

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE SCIENCES ALIMENTAIRES

N°...../SNV/2018

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BENMILOUD Ikram

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité: NUTRITION ET PATHOLOGIE

THÈME

**Exploration de l'activité antioxydante et anti-
inflammatoire d'*Elettaria cardamomum***

Soutenue publiquement le 03/07/2018

DEVANT LE JURY

Président	Keddari Soumia	MCA U. Mostaganem
Encadreur	Boufadi Mokhtaria Yasmina	MCA U. Mostaganem
Examineurs	Chaael Abdelmalek	MCA U. Mostaganem
	Benchaib Amina Hayate	Médecin H. Mostagenem
Co-encadreur	Chaa Sara	Doct U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de LMBAFS

Remerciements

En premier lieu, je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Mes remerciements à notre Professeur ,Ali Riazi responsable du master en Nutrition et pathologie , et directeur du laboratoire des microorganismes bénéfiques , des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS) .Merci d'avoir accepté de nous accueillir dans votre laboratoire .

J'exprime d'abord mes profonds remerciements, ma vive reconnaissance et ma sincère gratitude à Dr Yasmina Boufadi , Maitre de Conférences « A » à l'université de Mostaganem , pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa patience, tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Je remercie aussi M^{elle} Sara Chaa de m'avoir Co-encadré au long de mon stage au laboratoire , pour sa disponibilité et ces conseils .

J'adresse mes sincères remerciements à Dr Soumia Keddari , Maitre de Conférences « A » à l'université de Mostaganem , pour l'honneur qu'elle me fait de présider le jury .

J'exprime également ma gratitude à Dr Abdelmalek Chaalel, Maitre de Conférences « A » à l'université de Mostaganem, et Dr Amina Benchaib , médecin spécialiste a l'hôpital de Mostaganem d'avoir amiablement accepté d'apporter ces critiques a ce travail .

C'est un grand merci que j'adresse à tous les membres du laboratoire des microorganismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS) de l'Université de Mostaganem pour leur gentillesse et leurs conseils.

Enfin je remercie gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Abstract

In this present study, the antioxidant and anti-inflammatory activities were aimed at evaluating and studying the protective effect of *Elettaria cardamomum*.

The determination of phenolic compounds (polyphenols and flavonoids) was estimated at a very efficient level of 343.90 ± 32.26 mg EAG / g extract and 305.65 ± 64.27 mg EQ / g extract respectively. In addition, for the anti-radical activity was evaluated more than 90% at a concentration of the order of 100 μ g / mL of EEC extract compared to the concentration of 10 μ g / ml of extract of EEC of which; the radical inhibition was approximately 50%. In addition, the ethanolic extract of E. Cardamomum (EEC) has an IC50 of 11.2 μ g / mL.

Moreover, the results of the inflammation caused by the intraperitoneal injection of carrageenin in Wistar rats revealed that, through the administration of 200 mg / kg / EEC, a proportion of 8 g / l of total protein and 4.5g / dL of albumin were estimated in rats. On the other hand, 2.5 g / l and 1.5 g / dL of total protein and albumin respectively in the control group rats. In addition, a significant content of fibrinogen and glycemia in the control rats; exposed to 200 μ l of carrageenan.

In addition, the histopathological study reveals that the liver of rats treated with 200 mg / kg / EEC after being injected with 200 μ l of carrageenan has a normal histological structure of the hepatic parenchyma, hepatocytes and central veins lobular except for slight congestion. It can be concluded that the ethanolic EEC extract containing phenolic compounds has antioxidant and anti-inflammatory properties.

Mot clés: *Elettaria cardamomum*, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, carragénine, étude histopathologique, rats wistar.

Résumé

Dans cette présente étude, les activités antioxydante et anti-inflammatoire avaient pour le but d'évaluer et étudier l'effet protecteur d'*Elettaria cardamomum*.

Le dosage de composés phénoliques (polyphénols et flavonoïdes) a été estimé d'une teneur très efficiente de $343,90 \pm 32,26$ mg EAG/g d'extrait et $305,65 \pm 64,27$ mg EQ/g d'extrait respectivement. De plus, pour l'activité anti-radicalaire a été évaluée de plus de 90 % à une concentration de l'ordre de 100 $\mu\text{g/mL}$ d'extrait d'EEC comparativement à la concentration de 10 $\mu\text{g/mL}$ d'extrait d'EEC dont ; l'inhibition radicalaire était environ de 50 %. En outre, l'Extrait éthanolique d'*E. cardamomum* (EEC) présente une IC_{50} de 11,2 $\mu\text{g/mL}$.

Par ailleurs, les résultats de l'inflammation engendrée par l'injection intra-péritoniale de la carragénine chez les rats Wistar ont révélé qu'à travers l'administration de 200 mg/kg/d'EEC, une proportion de 8g/l de protéines totales et 4,5g/dL d'albumine ont été estimées chez les rats. D'autre part, 2,5g/l et 1,5g/dL de protéines totales et d'albumine respectivement chez les rats du groupe témoin. De plus, une teneur significative en fibrinogène et en glycémie chez les rats du témoin ; exposés à 200 μl de carragénine.

En outre, l'étude hystopathologique dévoile que le foie des rats qui ont été traités par 200 mg/kg/d'EEC après avoir été injectés par 200 μl de carragénine, présente une structure histologique normale du parenchyme hépatique, hépatocytes et veines centro-lobulaire, à l'exception d'une légère congestion. On conclut que l'extrait éthanolique d'EEC renfermant des composés phénoliques possède des propriétés antioxydantes et des activités anti-inflammatoires.

Mot clés : *Elettaria cardamomum*, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, carragénine, l'étude histopathologique, rats wistar.

Liste des abréviations

E.c : Elettaria cardamomum .

EEC : Extrait éthanolique d'Elettaria cardamomum .

PNB : Produit national brute

pH : Potentiel hydrogène .

COX-2 : Cyclooxygenase-2 .

i-NOS : Inducible nitric oxide synthase .

NF-KB: Nuclear Factor-Kappa B .

DMBA: 7,2-Dimethylbenz (a) anthracene .

U/V: Ultra-voilet .

ERO : Espèces réactives de l'azote.

RL : Radicaux libres.

SOD : Super oxyde dismutase .

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

GPX : Glutathion peroxydase.

GSH : Glutathion.

BHA : Butylhydroxyanisole .

BHT : Butylhydroxy-toluène .

PG: Gallate propylée .

HAT: Hydrogen Atom Transfer .

SET: Single Electron Transfer .

HOCl: Acide hypochloreux .

OH^{*} : Hydroxyle.

O₂^{*} : Anion de superoxide .

ROO* : Radical peroxyde.

NO* : Oxyde nitrique.

K₃Fe (CN)₆ : Ferricyanure de potassium .

DPPH* : 2,2 – diphényl-1- picrylhydrazyl .

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AIS : Anti-inflammatoire stéroïdiens.

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdiens.

V/V : volume sur volume.

Liste des figures

Figure 01 : Culture en terrasse de cardamomes en Inde.	05
Figure 02 : La plante <i>E. cardamomum</i> (A), tiges portant des fleurs et des fruits (B) et (C).	06
Figure 03 : Les principales étapes de la réaction inflammatoire.	13
Figure 04 : Les principales sources des radicaux libres.	14
Figure 05 : Nature et relation entre les radicaux libres et les espèces Réactives de l'azote et de l'oxygène.	15
Figure 06 : Principales circonstances pathologiques s'accompagnant d'un Stress oxydant primitif ou secondaire.	16
Figure 07 : Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène.	17
Figure 08 : Les différentes classes de poly phénols.	21
Figure 09 : Fruits d' <i>Elettaria cardamomum</i> secs et broyés	25
Figure 10 : des rats wistar dans leurs cages	29
Figure 11 : Pouvoir anti-radicalaire (RSA%) des différentes concentrations (10, 20, 50 et 100 µg/mL) d'extrait éthanolique d' <i>Elettaria cardamomum</i> et de l'acide ascorbique. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations ±écartype (n = 3).	35

Figure 12 : La teneur en protéines totale (g/l) chez les rats traités ou non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC), et/ou l'acide gallique, et/ou exposés à 200 µl de carragénine (2%). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations ± écartype (n = 5). 37

Figure 13 : La teneur en albumine (g/dL) chez les rats traités ou non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC), et/ou l'acide gallique, et/ou exposés à 200 µl de carragénine (2%). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations ± écartype (n = 5). 38

Figure 14 : Fibrinogène (g/dL) chez les rats traités ou non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC), et/ou l'acide gallique, et/ou exposés à 200 µl de carragénine (2%). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations ± écartype (n = 5). 39

Figure 15 : Glycémie (g/dL) chez les rats traités ou non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC), et/ou l'acide gallique, et/ou exposés à 200 µl de carragénine (2%). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations ± écartype (n = 5). 41

Figure 16 : Histopathologie des tissus hépatiques chez les rats témoins et expérimentaux, **A** : témoin ; **B** : 200µl de carragénine ; **C** : 100 mg/Kg/j d'EEC et 200µl de carragénine ; **D** : 200 mg/Kg/j d'EEC et 200µl de carragénine ; **E** : 50 mg/Kg/j d' et 200µl de carragénine. 42

Liste des tableaux

Tableau 01 : Variation de teneur en huile essentielle des graines 07

D'E. Cardamomum.

Tableau 2 : Teneur en composés phénoliques et flavonoïques totaux d'extrait 33

éthanolique d'*Elettaria cardamomum*. Les valeurs représentent la moyenne

(m) de 3 déterminations \pm écartype (n = 3).

Introduction

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal recours de la médecine de nos grands-parents, malgré l'important développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies souvent mortelles, environ 80% de la population mondiale profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes reconnaissant ainsi les savoirs empiriques de nos ancêtres (EL Rhaffari et Zaid, 2004).

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté, cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives qui sont utilisées dans l'industrie alimentaire, la cosmétologie et la pharmacie, parmi ces composés, on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tanins, les terpènes et les flavonoïdes (Bahroun et al., 1996).

L'intérêt de la médecine par les plantes médicinales qui sont en effet douées a de multiples vertus thérapeutiques pour traiter plusieurs maladies (cancers, l'ulcère, diabète, le rhumatisme, les maladies infectieuses...) (Mata et al., 2007 ; Houessou, 2010). Notamment l'inflammation sa synthèse a été développée au XIXe siècle. Les plantes telles que les clous de girofle, cannelle, gingembre, poivre, cumin, coriandre et cardamome sont utilisés aussi dans le système culinaire indien pour l'arôme, goût/saveur et possèdent aussi des thérapies digestives.

La Cardamome (*Elettaria cardamomum* (EC), une plante herbacée vivace vénérée comme la « Reine des épices » appartient à la famille du gingembre Zingibéracée (Ammakpang et al., 2010 ; E.K.Savan et al., 2013). Elle possède diverses activités pharmacologiques : la gastro-protectrice anti-ulcérogène, l'antimicrobienne, antifongique et anti-oxydante ; qui joue un rôle abaissant de la pression artérielle, diurétique et sédative (J.N.Dhuley et al., 1999 ; A.H.Gilani et al., 2008). Elle contient des composés phytochimiques tels que ; les phénols, amidon, tannins, terpénoïdes, flavonoïdes, protéines et stérols (S.Sharma et al., 2011) qui sont susceptibles de réduire et de stabiliser la synthèse du PNB.

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude des composés bioactifs des plantes médicinales, C'est dans cette optique que notre étude biologique a été

effectuée basée sur un objectif qui consiste à extraire les graines d'*E.cardamomum* afin d'étudier ses activités biologiques (activité anti-oxydante et anti-inflammatoire).

Dans ce contexte, l'étude se segmente en trois parties :

➤ La première se répartit en deux chapitres. Le premier est consacré à une étude bibliographique sur la plante. Le deuxième chapitre traite l'activité l'inflammation et la production de radicaux libres.

➤ La deuxième partie illustre le matériel et les méthodes utilisées : extraction de la cardamome, détermination de l'activité antioxydante in-vitro et l'activité anti-inflammation in-vivo.

➤ La troisième partie est consacrée aux résultats obtenus, accompagnés d'une discussion et ponctués d'une conclusion générale.

Chapitre I : *Elettaria cardamomum* et ses innovations thérapeutiques

I.1. Historique

Parmi les épices les plus anciennes dans le monde et plus populaires dans la Rome antique la cardamome. Par le premier siècle après JC, Rome importait une quantité substantielle de cardamome de l'Inde. Des écrivains Inde et arabe des temps très anciens savaient et noté cardamome. La première mention écrite se trouve dans le célèbre papyrus Ebers, découvert en Égypte et datant de 1550BC, qui répertorie environ 800 médicaments et leurs utilisations. L'écrivain indien Susvsta (vers le XVIIIe siècle) mentionne la cardamome sous le nom Sanskrit Eta. Cardamome est mentionnée dans la liste des épices passibles de droits à Alexandria dans 176-180 apr. JC. (Krishna *et al.*, 2002).

La cardamome mot a passé dans toutes les langues de l'Europe. Dans le passé, cardamome a déclenché des événements historiques. Épices indiennes dont cardamome est la Reine, ont été la raison principale pourquoi Colomb d'Espagne a décidé de découvrir l'Inde et fini par découvrir l'Amérique. La cardamome indienne, ainsi que d'autres épices a provoqué le peuple tout entier de Romains et grecs, qui a conduit à l'invasion historique de l'Inde, par Alexandre de Macédoine. Dans les siècles suivants, les Arabes, les Portugais, les Hollandais et les anglais sont venus en Inde à travers les mers à prendre cardamome avec eux . (Arunachalam et Wimpelupessey, 2005).

Dès le 4ème siècle avant JC, la cardamome a été utilisée en Inde comme une herbe médicale. L'œuvre poétique de Kalidasa au 4^{ème} siècle AD abonde en référence à son parfum épicé. Parmi la littérature ancienne en tamoul la plante de cardamome trouve la mention dans Chilappatikaram, écrit dans le 4ème siècle après JC (Kumar *et al.*, 2000).

I.2. Définition de la cardamome

La cardamome, *Elettaria cardamomum* : est une plante qui appartient à la famille des Zingibéracées, populairement connues sous le nom « Reine des épices ». Originaire des forêts

tropicales de Sud de l'Inde et du Sri Lanka, la cardamome fut introduite, il y a plus de mille ans en Asie du Sud-Est (Sengupta et al , 2005).

I.3. Culture de cardamome

La culture de la cardamome dépend du climat, sol, conditions de pluviosité et autres (Johnya et Kallapurakal, 2002).

I.3.1. Climat : la cardamome se développe bien dans les régions à climat humide chaud et la pluviométrie annuelle assez bien répartie (1500-4000 mm). Une gamme de température de 18-28 0 C et à une altitude de 600 à 1200 m au-dessus de MSL sont idéales. La récolte nécessite ombre de 40 à 60 % pour la floraison et une bonne croissance. Un conducteur de surface, disponibilité d'humidité pendant la période sèche est essentielle.

I.3.2. Sur le sol : la cardamome exige le sol glaiseux, qui est acide (pH de 4.2 à 6,8), riche en humus et azote et faible à moyenne teneur en phosphore et en potassium. Le sol doit être bien drainé car la récolte ne tolère pas la journalisation de l'eau.

I.3.3. Multiplication : la multiplication est en grande partie par le biais de semis et aussi végétativement par drageons.

I.3.4. Plantation : la plantation dans la nouvelle zone, le sol doit être effacé ou si c'est le replanter, vieilles centrales doivent être supprimées. Dans les zones sloop, terrasses convient à travers les pentes avant de prendre des fosses. Plantation dans les tranchées en terrasses est recommandée pour une meilleure conservation des sols et l'humidité. La plantation doit être faite avec le début de la mousson de sud-ouest et avant les pluies, en diagonale à la pente. Un petit monticule peut-être se former à l'intérieur de la fosse pour couvrir le rhizome. Immédiatement après la plantation, la base de la plante doit être paillée bien avec des feuilles séchées disponibles.



Figure 1 : Culture en terrasse de cardamomes en Inde.

I.3.5. Les maladies courantes : les plantes de cardamome sont généralement affectées par les maladies causées par les champignons et les bactéries sont les maladies fréquentes qui affectent les plantes de la cardamome.

I.3.6. Après les soins : les différentes pratiques culturelles à suivre après plantation sont paillage, abat-jour règlement, désherbage, bousillé, buttage, épandage d'engrais, irrigation et remplissage de l'espace ».

