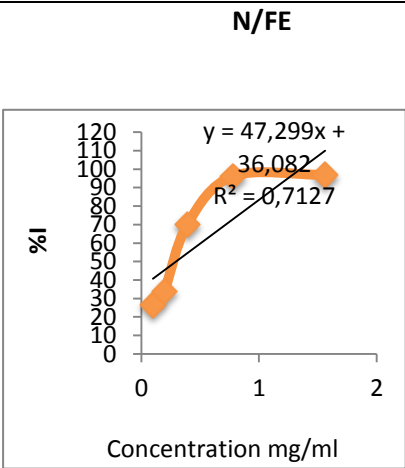
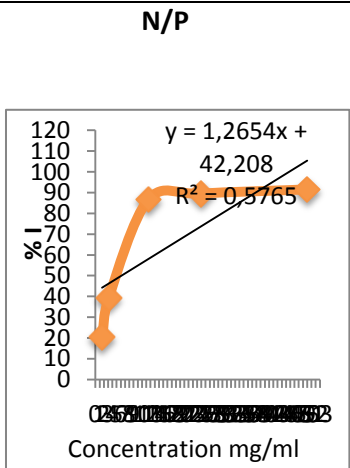
Zette, G,2009. Les secrets de la cuisine en terre marocaine. Nouvelles édition de l'université dominique AUZIAS associés 14, rue des volontaire.75015 Paris.

Annexe 01 : Les courbes de régression linéaires des pourcentages d'inhibition (I%) en fonction de différentes concentrations des épices étudiées.



Annexe 02 : Les courbes de régression linéaires des pourcentages d'inhibition (I%) en fonction de différentes concentrations des mélanges binaires des épices.

