

ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE ET ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTICOAGULANTE DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES DU *Curcuma longa* L.

BOUKERIA Sabah^{1 et 2*}, BENBOTT Amel^{3 et 2}, KADI Kanza⁴, DEBBACHE KHAWLA¹ et GUENICHE Abir¹

1- Département SNV, Université Abdelhafid Boussouf, Mila, Algérie.

2- Laboratoire des sciences naturelles et des matériaux, Département SNV, université Abed Elhafid Boussouf, Mila, Algérie.

3- Département des sciences biologiques, faculté des sciences, Université Larbi Ben M'hidi, CEO, Algérie.

4- Laboratoire Biotechnologie, Eau, Environnement et Santé, université Abbes Laghrou, Khenchela, Algérie.

Résumé : Le but de ce travail est de réaliser une étude phytochimique, ainsi que d'évaluer l'activité anticoagulante des extraits des parties souterraines du *Curcuma longa* utilisé en médecine traditionnelle. Le broyat a été soumis à une extraction et fractionnement pour avoir 3 extraits : méthanolique, éthanolique et aqueux. L'étude phytochimique effectuée, nous a permis de mettre en évidence la richesse de notre plante en lipides, protéines, flavonoïdes, anthraquinone libre et le sucre réducteur. Elle est dépourvue des terpénoïdes, coumarines, stérols et alcaloïdes.

L'estimation quantitative par la méthode colorimétrique des polyphénols totaux auxquels a été attribuée les diverses activités biologiques et a montré que nos extraits (méthanolique et aqueux) sont riches en ces composés, mais en quantités différentes (0,592 et 0,073 mgEAG/g) respectivement. L'évaluation de la capacité anticoagulante des extraits méthanolique et aqueux de *Curcuma longa* a été établie par les deux tests chronométriques d'exploration de la coagulation ; le TCK et le TQ démontre que ces extraits exercent une activité anticoagulante vis-à-vis les deux voies de la coagulation ; ce qui confirme que le *Curcuma* empêche l'agrégation plaquettaire et la formation des caillots, ce qui aide et stimule la circulation sanguine.

Mots clés: *Curcuma longa*, Étude phytochimique, polyphénols et activité anticoagulante.

PHYTOCHEMICAL STUDY AND EVALUATION OF THE ANTICOAGULANT ACTIVITY OF THE PHENOLIC COMPOUNDS OF *CURCUMA LONGA* L.

Abstract: The aim of this study was to evaluate the anticoagulant activity of *Curcuma longa* shoots extracts, used in folk medicine. The ground material was subjected to extraction and fractionation to have 3 extracts: methanolic, ethanolic and aqueous.

The phytochemical screening tests carried out on the two species studied gave a general idea of the secondary metabolism they contain, and revealed a variation between these two species. The quantitative colorimetric estimation of the total polyphenols attributed to the various biological activities; has shown that the extracts (methanol and aqueous) are rich in these compounds, but in different amounts (0,592 and 0,073 mgEAG / g) respectively. The anticoagulant activity; was also evaluated in vitro by using two tests: the test of the cephalin-kaolin time and the test of Quick time. The times of coagulation obtained on normal plasma in the presence of these polyphenols indicate that they carry an anticoagulant activity on the two pathways of coagulation but this activity is highly marked on the endogenous pathway than on the exogenous pathway.

Key words: *Curcuma longa*, Phytochemical screening, polyphenols and anticoagulant activity

Introduction

Au cours des dernières années, plusieurs raisons ont mené au rétablissement de l'usage des plantes médicinales. Elles sont

d'abord d'un coût inférieur aux médicaments de synthèse, puis elles arrivent à un moment où le public est désillusionné devant la médecine moderne.

Laquelle en effet n'a pu trouver remède à tous les maux, en plus de se buter à une résistance accrue des pathogènes et à une panoplie d'effets secondaires liés à l'usage des médicaments traditionnels [1].

Les plantes sont capables de produire une grande diversité de produits ne participant pas à leur métabolisme de base, mais représentant plutôt des produits du métabolisme secondaire parmi lesquels on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques. Avec leur diversité structurale remarquable, ces derniers, également appelés polyphénols, représentent l'un des groupes les plus importants du fait qu'ils aient une faible toxicité et de nombreux avantages biologiques, notamment thérapeutiques, pharmaceutiques, cosmétologiques et alimentaires.

L'espèce *Curcumalongaa* fait l'objet de préparations thérapeutiques en vertu de ces propriétés antioxydantes, anticoagulantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires et antidiabétiques rapportées à travers les siècles dans différentes parties du monde.

L'objectif global de notre travail est de réaliser une étude phytochimique des extraits de *Curcumlonga* ainsi que d'évaluer *in vitro* leur activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène et de la voie endogène de la coagulation par deux tests généraux (Temps de Quick (TQ) et temps de céphaline kaolin (TCK) respectivement)

1. Matériel et Méthodes

1.1. Matériel végétal

La plante *Curcuma longa* qui fait l'objet de notre étude phytochimique et biologique ; a été identifiée et achetée sous forme de Rhizome d'un herboriste de

AinOulmanewilaya de Setif en Décembre 2018.

1.2. Méthodes

1.2.1. Préparation de matériel végétal

Les rhizomes du *Curcuma longa* ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre; cette dernière est récupérée après tamisage et conservée dans des flacons en verre fermés hermétiquement et stockés à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

1.2.2. Préparation et extraction des polyphénols

- **Préparation de l'extrait aqueux**

Une quantité de 10g de broya de (*C.longa*) a été macéré dans 100ml d'eau distillé sous agitation mécanique pendant une nuit à une température ambiante. La solution obtenue est filtré à l'aide d'un papier filtre de type Whatman. Le filtrat est ensuite évaporé dans une étuve à une température de 40 °□ pour éliminer l'eau [2].