I.4. Description botanique

Il s'agit d'une herbe vivace à gros rhizomes superficiels, horizontaux, ramifiés et sublingaux, qui chaque année émette des tiges végétatives feuillées, hautes de 2,5 à 3 m. Ces tiges disposées en touffes meurent au bout de quelques mois et se décomposent. Sur leurs nœuds s'insèrent des feuilles à pétiole engainant et à limbe très lancéolé (50 x 3 à 5 cm) d'un beau vert sombre (Gilly, 2005 ; Arvy et Gallouin, 2015). À côté de ces tiges, les rhizomes émettent des hampes florales, longues de 40 à 70 cm. Il s'agit de panicules lâches, prostrées ou retombantes dont les fleurs donnent naissance à des capsules peu déhiscentes. Celles-ci pourvues de trois loges, sont oblongues, légèrement ridées longitudinalement. Leurs dimensions varient légèrement. Chacune de leurs loges compte 3 à 6 graines pleines,

anguleuses, noires de 3 mm de long. Ces graines et leur capsule par leur saveur et leur odeur constituent la seule partie utile de la plante (**Fig. 2**) (Madhusoodanan et al., 2003 ; Khandelwal, 2008).



A : La plante *Elettaria cardamomum*



B et C : Tiges portant des fleurs et fruits

Figure 2 : La plante *E. cardamomum* (A), tiges portant des fleurs et des fruits (B) et (C)
(Arvy et Gallouin, 2015 ; Biju, 2013)

I.5. Classification : la cardamome suit la classification suivante :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida

Chapitre I : *Elettaria cardamomum* et ses innovations thérapeutiques

Ordre : Zingiberales

Famille : Zingiberaceae

Genre : *Elettaria*

Espèce : *Elettaria Cardamomum* (Cronquist, 1981).

I.6. Composition chimique

L'analyse chimique des fruits secs de la cardamome révèle la présence des huiles essentielles (**Tableau 1**), Cires, stérols, des pigments, des protéines, la cellulose, les sucres, l'amidon, l'oxalate de calcium, des minéraux (Ravindran et Madhusoodanan, 2003 ; Nair, 2006 ; Sharma *et al.*, 2011).

Des composants phénoliques et des flavonoïdes comme la quercétine, le kaempferol, la luteoline et la pelargonidine (Sultana *et al.*, 2010 ; Vishwakarma *et al.*, 2014).

Le principal constituant de la graine est l'amidon, jusqu'à 50%, alors que la fibre brute constitue jusqu'à 31% de la coque de fruit. La teneur en huile volatile dans les graines peut atteindre 8%. Ce dernier contient environ 1,5% d' α -pinène, 1,2% de β -pinène, 2,8% de sabinène, 1,6% de myrcène, 0,2% d' α -phellandène, 11,6% de limonène, 36,6% de 1,8-cinéol, 0,7% de γ -terpinène, 0,5% de terpinéol, 31,3% d'acétate d' α -terpinyle, 0,3% Citronellol, 0,5% nerol, 0,5% de geraniol, 0,2% de méthyl eugénol et 2,7% de trans-nerdilol. L'arôme de cardamome basique est produit par une combinaison des composants principaux, du 1,8-cinéol et de l'acétate d' α -terpinyle (Panda, 2003 ; Aggarwal et Kunnumakkara, 2009).

Tableau 1 : Variation de teneur en huile essentielle des graines de *E. cardamome* (Bertile *et al.*, 2001).

Durée et condition de conservation	% D'huile essentielle
Graines extraites à la récolte.	4,8
Graines extraites de capsules stockées à l'air 14 mois.	2,9
Graines extraites à la récolte conservées 6 semaines en l'air.	2,4
Graines extraites à la récolte et conservées 14 mois à l'air.	1,0

I.7. Utilisation traditionnelle

I.7.1. Phytothérapie

La cardamome est une des plus anciennes épices. En Égypte, on en faisant un grand usage dans l'Antiquité pour fabriquer des parfums. Cette plante est utilisée depuis des millénaires par la médecine ayurvédique pour soigner de nombreux troubles digestifs (indigestion, flatulences), gastro-intestinaux, stomacaux, résolvents, retentissants et antiémétiques (Marongiu *et al.*, 2004 ; Sereshti *et al.*, 2012).

I.7.2. Culinaire

La cardamome peut être incorporée aux mélanges destinés à la confection des pains d'épices, à certaines pâtisseries « orientales », à des tartes aux fruits, à des garnitures de crème et au riz au lait. Elle est particulièrement appréciée dans les pays arabes, où elle est ajoutée au café selon un rituel symbolisant l'hospitalité locale (Nair, 2006 ; Iserin *et al.*, 2007 ; Botineau, 2010).

I.8. Propriétés thérapeutiques de la cardamome

I.8.1. Activité anti-oxydante

L'acide protocatéchique, 1,8-ceineol et alphaterpineol et protocatchualdehyde présent dans les graines de *E. cardamome* ont montré une activité antioxydante (Kikuzaki *et al.*, 2001). Ils ont des avantages potentiels pour la santé en inhibant la peroxydation lipidique (Jessie et Krishnakantha, 2005). La graine de la plante cardamome a une activité antioxydante sur enzymes antioxydantes hépatiques et cardiaques qui est attribuée à leur capacité à activer les enzymes antioxydantes (Verma *et al.*, 2010). Des études récentes ont déterminé les propriétés anti oxydantes des composés bioactifs de cardamome, et ces avantages pour la santé associés à l'augmentation de sa utilisation dans les aliments (Mueller *et al.*, 2010 ; Rubio *et al.*, 2013). La cardamome possède des propriétés antioxydantes et peut augmenter les niveaux de glutathion et d'enzymes anti-oxydantes dans le corps (Verma *et al.*, 2010 ; Bisht *et al.*, 2011 ; Das *et al.*, 2012).

I.8.2. Activité anti-inflammatoire

Un couple de composés bioactifs de cardamome ont été étudiés pour l'activité anti inflammatoires. Les mono-terpènes composés d'huile de cardamome ont été montrés pour améliorer l'activité de l'indométacine sur la peau. Une dose plus faible de la cardamome supprimée œdème dans une moindre mesure, considérant qu'une dose plus élevée de la cardamome révèle un plus puissant anti inflammatoire effet sur la peau en présence de indomethacin (Huang *et al.*, 1999).

I.8.3. Activité immuno-modulatrice

Les métabolites actifs de E. cardamome ont été reconnues pour la modulation accrue des macrophages dans l'immunologique des affections connexes et protection de l'homme immunologique ; l'activation de cellules chez l'homme résulte de divers métaux lourds risques (Abdelkader *et al.*, 2015). Une autre étude de l'activité immuno-modulatrice in vitro de la cardamome a évaluée que la carragénine induits une inflammation. (Majdalawieh *et al.*, 2010). Récemment, L'extrait de la cardamome a été jugé comme un modulateur puissant des macrophages (Vaidya *et Rathod*, 2014).

I.8.4. Activité anticancéreuse

Une étude de la plante cardamome a montré qu'elle inhibe l'agrégation plaquettaire (Suneetha *et Krishnakanta*, 2005) Les extraits de cardamome aussi inhibent le cancer du côlon et cancer de la peau avec une réduction de la COX-2, i-NOS, facteur 2-érythroïdes et l'expression de la NF-kB et augmente l'activité anti-oxydante (Sengupta *et al.*, 2005 ; Qiblawi *et al.*, 2015). La fonction chémo-préventive de cardamome a également été démontrée pour régler le cancer colorectal (Bhattacharjee *et al.*, 2007). Cette étude visait à évaluer l'efficacité chémo-préventive de la cardamome nutritionnel sur 7, 12-diméthylbenz [a] anthracène (DMBA)-induite de carcinogenèse de peau dans un model de souris bien définis qui imite l'humain CNSM (Das *et Saha*, 2009).

I.8.5. Activité antibactérienne

Les antibiotiques utilisés dans le traitement des infections (bactériennes et fongiques) microbiennes. *E. cardamome* a une grande variété de métabolites secondaires tels que des tanins, des alcaloïdes et des flavonoïdes ayant des activités antimicrobiennes. Les extraits d'éther de pétrole du cardamome ont montré une activité antimicrobienne et ont trouvées actives sur les bactéries *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Kumar et al., 2010).

De même, l'huile essentielle des semences s'est avéré un effet inhibiteur significatif contre divers champignons kératinophiles et dermatophytique (Jain et Agarwal, 1976). De même, les extraits acétoniques, méthanoliques et éthanol (Hussain et al., 2011). L'inhibition antimicrobienne de cardamome contre deux bactéries causant la carie dentaire, *Streptococcus mutans* et *S. aureus* et deux champignons *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae* (Aneja et Joshi, 2009).

I.8.5. Activité hypo-lipidémique

La capacité significative d'*E. cardamome* a supprimé la peroxydation des lipides en raison de la présence de la teneur en polyphénols (Hafidh et al., 2009). *E. cardamome* augmente en supplémentations les activités des enzymes antioxydantes, et les lipides conjuguée diènes et hydroperoxydes (Dhuley et al., 1999).

L'inhibition de la peroxydation des lipides dans l'homogénat de foie en raison de leur teneur en polyphénols, forte réduction de puissance et superoxyde radicalaire activité anti-radicalaire (Yadav et Biot, 2007).

I.8.6. Activité anti ulcéreuse

L'extrait méthanolique fraction, fraction soluble de pétrole, fraction soluble dans l'acétate d'éthyle, l'acétate d'éthyle fraction soluble produit protection ulcère importante contre l'ulcère de l'éthanol induit (Sen et al., 2009). L'inhibition de l'huile essentielle d'*E. cardamomum* de la formation d'ulcères de 60,91 % significativement dans l'éthanol et l'aspirine induit l'ulcère gastrique (Farah et al., 2005).

I.8.7. Activité cardio-adaptogène

L'effet protecteur d'*E.cardamomum* contre l'effet de courte durée ou un stress induit des dommages myocardiques. Une consommation régulière de cardamome supérieure peut donc être utile dans le traitement des patients avec cardiopathie ischémique (IHD), face à des conditions stressantes ordinaires (Verma et al., 2010).

Chapitre II : L'inflammation et la production des radicaux libres

II.1. L'inflammation

Toute agression ou lésion tissulaire quelle que soit sa cause (infectieuse, physique, chimique ou ischémique) produit une réaction inflammatoire. L'inflammation est un processus dynamique, constitué par un ensemble de réactions vasculaires, cellulaires et humorales. Elle permet l'élimination de l'agent agresseur et des débris cellulaires et la réparation des tissus lésés (Zeghal et Sahnoun, 2013).

Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation (Schorderet *et al.*, 1998).

Deux stades de l'inflammation existent, l'inflammation aiguë et chronique. L'inflammation aiguë est une étape initiale de l'inflammation (de l'immunité innée), qui est médiée par l'activation du système immunitaire. Ce type d'inflammation persiste seulement pendant un court laps de temps et est généralement bénéfique pour l'hôte. Si l'inflammation dure pendant une longue période, la deuxième étape de l'inflammation ou inflammation chronique s'installe dans l'hôte et peut prédisposer à diverses maladies chroniques, y compris le cancer (Lin and Karin, 2007).

II.2. Les phases de l'inflammation

La réaction inflammatoire comprend quatre phases qui se chevauchent dans le temps : une phase vasculo-exsudative qui correspond à une congestion active des vaisseaux associée à une exsudation inflammatoire formant un œdème (Fig. 3). Elle s'accompagne aussi d'une migration par diapédèse de leucocytes au lieu de l'inflammation pour constituer la phase du granulome inflammatoire. Cette dernière est ensuite suivie d'une phase de détersion qui comporte l'élimination des tissus nécrotiques, des germes, des corps étrangers éventuels et du liquide d'œdème. On distingue :

- La détersion interne assurée par l'action phagocytaire des macrophages ;

- La déterision externe qui peut être naturelle (fistulisation à la peau d'un abcès des parties molles) ou artificielle (drainage chirurgical d'un abcès).

Enfin, se manifeste la phase de cicatrisation qui comporte la formation d'un bourgeon charnu qui évoluera vers une fibrose cicatricielle. Elle débute sous forme de tissu de granulation (fait de bourgeons capillaires, de phagocytes et de fibroblastes) qui se développe à la base du tissu inflammatoire. Les cellules inflammatoires diminuent tandis que les fibroblastes, les cellules épithéliales et les cellules endothéliales se divisent et repeuplent ce tissu inflammatoire (Zeghal et Sahnoun, 2013).

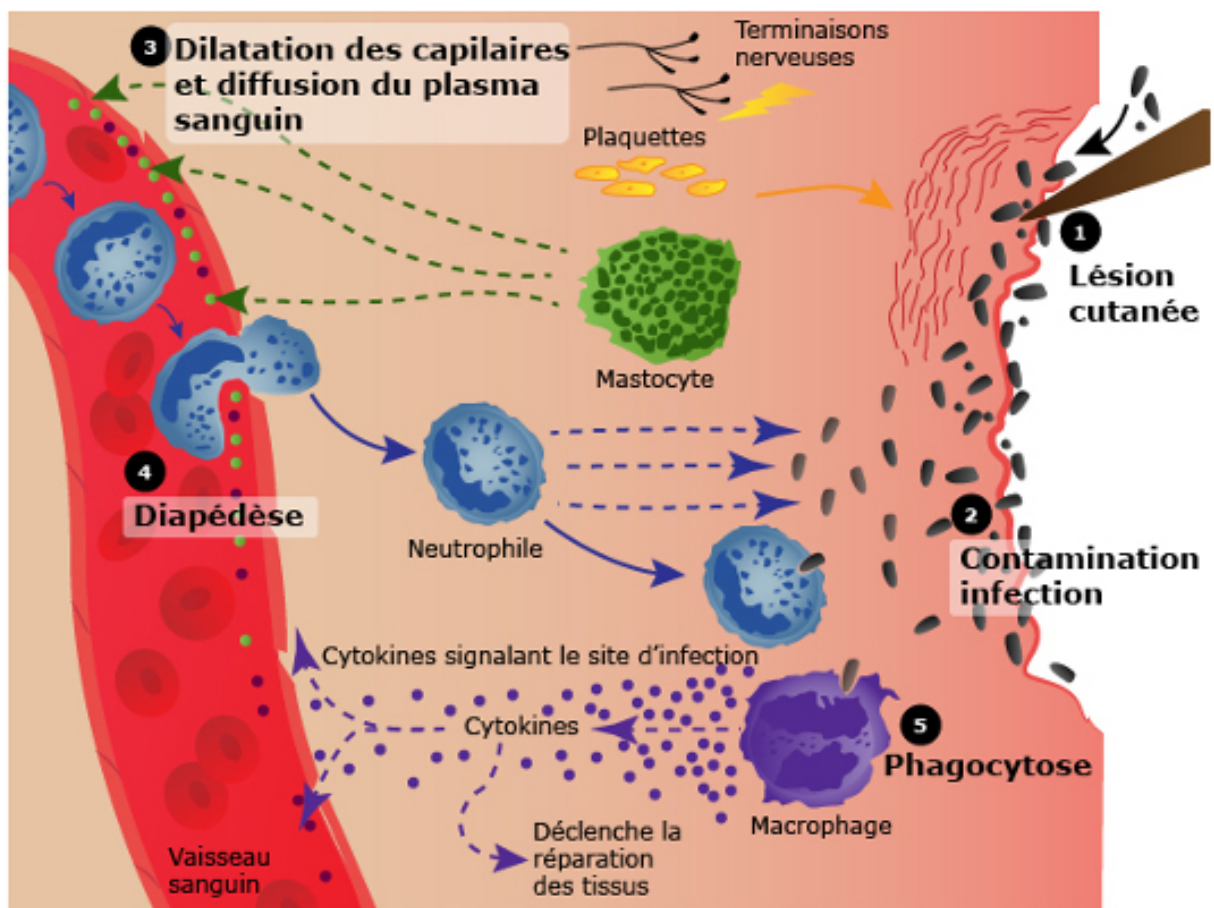


Figure 3 : Les principales étapes de la réaction inflammatoire.

II.3. La production de radicaux libres ou agents du stress oxydant

Le stress oxydant peut avoir diverses origines ; tel que des facteurs environnementaux comme, l'exposition prolongée au soleil, la lumière UV, le tabagisme, la consommation excessive d'alcool et de médicaments, le contact avec des agents cancérigènes, la pollution, ou même des facteurs endogènes comme la chaîne de transport des électrons dans les mitochondries, les phénomènes inflammatoires chroniques ou aigus et la mauvaise alimentation (Fig. 4) (Thanan *et al.*, 2014).