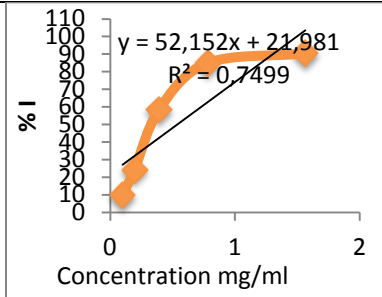




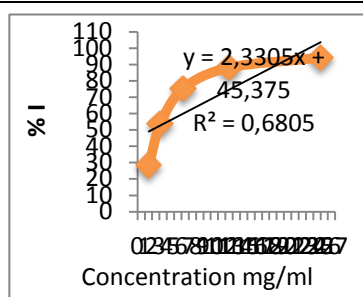
P/FE

P/CU

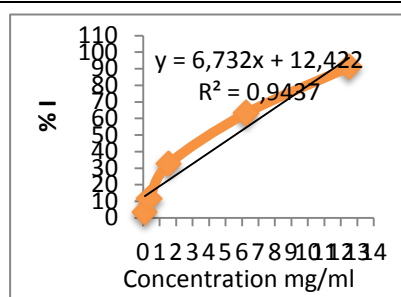
P/CA



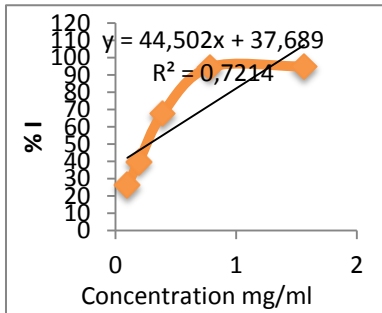
P/CN



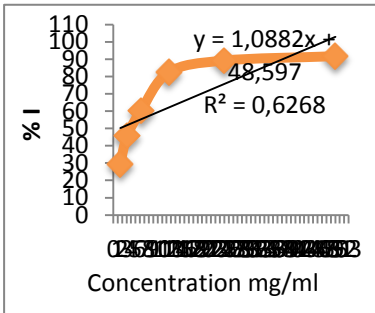
P/GI



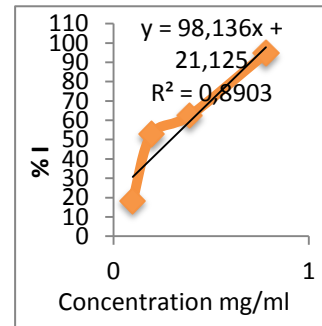
CU/CA



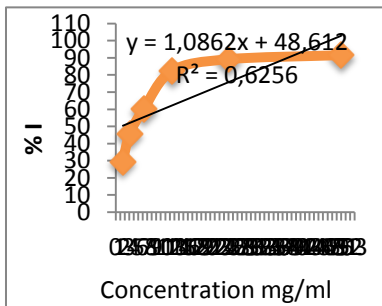
CU/CN



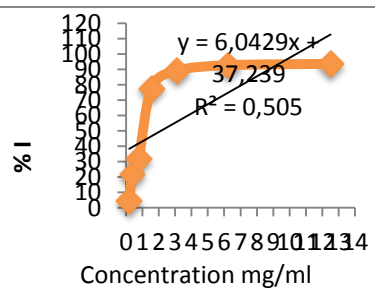
CU/GI



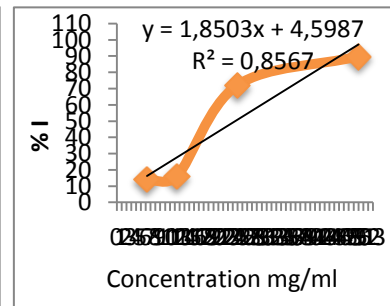
CA/CN



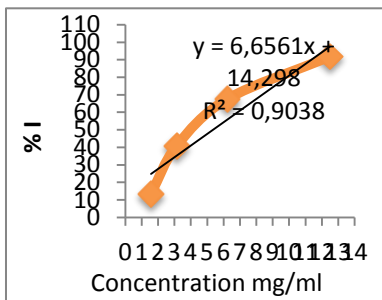
CA/GI



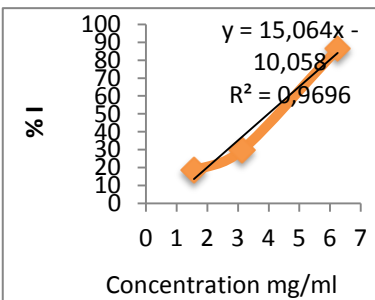
CN/GI



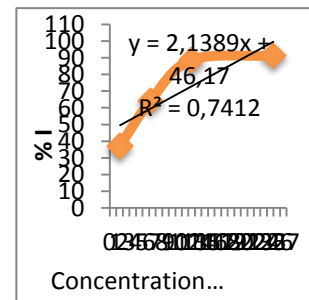
CO/AN



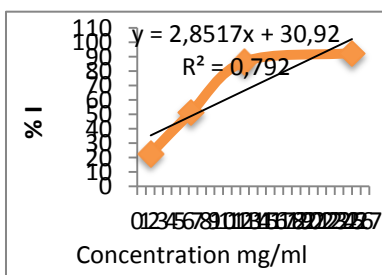
N/AN



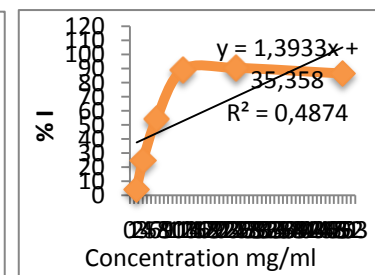
CR/AN



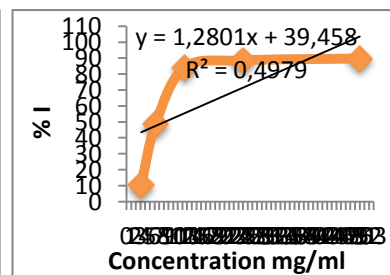
P/AN



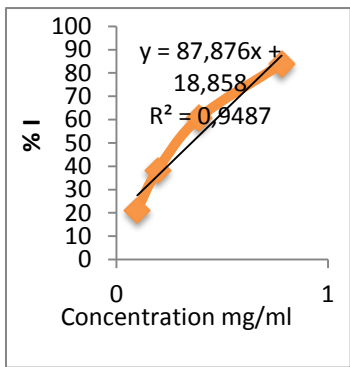
FE/AN



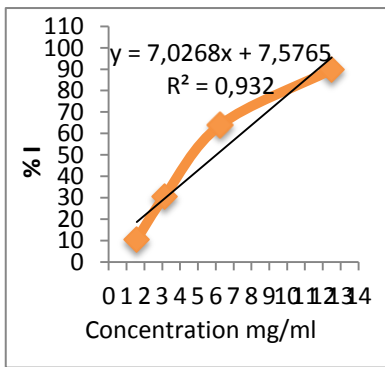
CU/AN



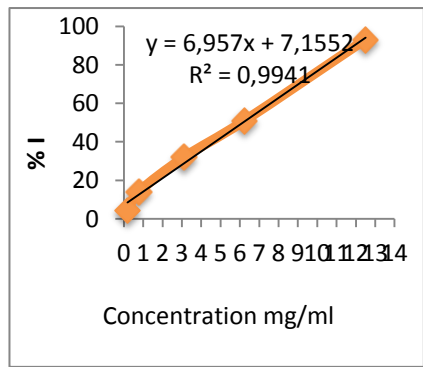
CA/CN



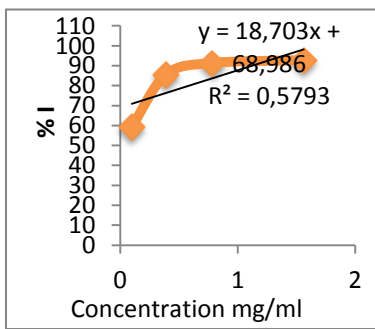
CN/AN



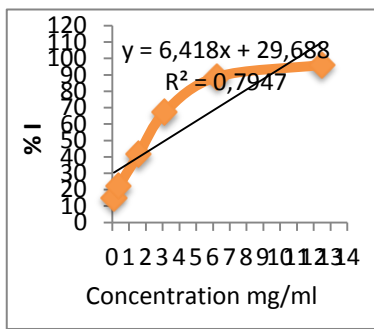
GI/AN



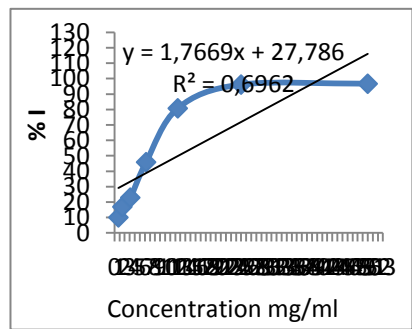
FE/CU



FE/CN



FE/GI



FE/CA