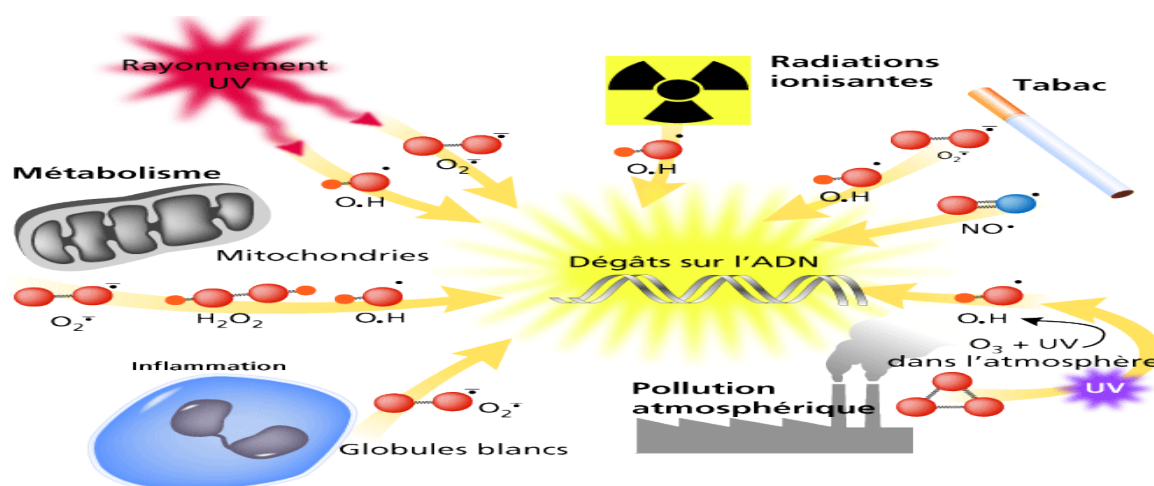


Figure 4 : Les principales sources des radicaux libres (Pincimail *et al.*, 2008).

Au cours de l'inflammation, les mastocytes et les leucocytes sont recrutés sur le site de la lésion, ce qui conduit à une "stimulation du métabolisme oxydatif", due à une assimilation accrue de l'oxygène et, par conséquent, une libération et une accumulation accrue d'espèces réactives de l'oxygène sur le site de dommage (Hussain *et al.*, 2009).

Il apparaît un déséquilibre provoqué par une production exagérée de radicaux libres ou par une diminution des systèmes de défense (enzymatiques et non enzymatiques), ou encore par une association de ces deux phénomènes. Un tel déséquilibre entre systèmes producteurs d'ERO et systèmes de défense caractérise l'état de stress oxydant (Figure 5), sans qu'il soit aisé de déterminer si ce dernier est causal ou s'il constitue seulement une réponse de l'organisme à des stimuli, notamment inflammatoires (Halliwell et Gutteridge, 1999).

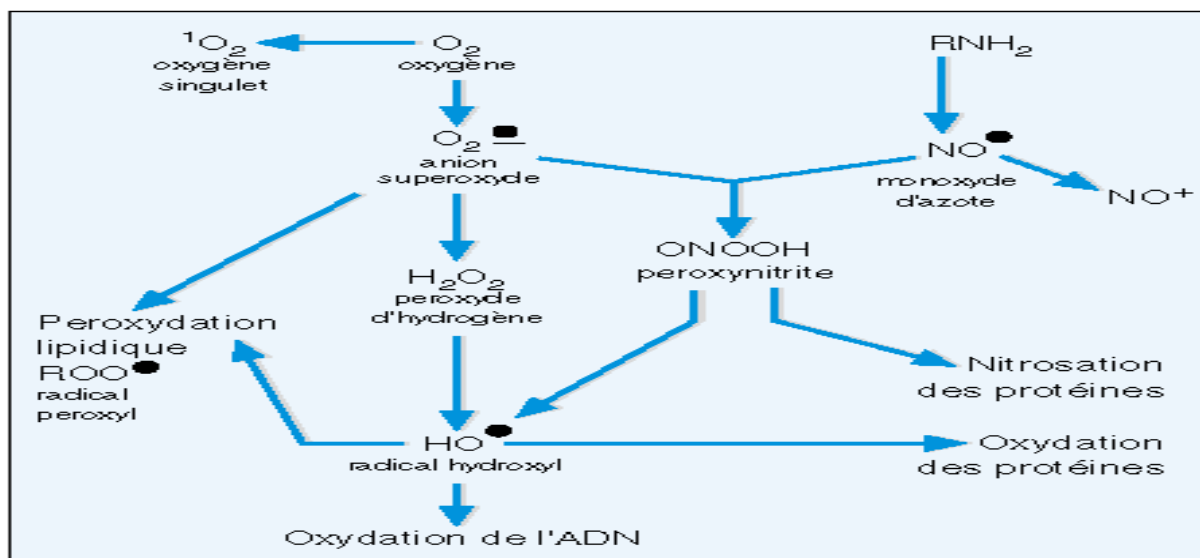


Figure 5 : Nature et relation entre les radicaux libres et les espèces réactives de l'azote et de l'oxygène (Favier, 1997).

II.4. Le stress oxydant

Le stress oxydant provient d'un déséquilibre de l'homéostasie redox. Il se traduit par la formation excessive ou la suppression insuffisante des radicaux libres (RL) résultant, soit d'un manque de capacité anti-oxydante, soit d'une surabondance des RL. Ce déséquilibre entraîne des dommages oxydatifs des différents composants cellulaires, protéines, lipides et acides nucléiques, provoquant la mort cellulaire via l'apoptose ou la nécrose (Belaïch *et al.*, 2015 ; Belaïch et Boujraf, 2016).

Le déséquilibre entre la production de radicaux libres et de métabolites réactifs, que l'on appelle des oxydants ou des espèces réactives de l'oxygène (ROS), et leur élimination par des mécanismes de protection, dénommés antioxydants est appelé stress oxydatif (Reuter *et al.*, 2010). La balance oxydative définit donc l'équilibre entre les espèces réactives de l'oxygène et les espèces antioxydantes. En médecine la balance oxydative est un concept pour maintenir l'organisme en bonne santé (Davies, 2000; Finkel and Holbrook, 2000). Son déséquilibre est sujet de nombreux problèmes comme les maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives. Cette balance est dynamique et est maintenue dans son bon équilibre par des mécanismes enzymatiques ou par des apports extérieurs de molécules très actives (Nogueira *et al.*, 2002). Dans les conditions normales, les antioxydants doivent être plus importants que les pro-oxydants, mais en conditions d'oxydation, les pro-oxydants emportent sur les

antioxydants, qui peuvent conduire à de nombreuses maladies inflammatoires (Reuter *et al.*, 2010).

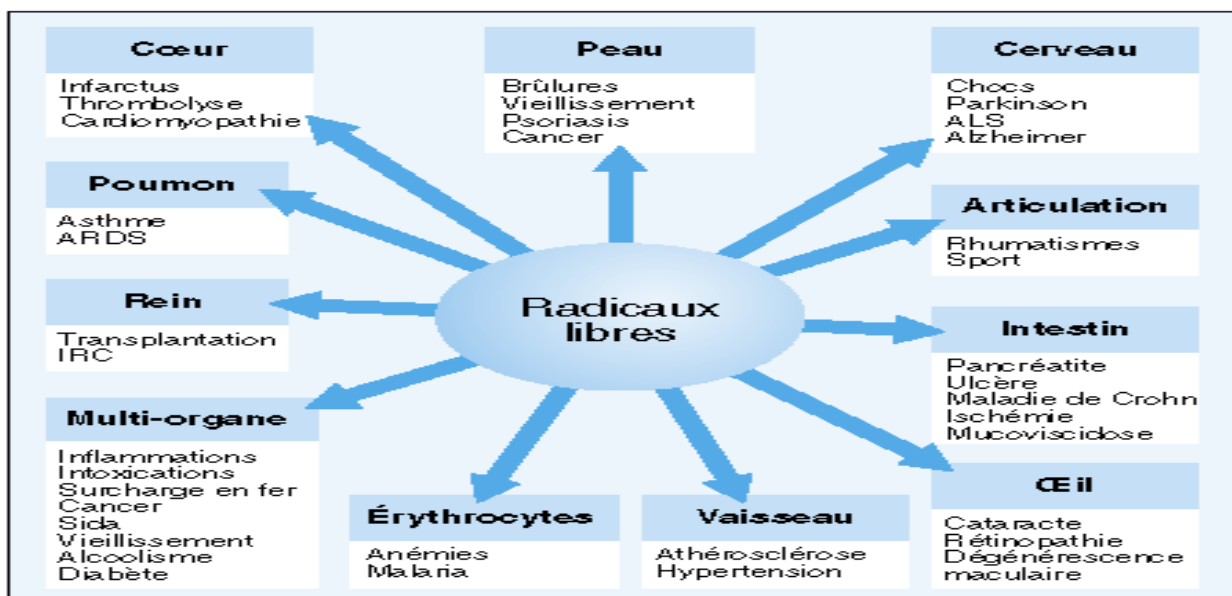


Figure 6 : Principales circonstances pathologiques s’accompagnant d’un stress oxydant primitif ou secondaire (Favier, 1997).

II.5. Les antioxydants et les systèmes de défense

L’homéostasie cellulaire, essentielle au bon fonctionnement du corps humain, est maintenue en partie par le système de défense antioxydant (Rodrigo, 2009).

Le terme d’antioxydant désigne « toute substance qui présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l’oxydation de ce substrat » (Théron et Bonnefont-Rousselot, 2005).

Classiquement, on répertorie les antioxydants selon leur origine, les antioxydants endogènes de type enzymatique sont plutôt impliqués dans la neutralisation des RL alors que les antioxydants non enzymatiques et ceux d’origine exogène sont des donneurs de protons ou d’électrons (Durand *et al.*, 2013).

II.5.1. Le système antioxydant endogène enzymatique

II.5.1.1. La Catalase

Le peroxyde d'hydrogène produit par les SOD va devoir être dégradé afin de ne pas provoquer des dommages cellulaires. C'est à ce niveau qu'interviennent les catalases qui vont alors dégrader l' H_2O_2 en eau et en dioxygène, diminuant ainsi sa demi-vie et atténuant de ce fait la génération des radicaux hydroxyles. Elles se retrouvent préférentiellement dans les peroxysomes et en plus faible quantité dans le cytosol (Yoshimoto *et al.*, 2007 ; Nicholls, 2012).

II.5.1.2. La Glutathion Peroxydase (GPX)

La glutathion peroxydase catalyse l'oxydation du glutathion aux dépens du peroxyde d'hydrogène (Levrault *et al.*, 2003). Elle peut aussi réagir avec d'autres substrats comme les lipides expliquant son rôle protecteur vis-à-vis de la peroxydation lipidique. Son site actif contient du sélénium et elle a besoin de glutathion réduit pour fonctionner. Dans la cellule, on la trouve essentiellement dans le cytosol et les mitochondries. C'est une des défenses antioxydantes les plus importantes de l'organisme (Orban, 2010).

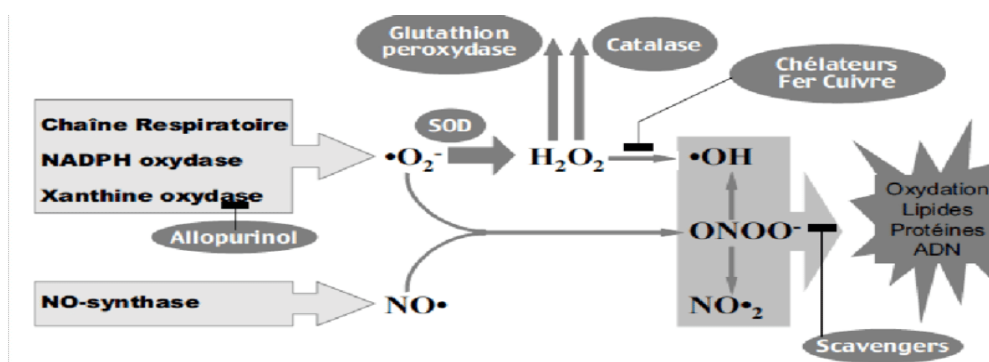


Figure 7 : Action des anti-oxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène.

II.5.2. Le système antioxydant endogène non enzymatique

II.5.2.1. Le glutathion

Le glutathion (GSH) est un tripeptide composé de cystéine, glutamine et glycine, localisé au niveau du cytosol et des mitochondries. C'est le co-facteur de plusieurs enzymes

anti-oxydantes, il joue un rôle important, dans la protection des tissus et la réparation des protéines oxydées (Zhang et Forman, 2012 ; Carocho et Ferreira, 2013).

II.5.2.2. L'acide urique

L'acide urique produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme. Il a été proposé comme un des meilleurs antioxydants du plasma, où il contribue à 35-60% de la capacité anti-oxydante totale. L'acide urique est un puissant réducteur des radicaux libres, il réduit les radicaux peroxydes, hydroxydes et neutralise aussi l'anion superoxyde (Favier, 1997; Letonturier, 2002).

II.5.3. Le système antioxydant exogène

II.5.3.1. L'acide ascorbique (vitamine C)

La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs des ERO. Lors de son oxydation en acide déhydro-ascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyle), qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (Mak et al., 2002).

II.5.3.2. L' α -tocophérol (vitamine E)

Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme, situés dans les lipoprotéines et dans les membranes (Delattre et al., 2005). Lors de la peroxydation lipidique, elle va permettre l'inhibition de l'étape de propagation, et ainsi assurer un rôle de protection des membranes contre l'oxydation lipidique (Herrera et Barbas, 2001).

II.5.3.3. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments fabriqués par les végétaux. Ce sont eux qui donnent aux fruits et légumes des couleurs orange, rouge et jaune. Les plus importants sont le bêta-carotène, l'alpha-carotène et le lycopène. La plupart des caroténoïdes ont une propriété antioxydante. Leur structure polyène leur permet d'absorber la lumière et de neutraliser l'oxygène singulet (Causse, 2008).

II.5.4. Les Antioxydants de synthèse

Il existe plusieurs antioxydants synthétiques dont les squelettes sont souvent dérivés des antioxydants naturels (Lee et al, 2009).

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butyl hydroxy-toluène (BHT), et la gallate propylée (PG) sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins coûteux que les anti-oxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée, car ils sont susceptibles de manifester des effets secondaires et même toxiques (Lisu et al, 2003).

II.6. Les méthodes d'évaluation de l'activité anti-oxydante

Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante in vitro peuvent être divisées en deux grandes catégories suivant les réactions mises en jeu : soit les tests basés sur le transfert d'un atome d'hydrogène (HAT, Hydrogen Atom transfer), soit les tests basés sur le transfert d'un simple électron (SET, Single Electron transfer) (Huang et al., 2005).

Les techniques du premier groupe sont employées pour évaluer la peroxydation lipidique en utilisant un substrat lipidique ou lipoprotéique. La quantification de cette propriété est exprimée par la mesure du degré d'inhibition de l'oxydation (Sánchez-Moreno et al., 1998).

Alors, les méthodes du deuxième groupe sont celles qui interviennent dans la mesure de l'habilité du piégeage des radicaux libres. Elles comportent le piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), de l'acide hypochloreux (HOCl), de l'hydroxyle (OH•), des anions superoxyde (O₂•⁻), du peroxyde (ROO•) et de l'oxyde nitrique (NO•) (Sánchez-Moreno, 2002). Dont on cite :

➤ **Méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)**

Cette technique basée sur la réaction chimique de réduction du Fe³⁺ présent dans le complexe K₃Fe(CN)₆ en Fe²⁺ (Oyaizu, 1986).

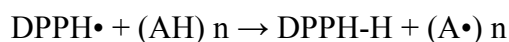
➤ **Test de piégeage du radical libre DPPH• (C₁₈H₁₂N₅O₈)**

Le DPPH• est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm.

En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage

d'inhibition du radical DPPH•, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon. Cette méthode est fondée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH• (Parejo et al, 2003).

On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :



Où (AH) n représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH• (violet) pour le transformer en molécule DPPH-H.

II.7. Les Composés phénoliques

II.7.1. Les polyphénols

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (Boizot et al., 2006).

II.7.1.1. Diversité

Les polyphénols naturels peuvent varier de molécules simples telles que l'acide phénolique à gros composés hautement polymérisés comme les tanins (figure 8). Les formes conjuguées de polyphénols sont les plus courantes, où divers sucres, acides organiques et lipides (graisses) sont liées à la structure phénolique (Bouchet et al., 1998). Les composés phénoliques peuvent être regroupés en plusieurs classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette, ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, ...etc.) (Macheix et al., 2005).

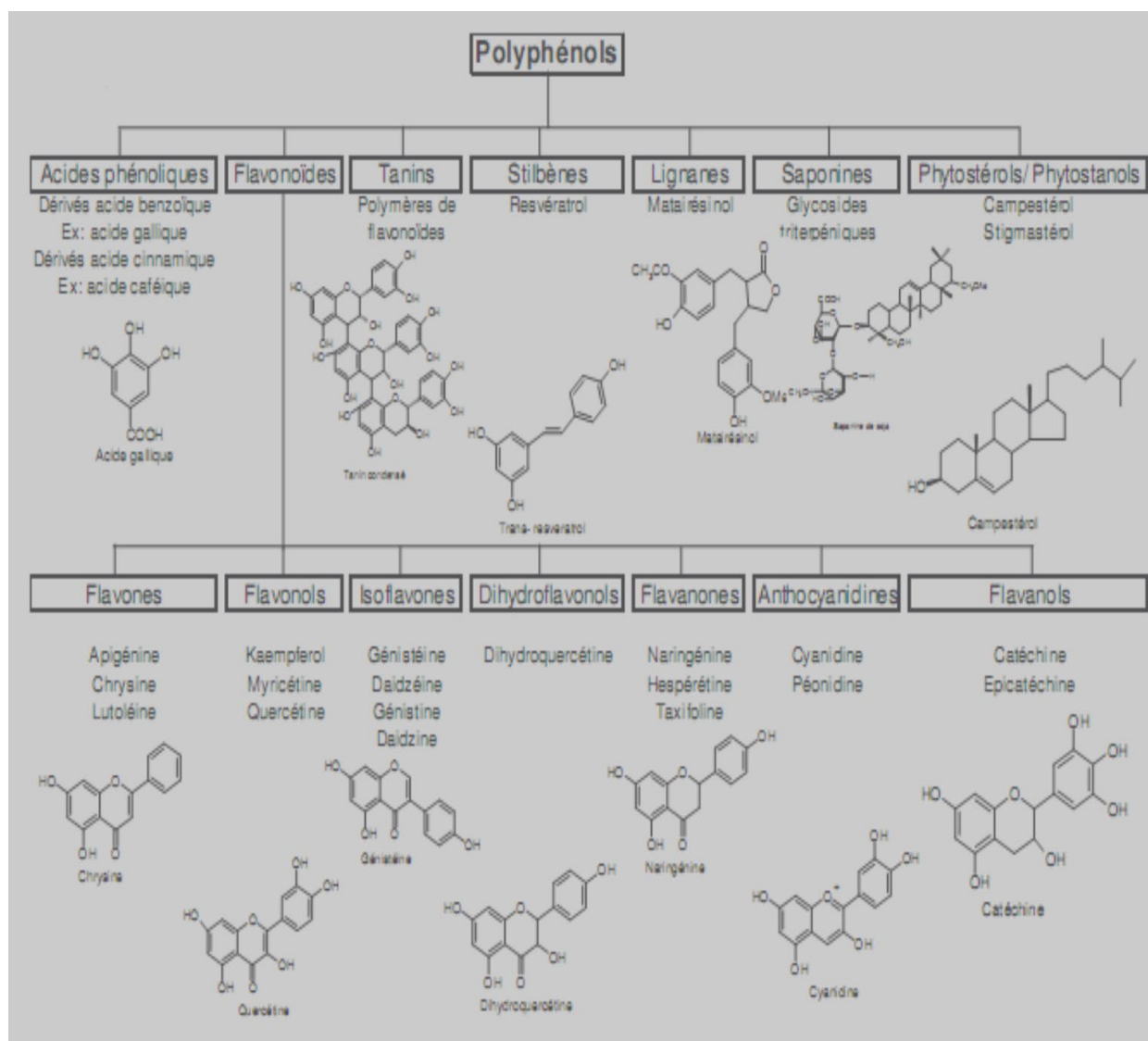


Figure 8 : Les différentes classes des polyphénols (Gervaise, 2004)

II.7.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques, omniprésents dans la nature. Plusieurs structures sont regroupées autour de la structure chimique des flavonoïdes (figure 8), flavone, flavanone, isoflavones, anthocyanidiques, catéchine 61 et chalcone. Plus de 4 000 flavonoïdes ont été identifiés, dont beaucoup sont largement distribués dans les aliments végétaux et comprennent: les lignines ; les proanthocyanines; les anthocyanes / anthocyanidines; les isoflavones; la Génistéine; les catéchines; les tanins; et la quercétine (Nakatami *et al.*, 2000).

II.8. Effets des composés phénoliques

Il est actuellement admis que les polyphénols aident dans la prévention du cancer, la protection contre les maladies cardiaques et l'hypertension (Bouchet *et al.*, 1998). L'ingestion de ces polyphénols par l'intermédiaire des fruits et des légumes pourrait permettre à notre organisme de renforcer ses moyens de défense, grâce à leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, et anticancéreuses (Khan, 2010).

II.8.1. Effet antioxydant

Les polyphénols sont capables de piéger les radicaux libres et d'activer les autres antioxydants présents dans le corps. Cette activité permet aux polyphénols de réguler les radicaux libres comme l'oxyde nitrique qui permet une bonne circulation sanguine, coordonne l'activité du système immunitaire avec celle du cerveau et module la communication entre les cellules cérébrales (Masquelier, 2006).

II.8.2. Effet anticancéreux

Les polyphénols possèdent un pouvoir anticancéreux prouvé, dont ils agissent comme agents bloquants (protection des acides nucléiques), ce qui minimisent les mutations au niveau d'ADN et comme agents suppresseurs de tumeurs par l'inhibition de la prolifération cellulaire (Khan, 2010).

II.8.3. Effet anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire des polyphénols a été mis en évidence chez le lapin par la prévention des lésions dues à une application externe d'huile de croton (Helme *et al.*, 1999), et chez les rats par test des flavonoïdes sur une réaction inflammatoire induite par une substance appelé carrageenan (Emim *et al.*, 1994). Les hypothèses formulées concernent la stabilisation de la membrane des mastocytes évitant la libération d'histamine et d'autres médiateurs de l'inflammation, et l'inhibition de l'activité de la phospholipase (Helme *et al.*, 1999).

De nombreuses études ont pu montrer que les polyphénols et leurs métabolites agissaient également comme des modulateurs des voies de signalisation de l'inflammation. Les études menées chez l'homme sain ont montré que le suivi d'un régime riche en fruits et légumes était inversement corrélé aux marqueurs de l'inflammation dans le plasma, et que la consommation d'anthocyanes était associée à la diminution du taux de cytokines circulantes (Lenoir *et al.*, 2011).

Des recherches récentes ont démontré que les flavonoïdes, notamment les flavonols, peuvent prévenir de la douleur musculaire en accélérant la réparation des tissus au niveau moléculaire. De manière spécifique, ils inhibent l'enzyme NOS responsable de la synthèse de l'oxyde nitrique, qui est déclencheur chimique de l'inflammation. D'autres études, affirment l'action inhibitrice de ces flavonoïdes, plus particulièrement la lutéoline, l'apigénine, catéchine sur la cyclo-oxygénase enzyme synthétiques des molécules impliquées fortement dans le processus inflammatoire (Scalbert *et al.*, 2005).

II.9. Autres types d'anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des substances qui agissent sur le gonflement et la douleur. Ainsi, lors d'une angine, la gorge est rouge et gonflée, lors d'un rhumatisme articulaire, l'articulation est enflée et douloureuse. L'anti-inflammatoire va faire dégonfler et soulager la douleur. En médecine allopathique, on prescrit selon les cas, des anti inflammatoires stéroïdiens (cortisone et dérivés) ou des non stéroïdiens (AINS), le plus connu étant l'aspirine. Leurs principaux inconvénients sont la mauvaise tolérance digestive et les nombreuses contre-indications :

II.9.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

- **Mode d'action pharmacologique**

Les AINS sont tous des inhibiteurs de cyclo-oxygénases. Sur le plan du mode d'action, il existe 3 familles de produits :

- Les inhibiteurs compétitifs réversibles se fixent dans le site catalytique de l'enzyme en empêchant ainsi la liaison de son substrat naturel : l'acide arachidonique. La majorité des AINS entrent dans cette catégorie.

- Les inhibiteurs irréversibles tels que l'indométacine, le flurbiprofène ou l'acide méclofénamique produisent une inhibition enzymatique définitive. Une nouvelle synthèse de protéines est nécessaire pour que réapparaisse l'activité enzymatique.

- Les inhibiteurs compétitifs réversibles dont l'action est liée à la capture des radicaux libres. En effet, la cyclo-oxygénase est couplée à une peroxydase pour former un complexe enzymatique : la prostaglandine endoperoxyde synthétase. Ce complexe forme la PGH₂, plaque tournante de la synthèse des prostaglandines, du thromboxane et de la prostacycline. Cette réaction nécessite la présence de radicaux libres. Si ces derniers sont fixés par des

capteurs de radicaux libres (AINS dérivés phénoliques), la réaction enzymatique est bloquée (Yvan, 1997).

II.9.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens ou corticoïdes ont de très nombreuses indications médicales. Pour ne retenir que les principales citons l'action anti-inflammatoire utilisée en cas d'inflammation importante, en particulier en cas de maladies chroniques telles qu'une polyarthrite rhumatoïde ou certaines allergies graves et l'action immunosuppressive, qui diminue l'efficacité du système de défense de l'organisme contre une agression, action utile en cas de maladies dîtes de systèmes ou dans les suites d'une greffe d'organe pour limiter le rejet par l'organisme. Ils peuvent être utilisés en complément de certains traitements de chimiothérapie.

Les anti-inflammatoires stéroïdiens sont des dérivés synthétiques de la cortisone qui sont de puissants anti-inflammatoires doués également de propriétés immuno-modulatrices et antiallergiques. Empêchant l'activation de la phospholipase A2, ils bloquent à la fois la voie des prostaglandines et celles des leucotriènes (Peltier, 2012).

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Objectif

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire des microorganismes bénéfiques des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS), université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem. Le but de cette étude était d'étudier l'effet antioxydant et anti-inflammatoire des composés bioactifs extraits de la cardamome (*Elettaria cardamomum*).

L'étude comporte trois parties :

- Partie 1 : Extraction du matériel végétal à partir des fruits d'*Elettaria cardamomum*,
- Partie 2 : Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* d'extrait d'*E. cardamomum* (EEC),
- Partie 3 : Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* d'ECC.

III.2. Matériel végétal

Les fruits d'*E. cardamomum*, « Hab el Hal », ont fait l'objet de cette étude. Ils ont été achetés secs du centre commerciale UNO de Mostaganem (figure 9).

La matière végétal est broyé dans un broyeur (Moulinex) jusqu'à l'obtention d'une poudre fine nécessaire à la préparation des extraits puis mis dans des bocaux hermétique et conservés à sec (température ambiante) et à l'abri de l'humidité.



Figure 9: Fruits d'*Elettaria cardamomum* secs et broyés

III.3. Extraction

L'extraction du matériel végétal est effectuée selon le protocole de [Masoumi-Ardakani et al. \(2017\)](#) ; qui consiste à mettre 200 g de matière végétale en poudre en contact avec 1000 mL d'éthanol absolu. La préparation est laissée macérer à température ambiante pendant 72 heures à l'abri de la lumière. Après filtration par un papier whatman N°1, l'extrait éthanolique récupéré a été concentré à l'aide d'un rota-vapeur à 5°C afin que l'éthanol soit évaporé. L'extrait éthanolique d'*E. cardamomum* (EEC) sera récupéré dans un flacon obscure en verre et conservé à l'abri de la lumière.

III.4. Activité antioxydante *in-vitro* d'*Elettaria cardamomum*

III.4.1. Dosage des phénols totaux

- Principe

Les métabolites secondaires constituent une large gamme de molécules végétales, dont leur nature chimique et teneurs sont extrêmement variables d'une espèce à autre. Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la quantification des phénols totaux, l'analyse par le réactif de Folin Ciocalteu est la plus utilisée.

Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lors de l'oxydation, il est réduit en un mélange d'oxyde bleu. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait analysé ([kassemi, 2006](#)).

- Protocole

0.5 mL de l'extrait de *Elettaria cardamomum* est mélangé avec 05 mL d'eau distillée et 0.5 mL de folin ciocalteu. Après 03 mn, on ajoute 0.5 ml de carbonate de sodium ($\text{Na}_2 \text{CO}_3$) à 10% ([Singleton et al., 1999](#)).

L'absorbance est mesurée à 760 nm, après incubation pendant 1 heure à température ambiante. La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique, en suivant les mêmes étapes du dosage.

III.4.2. Dosage des flavonoïdes

- Le principe

Les flavonoïdes représentent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles (Pietta, 2000 ; Ghedira, 2005).

- Protocole

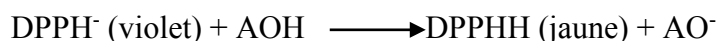
1 mL de l'extrait de cardamome est mélangé avec 1 mL de trichlorure d'aluminium (2 %). L'absorbance est mesurée à 430 nm, après incubation à température ambiante pendant 30 min. On utilise la quercétine pour tracer la courbe d'étalonnage.

III.4.3. Mesure du pouvoir antioxydant par le test au 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

- Le principe

Ce test permet de mettre en évidence le pouvoir anti-radicalaire d'un antioxydant pur ou d'un extrait d'antioxydant et il est réalisé selon la méthode originale décrite par Blois (1958) et modifiée par Brand-Williams *et al.* (1995).

Il met en jeu le radical stable 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyl (DPPH[•]). Le DPPH[•] absorbe à 515 nm. Sous l'action d'un antioxydant AOH qui le réduit en DPPHH, cette absorbance diminue jusqu'à atteindre un plateau, cette cinétique variant selon l'antioxydant utilisé.



- Protocole

Après la préparation des différentes concentrations des extraits (0.5, 1, 5, 10 et 20 µg/mL), on prend 0.025 mL de chaque concentration et on ajoute 0.975 mL de la solution de DPPH (60 µM). Le mélange réactionnel est immédiatement agité avant d'être placé pendant 30 min à l'abri de la lumière. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm.

Les résultats d'absorbance obtenus ont été convertis en taux de pouvoir anti-radicalaire (% RSA ou Radical Scavenging Activity) de DPPH selon l'équation:

$$[\%RSA = (Abs_{\text{contrôle}} - Abs_E) / Abs_{\text{contrôle}} \times 100]$$

Les résultats sont souvent apportés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique.

III.5. Activité anti-inflammatoire *in vivo* d'*Elettaria cardamomum*

III.5.1. Animaux et conditions de l'expérimentation

Trente rats mâles Wistar albinos ayant un poids variant entre 120 et 150 g ont été utilisés dans la présente expérimentation. Provenant de l'institut Pasteur d'Algérie. Le protocole est conforme aux lignes directrices du National Institute of Health (NIH-USA).

Dès leur réception, les rats ont été mis aléatoirement dans des cages métaboliques par groupes de trois pour une période d'adaptation de 2 semaines à température ambiante avec un cycle naturel de lumière et d'obscurité. Les rats ont un accès libre à la nourriture (croquettes provenant de la société de production des aliments pour animaux, Bouzaréa, Alger) et à l'eau. Après une vingtaine de jours d'acclimatation, les animaux ont été divisés en cinq groupes :

- Le premier groupe a été utilisé comme témoin négatif : G1 (l'eau et la nourriture *ad-libitum*) ;
- Le groupe 2, est un témoin positif : G2 l'eau et la nourriture *ad-libitum*) ;
- Les rats du groupe 3 et 4 ont été respectivement traités par voie orale de la cardamome à raison de 100 et 200 mg/kg/jour durant 15 jours ;
- Tandis que les rats du groupe 5 ont reçu 50 mg/kg/jour d'acide gallique pendant 15 jours.



Figure 10 Des rats Wistar dans leurs cages

Au seizième jour ; 30 min après la prise du traitement (qui a duré 15 jours), les rats du groupe G2 à G5 ont reçu une injection intra-péritonéale de 200 μ L de carragénine (2%). 4h après l'induction de l'inflammation, les rats ont été maintenus sous une légère anesthésie de chloroforme avant d'être sacrifiés afin d'éviter tout risque de changements de paramètres chimiques avant la collecte des échantillons de sang.

Une dissection de l'animal est par la suite effectuée afin de récupérer le foie. Ce dernier a été immédiatement retirés ; lavés avec de l'eau physiologique et conservés dans du formol à 10% (v/v) à température ambiante.

III.5.2. Analyse des paramètres sérique

III.5.2.1. Dosage de protéines totales

Dosage des protéines totales par la méthode colorimétrique (réaction du Biuret).

Principe : Pour toute chaîne polypeptidique contenant au moins 2 liaisons peptidiques, les liaisons peptidiques forment, en milieu très alcalin, un complexe coloré avec les ions Cu^{2+} . Si on met en œuvre un réactif standardisé, en excès, on peut ainsi doser les protéines par colorimétrie avec une longueur d'onde $\lambda=540$ nm (Gornall *et al.*, 1949).

III.5.2.2. Dosage de l'albumine

Le dosage de l'albumine est effectué par la méthode colorimétrique (kit Biosystems). La réaction de l'albumine avec le vert de bromocrésol en milieu acide, donnant lieu à un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 630 nm.

III.5.2.3. Dosage du fibrinogène

La mesure est effectuée par méthode fonctionnelle chronométrique basée sur la mesure du temps de thrombine (TT). En présence d'un excès de thrombine, le temps de coagulation d'un plasma contenant une faible concentration de fibrinogène est proportionnel au taux de fibrinogène plasmatique. Le réactif est de la thrombine calcique titrée (100 unités NIH/ml) contenant un inhibiteur spécifique de l'héparine (fibriprest Automate).

III.5.2.4. Dosage de la glycémie

La glycémie a été déterminée par une méthode enzymatique (Hexokinase / G-6-PDH) en utilisant le kit de réactif de glucose REF 3L82-20 et un auto-analyseur de type (ARCHITECT c Systems).

III.5.3. Réalisation des coupes histologiques

L'étude histologique a été effectuée selon le protocole de [Drury et Wallington \(1980\)](#). L'étude histologique a été réalisée au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique, EPH de Mostaganem.

L'objectif de cette étude est de vérifier l'existence de modifications éventuelles dans la structure du foie des rats, suite à l'administration de la cardamome pendant 15 jours.

Le matériel courant d'histologie comme les moules de dimensions, cassettes, lames et lamelles, étuve, bain marie, paraffine et le microscope photonique a été utilisé.

III.3.1. Préparation des échantillons.

La préparation des échantillons comporte plusieurs opérations : fixation, mise en cassettes, déshydratation, clarification et inclusion.

- Fixation

La fixation a pour but la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur. Les liquides fixateurs les plus utilisés sont le formol ou le liquide de Bouin (mélange de formol et d'acide picrique). La durée de la fixation varie selon le volume des prélèvements. Elle consiste à figer à un moment donné cellules, tissus, organes ou fragments d'organes dans un état aussi proche que possible à l'état vivant (Coujard, 1980).

Dans notre cas, les organes sont fixés dans du formol à 10% (Annexe 02), ce dernier est l'un des meilleurs fixateurs des protéines Cette technique nous a permis de conserver nos pièces pendant plusieurs semaines.

- Mise en cassette

De préférence un échantillon par cassette, en particulier pour les gros organes. Plonger les cassettes dans un récipient fermé de formol 10%, 10 fois le volume des prélèvements, une heure minimum jusqu'à plusieurs jours.

- Déshydratation

Après fixation, les tissus ont été déshydratés en mettant les cassettes dans 4 bains successifs d'acétone à une température de 56° C, chaque bain dure 30 min.

- Clarification

Cette opération s'effectue après la déshydratation, les cassettes sont placées dans trois bains de xylène à 40° C, chaque bain durée 2 h.

- Inclusion

Elle est effectuée par la paraffine. A l'aide d'un automate (Leica, Allemagne), placer les cassettes dans des moules métalliques, puis verser au dessus de ces cassettes de la paraffine liquide qu'on laisse solidifier avant de congeler.

III.3.2. La microtomie

On récupère les cassettes congelées, pour réaliser des coupes de 5 µm à l'aide d'un microtome (Leica, Allemagne) que l'on étale sur des lames propres avant de les déparaffiner par 2 bains successifs de 10 min dans du xylène. Ensuite, on procède à la réhydratation qui consiste à éliminer le xylène pour le remplacer par l'eau. Pour ce faire, les lames sont passées 2 min dans 2 bains successifs d'alcool éthylique de degré décroissant (100°, 95°, 90° et 70°). Le dernier bain est suivi d'un rinçage à l'eau courante pendant 5 min.

La coloration des lames a été effectuée comme suit :

- Bleuir le noyau avec l' hémateïne pendant 3 à 4 min ;
- Laver les lames avec de l'eau de robinet jusqu'au virage de la couleur au bleu-noir ;
- Les tremper dans l'éosine 1% pendant 2 min ;
- Les mettre dans deux bains successifs d'alcool éthylique à 70° puis à 96° pendant 5 min chacun pour alléger la sur-coloration ;

Mettre les lames dans du xylène à deux reprises pendant 5 min.

Les lames sont montées pour préserver les colorations, on colle des lamelles de verre par-dessus grâce à une goutte de baume de Canada qui sert à coller cette dernière à la lame. Les lames préparées sont laissées sécher puis observées sous microscope.

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. L'activité antioxydante d'*Elettaria cardamomum* in vitro

IV.1.1. Teneur en Composés phénoliques d'*Elettaria cardamomum*

L'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC) a été analysé quantitativement par spectrophotomètre UV-visible, pour son contenu en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

L'estimation des teneurs en polyphénols totaux a été effectuée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans cette méthode. Les quantités des polyphénols ont été rapportées en équivalent mg d'acide gallique par gramme d'extrait (EEC).

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃), en utilisant la quercétine comme solution étalon. Les résultats des composés phénoliques sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Teneur en composés phénoliques et flavonoïques totaux d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum*. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations ± écartype (n = 3).

Extrait éthanolique d' <i>Elettaria</i> <i>cardamomum</i>	Composés phénoliques	
	Polyphénols (mg EAG/g de cardamome)	Flavonoïdes (mg EQ/g de cardamome)
	343,90±32,26	305,65±64,27

Nos résultats montrent que l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* renferme une forte teneur en polyphénols et en flavonoïdes de 343,90 mg EAG/g d'extrait et 305,65 mg EQ/g d'extrait respectivement.

Ces teneurs en polyphénols restent nettement supérieures à celles reportées par [Ninfali et al. \(2005\)](#) et [Souri et al. \(2008\)](#) sur des extraits méthanoliques, qui atteignent des valeurs de 148 mg/100g MS et 84,19 mg/100 g MS respectivement. Par ailleurs, l'étude réalisée par [Ho](#)

et al. (2008) montre que l'extrait méthanolique possède une teneur très élevée en flavonoïdes de 226 mg EC/g MS.

La discordance de nos résultats avec certains travaux de la bibliographie nous laissent penser que notre extrait (EEC) est réellement riche en composés phénoliques et en flavonoïdes.

Les travaux réalisés par *Sharafati-chaeshtor (2017)* sur l'extrait éthanolique et *Kandikattua et al. (2017)* sur l'extrait hexanoïque des fruits d'*E.cardamomum* donnent des valeurs de (19,27mg EAG/g MS et 24 mg EAG/mg MS) en polyphénols totaux et (18 mg ER/g MS et 13 mg EC/g MS) en flavonoïdes respectivement. Ces teneurs restent inférieures à nos résultats qui sont plus élevés en polyphénols et en flavonoïdes (343,90 mg EAG/g de cardamome et 305,65 mg EQ/g de cardamome) respectivement.

Une étude faite par *Bhatti et al. (2010)* montre que les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes d'extraits méthanoliques des fruits d'*E.cardamomum* est d'ordre de 1,66 g EAG/100g MS et 4,63 g EC/100g MS respectivement. Ces teneurs apparaissent faibles voire nulles comparativement à nos résultats qui sont plus élevées.

Les teneurs en composés phénoliques varient qualitativement et quantitativement dans la même plante ainsi d'une plante à une autre, cela peut être expliquée par

- L'origine de la plante et la méthode d'extraction (*Djeridane et al, 2013*) ;
- La polarité des solvants d'extraction (*Gao et Liu, 2005*) ;
- Elle dépend aussi d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (le climat, la période de récolte et les conditions de stockage) (*Podsędek, 2007 ; Falleh et al., 2008*).

IV.1.2. Pouvoir antioxydant d'*Elettaria cardamomum*

Le radical DPPH• est généralement l'un des composés les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antiradicalaire des composés polyphénoliques d'*Elettaria cardamomum* ; en raison de sa stabilité en forme.

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH• et comparés aux molécules de références (acide ascorbique). Dans ce test on a utilisé l'acide ascorbique comme standard.

La figure 11 présente graphiquement les pourcentages (%) de l'activité antioxydante d'*Elettaria cardamomum* et de l'acide ascorbique en fonction de différentes concentrations (10, 20, 50 et 100 µg/mL).

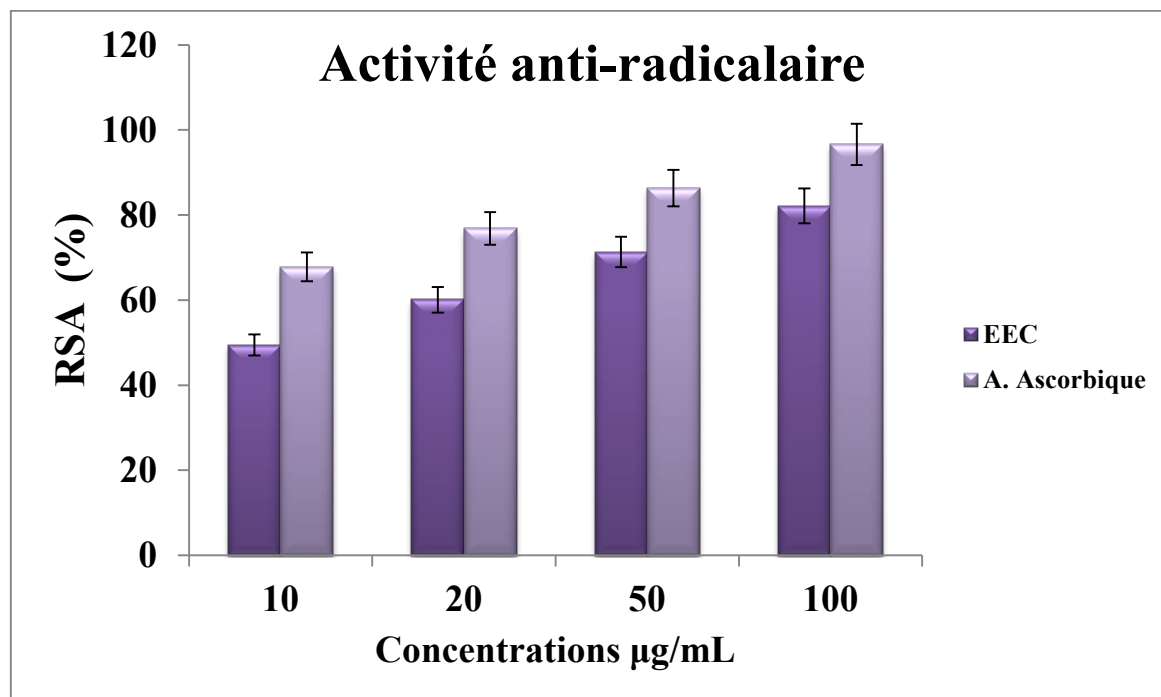


Figure 11 : Pouvoir anti-radicalaire (RSA%) des différentes concentrations (10, 20, 50, et 100 µg/mL) d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* et de l'acide ascorbique. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations \pm écartype (n = 3).

Il faut savoir que l'IC₅₀ est la concentration nécessaire pour éliminer 50% des radicaux libres, c'est le paramètre utilisé pour mesurer l'activité de l'extrait à piéger le radical libre (Cuvelier *et al.*, 1992).

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait et le standard l'acide ascorbique réduisent d'une manière dose-dépendante le radical DPPH, c'est-à-dire le pourcentage de réduction (ou inhibition) du DPPH augmente avec l'augmentation des concentrations de l'acide ascorbique et l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC), jusqu'à un seuil où le pourcentage d'inhibition se stabilise avec l'élévation de la concentration d'extrait.

Le pourcentage d'inhibition d'extrait éthanolique d'EEC est supérieur à 90% à une concentration de l'ordre de 100 µg/mL d'extrait d'EEC. De plus, IC₅₀ d'extrait éthanolique d'EEC est égale de 11,2 µg/mL.

L'extrait éthanolique d'EEC procure d'une activité très efficace. Les polyphénols renfermés dans l'extrait éthanolique d'EEC sont éventuellement garants de cette activité. En général, les plantes médicinales utilisées dans les pharmacopées traditionnelles possèdent des propriétés antioxydantes (Speroni *et al.*, 2000).

Des résultats ont été obtenus par Sultana *et al.* (2010), révélant qu'une IC50 de 217,431 µg/mL pour l'extrait méthanolique de fruit d'*Elettaria cardamomum*.

En outre, l'étude faite par Souri *et al.* (2008) ont montré que l'extrait méthanolique présente une IC50 égale 167,29 µg/mL. D'autres études faites par Khalaf *et al.* (2008) et Kandikattua *et al.* (2017) donnent des IC50 égales 681,5 et 464 µg/mL respectivement.

L'activité antioxydante de polyphénols dépend généralement de leurs structures chimiques, du nombre et de la distribution des groupements hydroxyles (Popovici *et al.*, 2009). Ils peuvent piéger et neutraliser les radicaux libres, inhiber les enzymes responsables de la formation des radicaux libres et être des chélateurs de certains ions métalliques (Dugas *et al.*, 2000 ; Spiridon *et al.*, 2011). Les polyphénols qui contiennent le noyau catéchol dans leur structure présentent un pouvoir réducteur du fer élevé, cela est due à la participation des groupements OH liés au noyau catéchol (Degraft-Johnson *et al.*, 2007).

IV.2. L'activité anti-inflammatoire d'*Elettaria cardamomum* in vivo

IV.2.1. Les paramètres sériques

IV.2.1.1. Protéines totales

Selon les résultats obtenus (Figure 12), on remarque une augmentation hautement importante de 6,4g/L et 8g/L du taux de protéines totales chez les rats de G3 et G4 traités par 100 mg/kg et 200 mg/kg respectivement d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC) par rapport au G2 (Témoin positif).

Tandis qu'on remarque une augmentation de (1,5g/l) de taux de protéines totales chez le groupe G5 des rats qui ont été traités pendant 7 jours par 50 mg/kg d'acide gallique et injectés par 200µl de carragénine par rapport au groupe témoin (G2). En outre le taux de protéines totales de G4 (200 mg/kg d'EEC et 200 µl de carragénine) est similaire aux taux de G1 (Témoin négatif ou rats sous une diète hydrique et alimentaire).

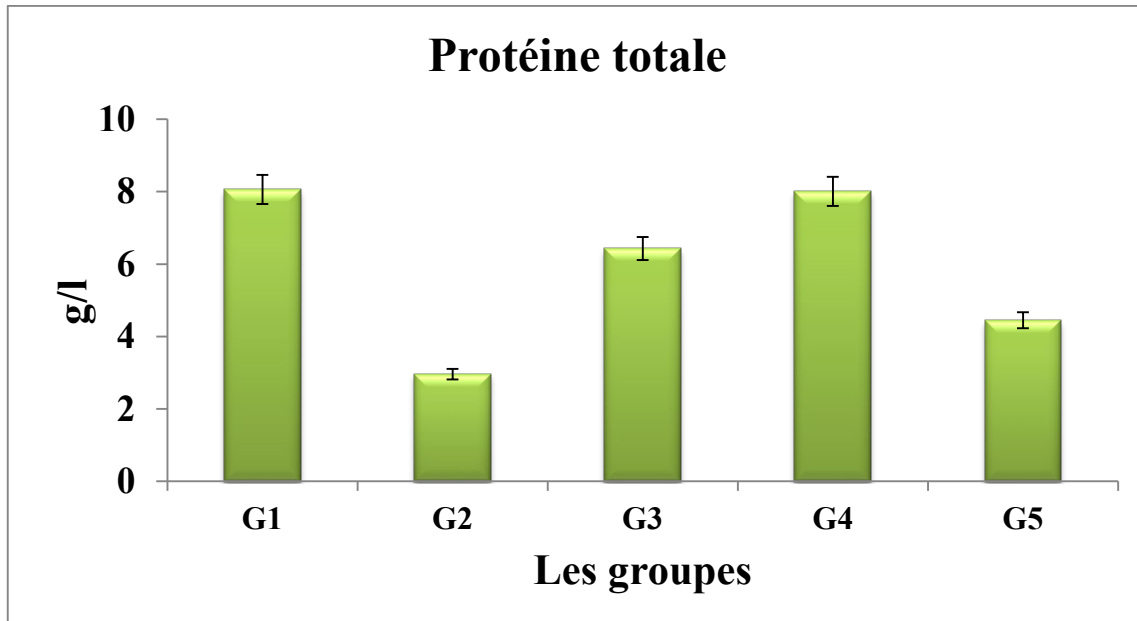


Figure 12 : La teneur en protéines totale (g/l) chez les rats traités ou non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC), et/ou l'acide gallique, et/ou exposés à 200 µl de carragénine (2%). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations ± écartype (n = 5).

G1 : témoin négatif ; G2 : témoin positif ; exposé à 200 µl de carragénine (1jour) ; G3 : traités par 200 mg/kg/ d'EEC (7jours) puis 200 µl de carragénine (1jour) ; G4 : traités par 200 mg/kg/ d'EEC (7jours) puis 100 µl de carragénine (1jour) ; G5 : traités par 50mg/kg d'acide gallique (7jours) puis 200 µl de carragénine (1jour).

Les protéines totales comprennent surtout l'albumine, les globulines (alpha 1, alpha 2, bêta, gamma) et le fibrinogène. L'albumine et le fibrinogène sont synthétisés par le foie, et les globulines par les plasmocytes (Belier et Michaux, 2007).

Une diminution de la concentration sérique des protéines totales peut être le signe d'une hépatopathie chronique mais aussi d'une carence nutritionnelle en protéine, d'une anorexie, d'une mal assimilation, d'une perte rénale, d'un épanchement, d'une hémorragie, d'une hyperhydratation, ou de brûlures (Dietz et Wiesner, 1984).

Par le biais des résultats obtenues sur le taux de protéines totales est élevé chez G3 et G4 traités respectivement, par 100mg/kg et 200mg/kg d'extrait éthanolique de cardamome exposé a 200 µl de carragénine comparativement au G2 (témoin positif qui été exposé a 200 µl de carragénine) ; les meilleures résultats été obtenues chez les rats de lot 4 qui étaient traités par 200 mg/kg d'EEC.

Nos résultats confirment ceux de (Perez et al. 2000) qui a démontré que, *Salvia officinalis* augmente le taux des protéines totales ce qui confirme qu'elle a un effet anti inflammatoire.

IV.2.1.2. Dosage d'albumine

D'après les résultats obtenus dans la (figure 13), on constate qu'il y a une chute de l'albuminémie de (1,4g/dl) ; du taux d'albumine chez le G2 (témoin positif qui a été exposé a 200 µl de carragénine) comparativement au G1 (témoin négatif).

En revanche, l'administration de 100 mg /kg et 200 mg/kg d'extrait d'EEC et de 200 µl de carragénine chez les rats de G3 et G4 a montré une augmentation de (2,1 g/dl et 4,5g/dl) par apport au G2 (Témoin positif qui été exposé à 200 µl de carragénine).

On observe que les rats du groupe G5 (traité de 50 mg/kg d'acide gallique et 200 µl de carragénine) ont montré une augmentation significative de 1.8g/dl de taux d'albumine par rapport au G2 (témoin positif exposé a 200 µl de carragénine).

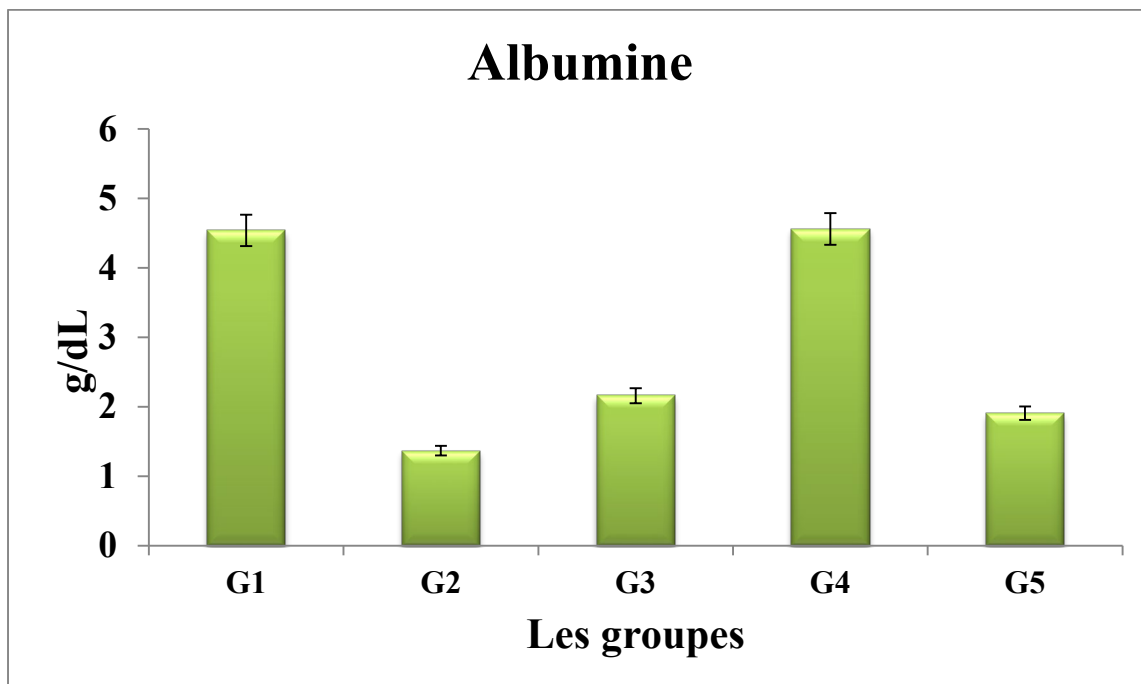


Figure 13 : La teneur en albumine (g/dL) chez les rats traités ou non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC), et/ou l'acide gallique, et/ou exposés à 200 µl de carragénine (2%). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations ± écartype (n = 5).

G1 : témoin négatif ; G2 : témoin positif ; exposé à 200 µl de carragénine (1jour) ; G3 : traités par 100 mg/kg/ d'EEC (7jours) puis 200µl de carragénine (1jour) ; G4 : traités par 200 mg/kg/ d'EEC (7jours) puis 200µl de carragénine (1jour) ; G5 : traités par 50mg/kg d'acide gallique (7jours) puis 200 µl de carragénine (1jour).

L'extrait d'*Elettaria cardamomum* augmente le taux d'albumine chez les rats qui ont subis une inflammation par la carragénine ; ils ont un effet hyper-albuminant.

IV.2.1.3. Dosage de fibrinogène

Les résultats illustrent une diminution significative de (4,5g/l et 2g/l) du taux de fibrinogène chez les rats de G3 et G4 (traité respectivement de 100 et 200mg/kg d'EEC et de 200 µl de carragénine) par rapport au G2 (témoin positif exposé à 200 µl de carragénine). Tandis que le G1 (témoin négatif) a montré un faible taux de fibrinogène (2g/l) par rapport au G2 (figure 14).

En outre on remarque également une diminution de (4,5g/l) de taux de fibrinogène chez le groupe 5 (rats traité de 50 mg/kg d'acide gallique) par rapport au G2 (témoin positif exposé a 200 µl de carragénine).

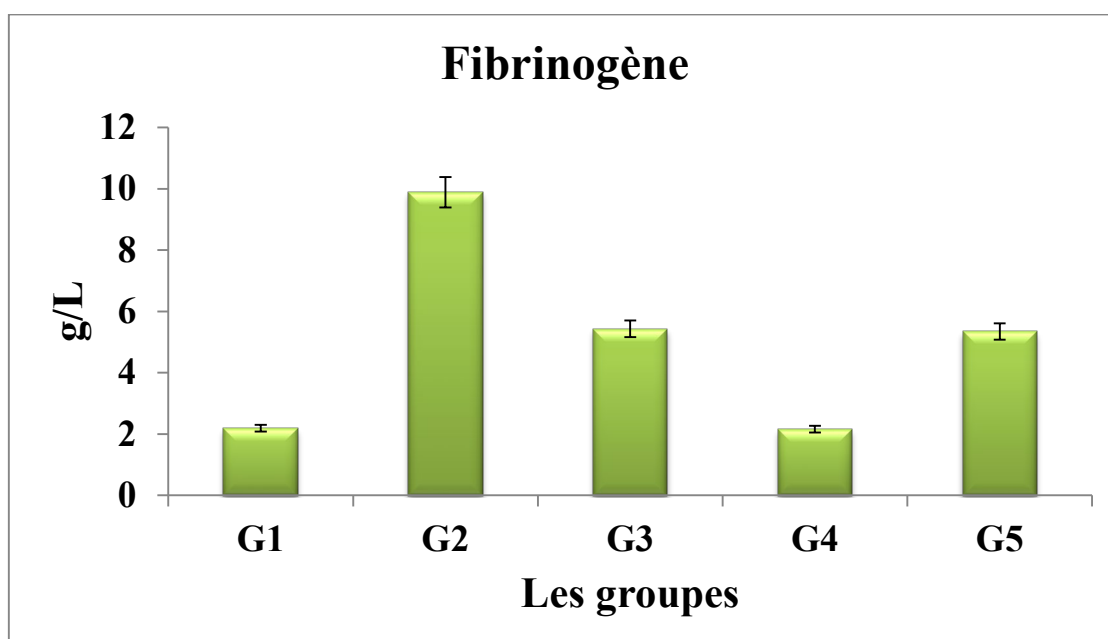


Figure 14 : Fibrinogène (g/dL) chez les rats traités ou non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC), et/ou l'acide gallique, et/ou exposés à 200 µl de carragénine (2%). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations ± écartype (n = 5).

G1 : témoin négatif ; G2 : témoin positif ; exposé à 200 µl de carragénine (1jour) ; G3 : traités par 100 mg/kg/ d'EEC (7jours) puis 200 µl de carragénine (1jour) ; G4 : traités par 200 mg/kg/ d'EEC (7jours) puis 200 µl de carragénine (1jour) ; G5 : traités par 50mg/kg d'acide gallique (7jours) puis 200 µl de carragénine (1jour).

Le fibrogène est une protéine soluble synthétisée par le foie. C'est un marqueur de l'inflammation (Louisot, 1983).

L'augmentation du taux de fibrinogène chez G2 (Témoin positif exposé à 200µl de carragénine) est due à l'exposition des rats à une inflammation par la carragénine. Tandis que, l'extrait d'*Elettaria cardamomum* réduit l'inflammation.

En revanche nos résultats sont en accord Mansourabadi et al., (2015) ; qui ont montré que *Salvia officinalis* réduit l'inflammation chez les souris subi une inflammation par la carragénine.

IV.2.1.4. Dosage de glycémie

La glycémie et l'inflammation sont deux aspects de notre santé qui dans certaines situations peuvent entraîner plusieurs maladies, il y a un lien fort qui existe entre les désordres glycémiques et l'inflammation qui déséquilibre les processus normaux qui peuvent entraîner de nombreux maladies.

A la lumière de nos résultats (figure 15), on observe que le G2 (témoin positif exposé a 200 µl de carragénine) a montré une haute augmentation de taux de glycémie, tandis que les rats de G3 et G4 traité respectivement par 100 et 200mg/kg d'EEC exposé a 200 µl de carragénine ont montré une diminution de (1,2 g/ L et -3,2 g/L) de taux de glycémie par rapport au G2 .En outre les rats de G5 (qui ont été traité par 50mg/kg d'acide gallique et 200 µl de carragénine) ont montré une légère diminution de (1,4 g/L) de taux de glycémie par rapport au G2 .

On constate aussi une diminution chez les rats de G1 (témoin négatif) de (3g/L) de taux de glycémie par rapport au G2.

Nos résultats démontrent qu'*Elettaria cardamomum* exerce un effet hypoglycémiant.

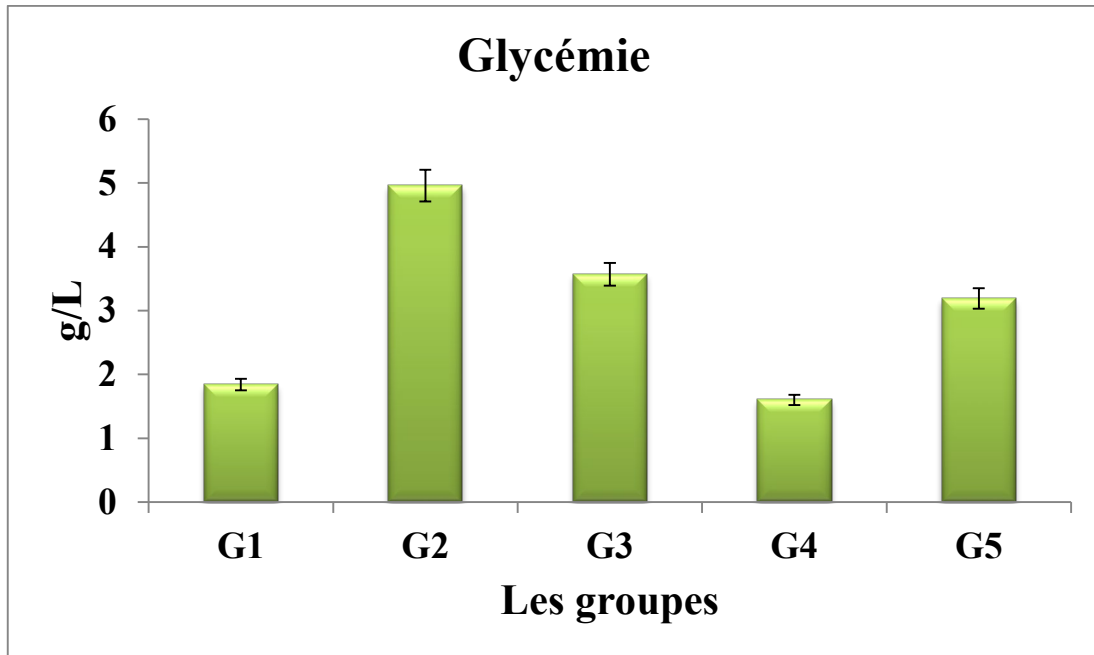


Figure 15 : Glycémie (g/dL) chez les rats traités ou non par l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC), et/ou l'acide gallique, et/ou exposés à 200 µl de carragénine (2%). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations ± écartype (n = 5).

G1 : témoin négatif ; G2 : témoin positif ; exposé à 200 µl de carragénine (1jour) ; G3 : traités par 100 mg/kg/ d'EEC (7jours) puis 200 µl de carragénine (1jour) ; G4 : traités par 200 mg/kg/ d'EEC (7jours) puis 200 µl de carragénine (1jour) ; G5 : traités par 50mg/kg d'acide gallique (7jours) puis 200 µl de carragénine (1jour).

IV.2.2. L'inflammation, *Elettaria cardamomum* et histopathologie tissulaire

▪ Histopathologie du foie

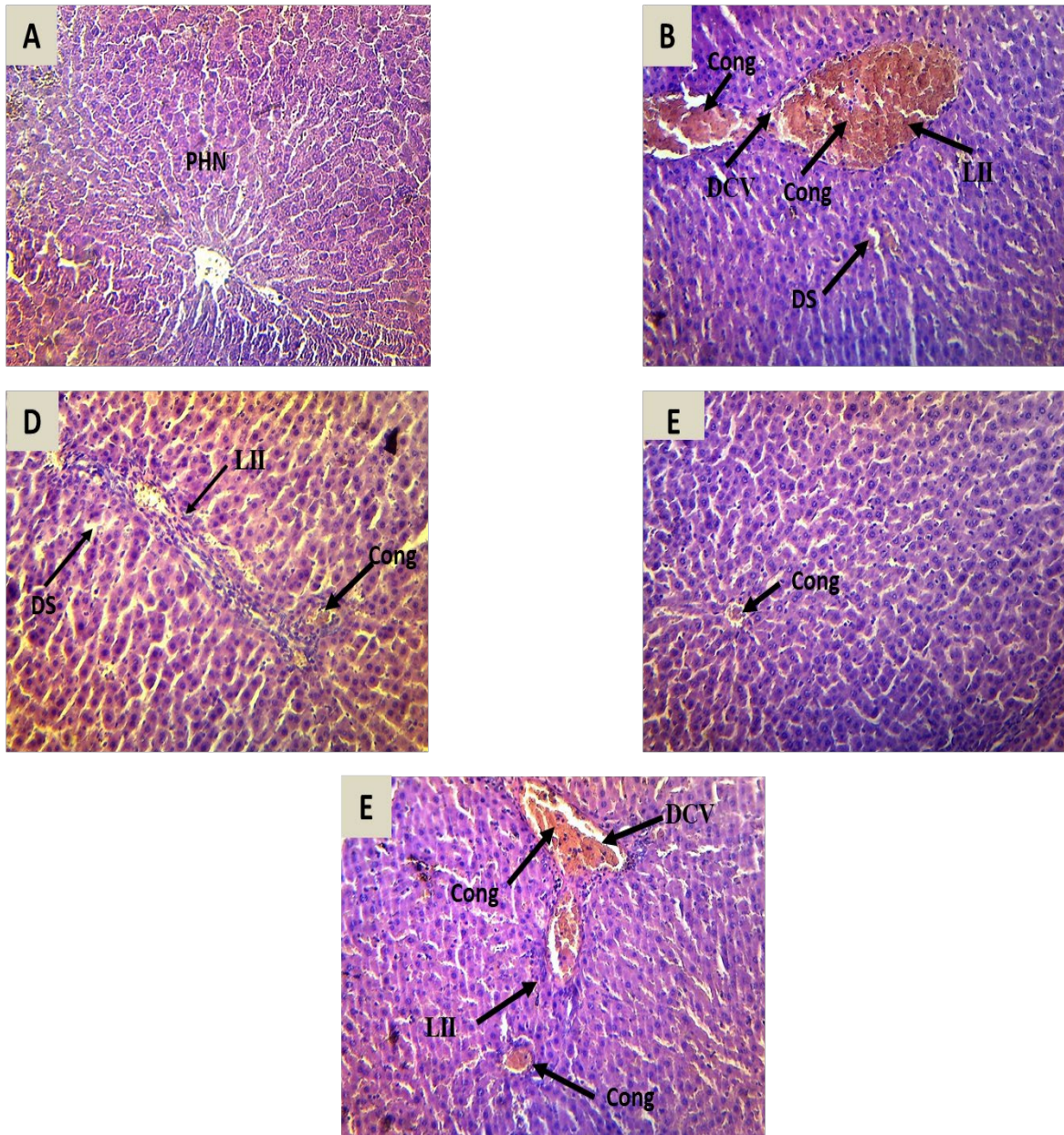


Figure 16 : Histopathologie des tissus hépatiques chez les rats témoins et expérimentaux, **A :** témoin ;**B :** 200µl de carragénine ; **C :** 100 mg/Kg/j d'EEC et 200µl de carragénine ; **D :** 200 mg/Kg/j d'EEC et 200µl de carragénine ; **E :** 50 mg/Kg/j d' et 200µl de carragénine.

Cong : congestion ; **DS :** dilatation des sinusoides ; **LII :** infiltrats inflammatoire lymphocytaire ; **PHN :** parenchyme hépatique normale ; **DVC :** dilatation centro lobulaire.

L'atteinte hépatique a été évaluée par une approche histopathologique dans les micrographes 1-5 (figure 16).

Le groupe témoin (G1) a montré une structure histologique normale du parenchyme hépatique, hépatocytes et veines centro lobulaire ([micrographie A](#)).

Les études histopathologiques ont montré des dommages majeurs dans le foie des rats du groupe 2 (G2) injecté par 200µl de carragénine par i.p par rapport au groupe témoin ([micrographie B](#)).

La biopsie du foie a montré une dégénérescence hépatique, dilatation des sinusoides avec infiltrat inflammatoire lymphocytaire associé à une congestion des veines centrolobulaire. L'administration de 100mg/kg de cardamome chez les rats du groupe 3 (G3) a montré une nécrose très prononcée localisée autour de la congestion de la veine centro-lobulaire ([micrographie C](#)).

L'administration de 200 mg/kg de cardamome chez le groupe 4 (G4) a montré sur la biopsie hépatique une architecture similaire à celle observé chez le groupe témoin, à l'exception d'une légère congestion ([micrographie D](#)).

Le groupe traité par 50 mg/kg d'acide gallique (G5) a montré sur une biopsie hépatique un parenchyme endommagé où les hépatocytes sont dégénérées, une dilatation des sinusoides, congestion des veines centro-lobulaire cerné par un infiltrat inflammatoire lymphocytaire ([micrographie E](#)).

D'après l'étude histopathologie et les résultats obtenues dans la biopsie des rats de lots 3 et 4 par rapport aux rats de lot 2 on déduit que la plante *Elettaria cardamomum* a un effet protecteur et anti-inflammatoire contre l'inflammation induite par la carragénine chez les rats wistar.

Conclusion

La médecine traditionnelle est largement répandue et tient une place majeure dans le traitement de différentes maladies chroniques et aiguës comme l'inflammation. Ce travail a été orienté pour évaluer l'influence de la phytothérapie à base d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* avec une dose de 100 et 200 mg/kg contre l'inflammation.

Dans le présent travail, deux activités biologiques ont été étudiées ; l'activité antioxydante *in-vitro* et l'activité anti-inflammatoire *in-vivo* d'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* (EEC). Le choix de cette plante médicinale est basé sur ces propriétés thérapeutiques et ethno-pharmacologiques (fièvre, névralgie, ulcère, cancer, migraine et inflammation), son utilisation variée dans le monde entre culinaire et phytothérapie traditionnelle. À partir des résultats obtenus, nous pouvons résumer les conclusions issues de cette étude comme suit :

L'extraction d'extrait d'*Elettaria cardamomum* (EEC) a été réalisée à partir des fruits de la plante par macération à froid avec l'éthanol. L'activité anti-oxydante *in-vitro* d'*E. cardamomum* a été évaluée par trois méthodes :

1. La première par dosage de polyphénols ; qui a révélé que *Elettaria cardamomum* renferme une forte teneur en polyphénols de $343,90 \pm 32,26$ mg EAG/g d'extrait ;
2. La seconde par dosage de flavonoïdes ; dévoilant que *E. cardamomum* pourvoit une proportion en flavonoïdes de $305,65 \pm 64,27$ mg EQ/g d'extrait ;
3. La dernière par la méthode de réduction du radical libre DPPH ; en démontrant que le pourcentage d'inhibition d'extrait éthanolique d'EEC est supérieur à 90% à une concentration de l'ordre de 200 µg/mL avec une IC_{50} égale de 11,2 µg/mL d'extrait éthanolique d'*E. cardamomum*.

En outre, l'activité anti-inflammatoire *in-vivo* d'*E. cardamomum* a été déterminée en apercevant une augmentation du taux de protéines totales et de l'albumine chez les rats du groupe 4 et 5 (traités par 100 et 200 mg/kg/ d'EEC après avoir été injectés par 200 µl de carragénine) avec une teneur de (6,4g/L et 8g/L) et (2,1 g/dl et 4,5g/dl) respectivement. En revanche, une réduction du taux de fibrinogène et de la glycémie a été dévoilée chez les rats du groupe 4 et 5 comparativement aux rats du groupe 2 (injectés par 200 µl de carragénine (1jour)).

Il ressort également que via l'administration de 100 mg/kg d'extrait d'EEC chez les rats du groupe 3 a montré une nécrose prononcée localisée autour de la congestion de la veine centro-lobulaire.

En revanche, une structure histologique normale du parenchyme hépatique, hépatocytes et veines centro-lobulaire, à l'exception d'une légère congestion chez les rats du groupe 4 qui ont subit 200 mg/kg d'extrait d'EEC.

En effet, en fonction de cette substance d'origine naturelle sur l'inflammation des rats induite par la carragénine ; permettant de conclure qu'elle a également des propriétés anti-inflammatoires. Ces propriétés anti-inflammatoires d'*E. cardamomum* sont liées à la présence de composés phénoliques (polyphénols et flavonoïdes).

L'ensemble de ces résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, des études *in-vitro* et *in-vivo* seront souhaitables, afin d'obtenir une vue plus approfondie sur d'autres activités biologiques d'extrait de cette plante.

Table de matières

Remerciement

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumé

Abstract

Introduction

Chapitre I : *Elettaria cardamomum* et ses

innovations thérapeutiques.

I.1. Historique	03
I.2. Définition de la cardamome	03
I.3. Culture de la cardamome	04
I.3.1. Climat	04
I.3.2. Sur le sol	04
I.3.3. Multiplication	04
I.3.4. Plantation	04
I.3.5. Les maladies courantes	05
I.3.6. Après les soins	05
I.4. Description botanique	05
I.5. Classification	06
I.6. Composition chimique	07
I.7. Utilisation traditionnelle	08
I.7.1. Phytothérapie	08
I.7.2. Culinaire	08
I.8. Propriétés thérapeutiques de la cardamome	08

I.8.1. Activité anti-oxydante	08
I.8.2. Activité anti-inflammatoire	09
I.8.3. Activité immuno-modulatrice	09
I.8.4. Activité anticancéreuse	09
I.8.5. Activité antibactérienne	10
I.8.6. Activité hypo-lipidémique	10
I.8.7. Activité antiulcéreuse	10
I.8.8. Activité cardio-adaptogène	11

Chapitre II : L'inflammation et la production des radicaux libres.

II.1. L'inflammation	12
II.2. Les phases de l'inflammation	12
II.3. La production de radicaux libres ou agents du stress oxydant	14
II.4. Le stress oxydant	15
II.5. Les antioxydants et le système de défense	16
II.5.1. Le système antioxydant endogène enzymatique	17
II.5.1.1. La catalase	17
II.5.1.2. La glutathion peroxydase (GPX)	17
II.5.2. Le système antioxydant endogène non enzymatique	17
II.5.2.1. La glutathion	17
II.5.2.2. L'acide urique	18
II.5.3. Le système antioxydant exogène	18
II.5.3.1. L'acide ascorbique (Vitamine C)	18
II.5.3.2. L' α -tocophérol (vitamine E)	18
II.5.3.3. Les caroténoïdes	18

II.5.4. Les antioxydants de synthèse	19
II.6. Les méthodes d'évaluation de l'activité anti-oxydante	19
II.7. Les composés phénoliques	20
II.7.1. Les polyphénols	20
II.7.2. Diversité	20
II.8. Effets des composés phénoliques	22
II.8.1. Effet antioxydant	22
II.8.2. Effet anticancéreux	22
II.8.3. Effet anti-inflammatoire	22
II.9. Autres types d'anti-inflammatoire	23
II.9.1. Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS)	23
II.9.2. Les anti-inflammatoire stéroïdiens (AIS)	24

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Objectif	25
III.2. Matériel végétal	25
III.3. Extraction	26
III.4. Activité anti-oxydante in-vitro d'Elettaria cardamomum	26
III.4.1. Dosage des polyphénols totaux	26
III.4.2. Dosage des flavonoïdes	27
III.4.3. Mesure de pouvoir antioxydant par le test de DPPH*	27
III.5. Activité anti-inflammatoire in-vivo d'Elettaria cardamomum	28
III.5.1. Animaux et conditions de l'expérimentation	28
III.5.2. Analyse des paramètres sériques	29
III.5.2.1. Dosage de protéines totales	29
III.5.2.2. Dosage de l'albumine	30

III.5.2.3.Dosage de fibrinogène	30
III.5.2.4.Dosage de glycémie	30
III.5.3. Réalisation des coupes histologiques	30
III.5.3.1.Préparation des échantillons	30
III.5.3.2.La microtomie	32

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. L'activité anti-oxydante d' <i>Elettaria cardamomum</i> in –vitro	33
IV.1.1.Teneur en composés phénoliques d' <i>Elettaria cardamomum</i>	33
IV.1.2.Pouvoir antioxydant d' <i>Elettaria cardamomum</i>	34
IV.2.L'activité anti-inflammatoire d' <i>Elettaria cardamomum</i>	36
IV.2.1.Les paramètres sériques	36
IV.2..1.1.Protéines totales	36
IV.2.1.2.Dosage d'albumine	38
IV.2.1.3.Dosage de fibrinogène	39
IV.2.1.4.Dosage de glycémie	40
IV.2.2.L'inflammation, <i>Elettaria cardamomum</i> et histopathologie tissulaire	42

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Annexes

Tableau 3 : Composition du formol dilué (g/l)

Formol pure	10 ml
Eau distillée	90 ml
Carbonate de sodium (Na₂CO₂)	1g

Références bibliographiques

- **Gao, M., & Liu, C. Z. (2005).** Comparison of techniques for the extraction of flavonoids from cultured cells of *Saussurea medusa* Maxim. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 1461-1463.
- **A.F. Majdalawieh, R.I (2010).** Carr, In vitro investigation of the potential immunomodulatory and anti-cancer activities of black pepper (*Piper nigrum*) and cardamom (*Elettaria cardamomum*), *J. Med. Food* 13 . 371–381.
- **A.H. Gilani, Q. Jabeen, A.U. Khan, A.J. Shah,, (2008) .**Gut modulatory blood pressure lowering, diuretic and sedative activities of cardamom, *J. Ethnopharmacol.* 115 463–472.
- **Abdelkader, S.M., Bauomi, A.A., Abdel-Rahman, M., Mohammaden, T., Rezk, M.M., (2015).** Antioxidant potentials of (*Elletaria cardamomum*) cardamom against Uranium hazarda. *International Journal of Basic and Life Sciences* 3, 64–181.
- **Aggarwal, B. B., & Kunnumakkara, A. B. (2009).** Molecular targets and therapeutic uses of spices: modern uses for ancient medicine. *World Scientific* .
- **Amma KPAP, M.P. Rani, I. Sasidharan, V.N.P. Nisha, (2010)** .Chemical composition, flavonoid - phenolic contents and radical scavenging activity of four major varieties of cardamom, *Int. J. Biol. Med Res* 1 20–24.
- **Aneja KR, Joshi R (2009).** Antimicrobial activity of *Amomum subulatum* and *Elettaria cardamomum* against dental carries causing microorganisms. *Ethnobot. Leaflets*, 13: 840-849.
- **Arunachalam, P. and Wimpelupessey.(2005) .** Can Indian Cardamom Regain Its Enviably Status?” *Facts for You*, 25, (4), January, pp. 21-25.

- **Arvy, M. P., & Gallouin, F. (2015).** Épices, aromates et condiments. Editions Belin
- **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46, 1086-1089
- **Belaïch, R., & Boujraf, S. (2016).** Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10, 38-42.
- **Belaïch, R., Boujraf, S., Housni, A., Maaroufi, M., Batta, F., Magoul, R., Tizniti, S. (2015).** Assessment of hemodialysis impact by polysulfone membrane on brain plasticity using BOLD-fMRI. *Neuroscience*, 288, 94-104.
- **Belier S. & Michaux J.M. (2007).** Biologie clinique .Cours ENVA.
- **Bertile .B , coll .A, (2001).** Les plantes tropicales a épices Anthropologie du développement au sahel ;oxford .
- **Bhattacharjee S, Rana T & Sengupta A (2007).** Inhibition of lipid peroxidation and enhancement of GST activity by cardamom and cinnamon during chemically induced colon carcinogenesis in Swiss albino mice. *Asian Pac J Cancer Prev* 8, 578–582.
- **Bhatti, H. N., Zafar, F., Jamal, M. A. (2010).** Evaluation of phenolic contents and antioxidant potential of methanolic extracts of green cardamom (*Elettaria cardamomum*). *Asian Journal of Chemistry*, 22, 4787.
- **Biju Mathew. (2013).** Info Kerala Communications. Pvt Ltd, 84 pages
- **Bisht, V. K., Negi, J. S., Bh, A. K., Sundriyal, R. C. (2011).** Amomum subulatum Roxb: Traditional, phytochemical and biological activities-An overview. *African Journal of Agricultural Research*, 6, 5386-5390.

- **Botineau, M. (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Tec & doc.
- **Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013).** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.
- **Causse, M., & Renard, C. (2008).** 2. Les sources de variabilité des qualités nutritionnelles des fruits et légumes. Combris P. et al. Les fruits et légumes dans l'alimentation, enjeux et déterminants de la consommation. Paris: Ed Quae, 43-60.
- **Cronquist, A. (1981).** An Integrated System of Classification of Flowering Plants, Colombia. Univercity Press. New York: 1753.
- **Das I & Saha T (2009).** Effect of garlic on lipid peroxidation and antioxidation enzymes in DMBA-induced skin carcinoma. *Nutrition* 25, 459–471.
- **Das, I., Acharya, A., Berry, D. L., Sen, S., Williams, E., Permaul, E., Saha, T. (2012).** Antioxidative effects of the spice cardamom against non-melanoma skin cancer by modulating nuclear factor erythroid-2-related factor 2 and NF- κ B signalling pathways. *British Journal of Nutrition*, 108, 984-997.
- **Degraft-Johnson, J., Kolodziejczyk, K., Krol, M., Nowak, P., Krol, B., Nowak, D. (2007).** Ferricreducing ability power of selected plant polyphenols and their metabolites : Implication for clinical studies on the antioxidant effects of fruits and vegetable consumption. *Basic & Clinical pharmacology & Toxicology*, 100, 345-352.
- **Delattre, J., Beaudoux, J. L., Bonnefont-Rousselot, D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques). Tec & doc .

- **Dhuley JN (1999).** Anti-oxidant effects of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark and greater cardamom (*Amomum subulatum*) seeds in rats fed high fat diet. *Indian J. Exp. Biol.*, 37(3): 238-242.
- **Dietz O&Wiesner E.(1984).**Haematology and biochemistry of normal mice and the significance of pathologic variation.In :Diseases of the mice .Part1.S.Karger Basel.P28-31.
- **Djeridane, A., Hamdi, A., Bensania, W., Cheifa, K., Lakhdari, I., Yousfi, M. (2015).** The in vitro evaluation of antioxidative activity, α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory of natural phenolic extracts. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 9, 324-331 .
- **Dugas, A.J., Castaneda-Acosta, J., Bonin, G.C. (2000).** Evaluation of the total peroxy radical scavenging capacity of flavonoids: structure-activity relationships. *J Nat Prod*, 63, 31-327.
- **Durand, D., Damon, M., Gobert, M. (2013).** Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48, 218-224 .
- **E.K. Savan, F.Z. Kucukbay,** Essential Oil Composition of *Elettaria cardamomum* Maton, *J. Appl Biol. Sci.* 7 42–45.
- **EL Rhaffari L., Zaid A. (2004).** Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes, Edition de l'Institut de Recherche pour le Développement : Paris ; 293-318.
- **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. *Comptes Rendus Biologies*, 331, 372-379.

- **Farah AJ, Siddiqui A, Aslam M, Javed K, Jafri MA (2005).** Antiulcerogenic activity of *Elettaria cardamomum* Maton. And *Amomum subulatum* Roxb. seeds. *Ind. J. Trad. Know.*, 4(3): 298-302.
- **Favier, A. (1997).** Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. In *Annales de biologie clinique*. 55, 9-16
- **Ghedira , K .(2005)** .Les flavonoides : Structure , proprietes biologiques , role prophylactique et employs en thérapeutique .*Phytothérapie* 3(4),p.162-16.
- **Gilly, G. (2005).** Les plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse : botanique, culture, chimie, production et marché. Editions L'Harmattan.
- **Hafidh RR, Abdulmir AS, Bakar FA, Abas F, Jahanshiri F, Sekawi Z. (2009).** Antioxidant research in Asia in the period from 2000-2008. *Am. J. Pharmacol. Toxicol.*, 4(3): 48-66.
- **Herrera, E., & Barbas, C. (2001).** Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *Journal of physiology and biochemistry*, 57, 43-56.
- **Ho, S. C., Tsai, T. H., Tsai, P. J., Lin, C. C. (2008).** Protective capacities of certain spices against peroxynitrite-mediated biomolecular damage. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 920-928.
- **Houessou, S. (2010).** Effets de la réduction de la diversité floristique sur la santé des populations rurales au sud de Bénin, Colloque International de Sifée, Paris., communauté Electrique du Bénin (CEB) Lomé-Togo.
- **Huang YB, Fang JY, Hung CH, et al. (1999).** Cyclic monoterpene extract from cardamom oil as a skin permeation enhancer for indomethacin: in vitro and in vivo studies. *Biol Pharm Bull* 22, 642–646.
- **Hussain J, Khan AL, Rehman N, Zainullah, Khan F, Hussain ST, Shinwari ZK (2009).** Proximate and nutrient investigations of selected medicinal plants species of Pakistan. *Pak. J. Nutr.*, 8(5): 620-624.

- **Hussain T, Arshad M, Khan S, Hamid S, Qureshi MS (2011).** In vitro screening of methanol plant extracts for their antibacterial activity. Pak. J. Bot., 43(1): 531-538.
- **Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P. (Eds.). (2007).** Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse.
- **J.N. Dhuley, (2013).** Anti-oxidant effects of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark and greater cardamom (*Amomum subulatum*) seeds in rats fed high fat diet, Indian J. Exp. Biol. 37 (1999) 238–242.
- **Jain PC, Agaowal SC (1976).** Activity of some plants extracts against some keratinophilic species of *Nannizzia*. Ind. Drugs, 23(12): 25-26.
- **Jessie SW, Krishnakantha TP (2005).** Inhibition of human platelet aggregation and membrane lipid peroxidation by food spice, saffron. Mol. Cell Biochem., 278: 59-63.
- **Johnya, Kallapurakal and Ravindran, P.N.(2002)** . Hints for cardamom Cultivation high production Technology” Plant Hortitech, 13(6), pp. 21-26.
- **K. M. Zeghal et Z. Sahnoun , (2013)** . La réaction inflammatoire et le stress oxydant Springer.
- **Kandikattu, H. K., Rachitha, P., Jayashree, G. V., Krupashree, K., Sukhith, M., Majid, A., Khanum, F. (2017).** Anti-inflammatory and anti-oxidant effects of Cardamom (*Elettaria repens* (Sonn.) Baill) and its phytochemical analysis by 4D GCXGC TOF-MS. Biomedicine & Pharmacotherapy, 91, 191-201 .
- **Kassemi N.(2006)** .Relation entre un insecte phytophage et sa principale plante hôte : cas de la bruche du haricot (*Acanthoscelides obtectus*) , (Coleoptera Bruchidae).thèse de magistère de l’université abou Bakr Belkaid de Tlemcen .

- **Khandelwal, K. (2008).** Practical pharmacognosy. Pragati Books Pvt. Ltd.
- **Kikuzaki H, Kawai Y, Nakatani N (2001).** Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging active compounds from greater cardamom (*Amomum subulatum* Roxb.). *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 47(2): 167-171.
- **Krishna, K.V.S, (2002).** Quality Standards for Cardamom” *Plant Hortitech*, 3(5), Jul-Aug, pp.24-25.
- **Kumar U, Kumar B, Bhandari A, Kumar Y (2010).** Phytochemical investigation and comparison of antimicrobial screening of Clove and Cardamom. *Inter. J. Pharmaceu. Sci. Res.*, 1(12): 138-147.
- **Kumar, N. (2000)** . Introduction to Spices Plantation crops: Medicinal and Aromatic Plants”, New Delhi: Oxford & IBH Publishing Co, P. 101.
- **L. Rubió, M.J. Motilva, M.P. Romero, (2013)** . Recent advances in biologically active compounds in herbs and spices: a review of the most effective antioxidant and anti-inflammatory active principles, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 53. 943– 953.
- **Lee, Y. M., Gweon, O. C., Seo, Y. J., Im, J., Kang, M. J., Kim, M. J., Kim, J. I. (2009).** Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Nutrition research and practice*, 3, 156-161.
- **Letonturier, P. (2002).** "Growing old gracefully." *Pour un vieillissement réussi.* 31,1173.
- **Levrant, J., Iwase, H., Shao, Z. H., Hoek, T. L. V., Schumacker, P. T. (2003).** Cell death during ischemia : relationship to mitochondrial depolarization and ROS generation. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 284, 549-558 .
- **Lin, M.F., Karin, J.W., Crosby, M.A., Matthews, B.B., Yu, C., Park, S., Wan, K.H., Schroeder, A.J., Gramates, L.S., St Pierre, S.E.,**

Roark, M., Wiley, K.L., Kulathinal, R.J., Zhang, P., Myrick, K.V., Antone, J.V., Celniker, S.E., Gelbart, W.M., Kellis, M. (2007). Revisiting the protein-coding gene catalog of *Drosophila melanogaster* using 12 fly genomes. *Genome Res.* 17(12): 1823--1836.

- **Lisu, W., Jui-Hung, Y., Hsiao-Ling, L., Ming-Jiuan, W. (2003).** Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumage and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn), *Journal of food and drug analysis*, 11, 60-66 .
- **Louisot P.(1983)** .Catabolisme des protéines et metabolism des amino-acides .I: *Biochimie générale et médicale* , structural , métabolique sémiologique .Vielleurbane Simep , P702-750.
- **M. Mueller, S. Hobiger, A. Jungbauer, (2010)** . Anti-inflammatory activity of extracts from fruits, herbs and spices, *Food Chem.* 122 . 987–996.
- **Madhusoodanan, K. J., Pradip Kumar, K., Ravindran, P. N. (2003).** Botany, crop improvement and biotechnology of cardamom. *Cardamom–The genus Elettaria*. Taylor & Francis, London, 11-40.
- **Mak, S., Egri, Z., Tanna, G., Colman, R., Newton, G. E. (2002).** Vitamin C prevents hyperoxia-mediated vasoconstriction and impairment of endotheliumdependent vasodilation. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 282, 2414-2421 .
- **Mansourabadi A.M., Sadeghi H.M ., Razavi N .& Rezvani E .(2015).**Anti-inflammatory and analgesic propreties of salvigenin , *Salvia officinalis* Flavonoid extracted .*Adv Herb Med* .1:31-41.
- **Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S. (2004).** Comparative analysis of the oil and supercritical CO2 extract of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 52, 6278-6282.
- **Mata, A.T., Proenc, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira J.M.F., Araujo M.E.M. (2007).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase

activities of five plants used as Portuguese food spices, *Food Chemistry*, 103, 778-786.

- **Nair, K. P. (2006).** The agronomy and economy of cardamom: the —queen of spices‖. *Advances in agronomy*, 91, 179-471 .
- **Nicholls, P. (2012).** Classical catalase: Ancient and modern. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 525, 95–101.
- **Ninfali, P., Mea, G., Giorgini, S., Rocchi, M., Bacchiocca, M. (2005).** Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. *British Journal of Nutrition*, 93, 257-266.
- **Nogueira JC, Diniz Mde F, Lima EO. (2008).** In vitro antimicrobial activity of plants in Acute Otitis Externa. *Braz J Otorhinolaryngol*; 74(1):118-24.
- **Orban, J. C. (2010).** Oxygène, stress oxydant. *Désordres métaboliques et réanimation*. Springer, 427-437 .
- **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44, 307-315.
- **Panda, H. (2003).** *Herbal Foods and its Medicinal Values*. National Institute of Industrial Re.
- **Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Saavedra, G., Murcia, M. A., Codina, C. (2003).** Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sciences*, 73, 1667-1681 .
- **Peltier A-P, (2012).** *Universalis : Inflammation*. http://www.universalis-edu.com/basesdoc.univ_lorraine.fr/encyclopedie/inflammation/ (Page consultée le 23 juin 2012).
- **Pietta P.G.(2000).**Flavonoids as antioxidants .*Journal of Natural Production* .63 ;p1035-1042.

- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O. (2008). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydant. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16, 233- 239.
- **Podsędek, A. (2007).** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables : A review. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 1-11.
- **Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue du Génie Industriel*,4, 26-39.
- **Reuter S, Charlet J, Juncker T et al., (2009).** Effect of curcumin on nuclear factor kappaB signaling pathways in human chronic myelogenous K562 leukemia cells. *Ann NY Acad Sci*; 1171:436-47 .
- **Rodrigo, R. (2009).** Oxidative stress and antioxidants: their role in human disease. Nova Biomedical Books .
- **S. Qiblawi, S. Dhanarasu, M. Faris, (2015) .** Chemopreventive: effect of cardamom (*Elettaria cardamomum*) against benzo (a) pyrene-induced forestomach papillomagenesis in Swiss albino mice, *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 34 . 95–104.
- **S. Sharma, J. Sharma, G. Kaur, (2011) .** Therapeutic uses of *Elettaria cardomum*, *Int. J. Drug Form. Res* 2 102–108.
- **Sánchez-Moreno, C. (2002).** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Revista de Agaroquímica y Tecnología de Alimentos*, 8, 121-137.
- **Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., Saura-Calixto, F. (1998).** A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76, 270-276.

- **Scalbert A, Manach C, Morand C, Rémésy C, Jiménez L, (2002).** Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr* (in press) .
- **Schorderet Michel, Dayer J-M. et al. 1998.** Physiopathologie de la fièvre, de la douleur et de l'inflammation ; Analgésiques, antipyrétiques, anti-inflammatoires et immunosuppresseurs (In *Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques*). Slatkine, Paris-Génève, p. 569-606.
- **Sen S, Chakraborty R, De B, Mazumder J (2009).** Plants and phytochemicals for peptic ulcer: an overview. *Pharmacognosy Rev.*, 3(6): 270-279.
- **Sengupta, A., Ghosh, S., Bhattacharjee, S. (2005).** Dietary cardamom inhibits the formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in mice and reduces COX-2 and iNOS expression in the colon. *Asian Pac J Cancer Prev*, 6, 118-122.
- **Sengupta, S. Ghosh, S. Bhattacharjee, (2005) .** Dietary cardamom inhibits the formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in mice and reduces COX-2 and iNOS expression in the colon, *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 6 . 118–122.
- **Sereshti, H., Rohanifar, A., Bakhtiari, S., & Samadi, S. (2012).** Bifunctional ultrasound assisted extraction and determination of *Elettaria cardamomum* Maton essential oil. *Journal of Chromatography A*, 1238, 46-53.
- **Sharafati-Chaleshtor, F., & Sharafati-Chaleshtori, R. (2017).** In vitro antibacterial and antioxidant properties of *Elettaria cardamomum* Maton extract and its effects, incorporated with chitosan, on storage time of lamb meat. *Veterinarski arhiv*, 87, 301- 315.

- **Souri, E., Amin, G., Farsam, H. (2008).** Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16, 83-87.
- **Spiridon, I., Bodirlau, R., Teaca, C.A. (2011).** Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Cent.Eur J Biol*, 6, 388-396.
- **Sultana, S., Ripa, F. A., Hamid, K. (2010).** Comparative antioxidant activity study of some commonly used spices in Bangladesh. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13, 340.
- **Thanan, R., Oikawa, S., Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., Murata, M. (2014).** Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *International journal of molecular sciences*, 16, 193-217.
- **Thérond, P., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005).** Systèmes antioxydants endogènes. Radicaux libres et stress oxydant. Lavoisier, Paris, 87-111 .
- **Vaidya, A., & Rathod, M. (2014).** An in vitro study of the immunomodulatory effects of Piper nigrum (black pepper) and Elettaria cardamomum (cardamom) extracts using a murine macrophage cell line. *AIJRFANS*, 8, 18-27.
- **Verma SK, Rajeevan V, Bordia A, Jain V (2010).** Greater cardamom (*Amomum subulatum* Roxb.) – A cardio-adaptogen against physical stress. *J. Herb. Med. Toxicol.*, 4(2): 55-58.
- **Vishwakarma, S., Chandan, K., Jeba, R. C., Khushbu, S. (2014).** Comparative study of qualitative phytochemical screening and antioxidant activity of *Mentha arvensis*, *Elettaria cardamomum* and *Allium porrum*. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 4, 2538-56.
- **W.J. Suneetha, T.P. Krishnakantha, (2005) .** Cardamom extract as inhibitor of human platelet aggregation, *Phytother. Res.* 19 437–440.

- **Yadav AS, Bhatnagar D (2007).** Modulatory effect of spice extracts on iron-induced lipid peroxidation in rat liver. *Biofactors*, 29(2-3): 147- 157.
- **Yoshimoto, M., Sakamoto, H., Yoshimoto, N., Kuboi, R., Nakao, K. (2007).** Stabilization of quaternary structure and activity of bovine liver: Catalase through encapsulation in liposomes. *Enzyme and Microbial Technology*. 41, 849–858.
- **Zhang, H., & Forman, H. J. (2012).** Glutathione synthesis and its role in redox signaling. In *Seminars in cell & developmental biology*. 23, 722-728.

Résumé

Dans cette présente étude, les activités antioxydante et anti-inflammatoire avaient pour le but d'évaluer et étudier l'effet protecteur d'*Elettaria cardamomum*.

Le dosage de composés phénoliques (polyphénols et flavonoïdes) a été estimé d'une teneur très efficiente de $343,90 \pm 32,26$ mg EAG/g d'extrait et $305,65 \pm 64,27$ mg EQ/g d'extrait respectivement. De plus, pour l'activité anti-radicalaire a été évaluée de plus de 90 % à une concentration de l'ordre de 100 µg/mL d'extrait d'EEC comparativement à la concentration de 10 µg/mL d'extrait d'EEC dont ; l'inhibition radicalaire était environ de 50 %. En outre, l'Extrait éthanolique d'*E. cardamomum* (EEC) présente une IC₅₀ de 11,2 µg/mL.

Par ailleurs, les résultats de l'inflammation engendrée par l'injection intra-péritoniale de la carragénine chez les rats Wistar ont révélé qu'à travers l'administration de 200 mg/kg/ d'EEC, une proportion de 8g/l de protéines totales et 4,5g/dL d'albumine ont été estimées chez les rats. D'autre part, 2,5g/l et 1,5g/dL de protéines totales et d'albumine respectivement chez les rats du groupe témoin. De plus, une teneur significative en fibrinogène et en glycémie chez les rats du témoin ; exposés à 200 µl de carragénine.

En outre, l'étude histopathologique dévoile que le foie des rats qui ont été traités par 200 mg/kg/ d'EEC après avoir été injectés par 200 µl de carragénine, présente une structure histologique normale du parenchyme hépatique, hépatocytes et veines centro-lobulaire, à l'exception d'une légère congestion. On conclut que l'extrait éthanolique d'EEC renfermant des composés phénoliques possède des propriétés antioxydantes et des activités anti-inflammatoires.

Mot clés : *Elettaria cardamomum*, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, carragénine, l'étude histopathologique, rats wistar.

Abstract

In this present study, the antioxidant and anti-inflammatory activities were aimed at evaluating and studying the protective effect of *Elettaria cardamomum*.

The determination of phenolic compounds (polyphenols and flavonoids) was estimated at a very efficient level of 343.90 ± 32.26 mg EAG / g extract and 305.65 ± 64.27 mg EQ / g extract respectively. In addition, for the anti-radical activity was evaluated more than 90% at a concentration of the order of 100 µg / mL of EEC extract compared to the concentration of 10 µg / ml of extract of EEC of which; the radical inhibition was approximately 50%. In addition, the ethanolic extract of *E. Cardamomum* (EEC) has an IC₅₀ of 11.2 µg / mL.

Moreover, the results of the inflammation caused by the intraperitoneal injection of carrageenin in Wistar rats revealed that, through the administration of 200 mg / kg / EEC, a proportion of 8 g / l of total protein and 4.5g / dL of albumin were estimated in rats. On the other hand, 2.5 g / l and 1.5 g / dL of total protein and albumin respectively in the control group rats. In addition, a significant content of fibrinogen and glycemia in the control rats; exposed to 200 µl of carrageenan.

In addition, the histopathological study reveals that the liver of rats treated with 200 mg / kg / EEC after being injected with 200 µl of carrageenan has a normal histological structure of the hepatic parenchyma, hepatocytes and central veins lobular except for slight congestion. It can be concluded that the ethanolic EEC extract containing phenolic compounds has antioxidant and anti-inflammatory properties.

Mot clés: *Elettaria cardamomum*, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, carragénine, étude histopathologique, rats wistar.