- **Préparation de l'extrait méthanolique**

Une quantité de 10g de matériel végétal broyé est macérée dans une solution de méthanol/eau (70 : 30, V/V) sous agitation mécanique à une température ambiante pendant 2 à 3 jours, le macérât a été ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre de type Whatman.

Le filtrat obtenu est soumis à une évaporation par rotavapeur. Enfin, le produit final est stocké dans une boîte de Pétri en verre fermée hermétiquement à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation [2].

1.2.3. Analyse qualitative

Les tests de l'analyse nous permettent de détecter la présence ou l'absence des

groupes chimiques ; existants dans une partie quelconque de la plante par des réactions de précipitation ou de coloration ; en utilisant des réactifs spécifiques à chaque famille de composés (Tableau 1). Les différents groupes chimiques ont été caractérisés selon les méthodes décrites par (Trease et Evans, 1987) [3] ;(Memelink

etal., 2001) [4] ;(Kalla, 2012) [5] ;(MibindzouMouellet, 2004) [6];(Douhouet al., 2003) [7] ; (Harborne, 1998) [8] ;(Diallo, 2000) [9] et (Afaq et Malik, 2005) [10].

Tableau 1 : Groupes chimiques, réactifs d'identification et indicateurs utilisés

Groupe chimique	Réactifs d'identification	Indicateur
Sapanosides	- Indice mousse > 1cm	- Apparition d'une mousse persistante
Flavonoïdes	- HCl - Copeaux de magnésium	- Une coloration rose ou rouge ou jaune
Alcaloïdes	- Réactif de wagner - Acide chlorhydrique HCL (10%) - Hydroxyde d'ammonium - Etherdi-éthylique, HCL2%	- Précipité brun
Tanins	- FeCL3 (2%)	- Coloration verdâtre ou bleu noirâtre
Anthocyanes	- NH4OH - H2SO4	- coloration rouge en milieu acide, et bleu violacée en milieu basique.
Anthraquinones libres	- NH4OH (20%)	- une coloration plus ou moins rouge
Quinones	- HCl - Chloroforme - Ammoniaque	- Coloration rouge
Stéroïdes	- Anhydride acétique - H2SO4	- Une coloration violette qui vire au bleu puis au vert
Terpinoïdes	- Chloroforme - H2SO4	- Formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase
Stérols	- H2SO4 - Chloroforme - Anhydride acétique	- Formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant.
Coumarines	- KOH (10%) - HCl (10%)	- Précipitation rouge brune
Sucres réducteurs	- Réactif de Fehling - Eau distillée	- Précipité rouge brique

1.2.4. Analyse quantitative

- **Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de FolinCiocalteu)**

Pour le dosage des polyphénols totaux, deux extraits ont été utilisés (aqueux et méthanolique). Ce dosage a été effectué avec le réactif colorimétrique de Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par (Skerget et al., 2005)[11]. La courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax$) est effectuée par l'acide gallique ; à partir d'une solution mère aqueuse préparée de l'acide gallique de concentration massique 0.75g/1, des solutions filles sont ainsi préparées à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par 1g du poids sec de la plante en poudre.

- **Mode opératoire**

Un volume de 500 μ l de l'extrait à différentes concentrations (extrait diluée $\frac{1}{2}$ et l'extrait brut) est ajouté à 2,5ml de réactif de Folin-Ciocalteu (1/10) (1ml de réactif de Folin-Ciocalteu et 9ml d'eau distillé).

Après 15min, on ajoute 2ml de NaCO_3 (7,5%) ; puis on agite le mélange. Après une incubation à une température ambiante pendant 2 heures l'absorbance est mesurée à 760nm contre un blanc qui est constitué de réactif Folin-Ciocalteu et NaCO_3 (7,5%)[11].

1.2.4. Etude de l'activité anticoagulante

L'activité anticoagulante des deux extraits aqueux et méthanolique des rhizomes de *curcuma longa* a été évaluée *in vitro* en adaptant la méthode décrite par Athukorala et al., 2007 [12] vis-à-vis des deux voies de la coagulation (la voie endogène et la voie exogène), et ceci sur un pool des plasmas normaux déplaquetés et à l'aide de deux tests chronométriques

globaux, le temps de Quick (TQ) ou nommé également Taux de Prothrombine (TP), et le temps de Céphaline Kaolin (TCK).

1.2.4.1. Activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène

- **Mode opératoire**

L'activité des extraits et de certains de leurs composés est établie sur 100 μ l de ce plasma qui est mélangé avec différents volumes de ces solutions (10, 20, 30 μ l) préparées à une concentration donnée. Après 15 min. d'incubation à 37°C, 100 μ l de céphaline-kaolin est additionné au mélange qui est réincubé durant exactement 3 min sous agitation à 37°C. Le temps de coagulation est alors déterminé à l'aide d'un coagulomètre par ajout de 100 μ l de chlorure de calcium (0,025M) préchauffé [13].

1.2.4. 1. Activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène (TQ)

- **Mode opératoire**

L'effet des extraits sur la voie exogène de la coagulation a été évalué selon le protocole décrit par Wang et ses collaborateurs. Les facteurs de la voie exogène sont donc activés et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot est mesuré.

100 μ l de plasma pauvre en plaquettes préchauffé durant 2 min à 37°C est mélangé avec différents volumes des extraits et de certains de leurs composés (10, 20, 30 μ l), préparées à une concentration donnée. Après 15 min d'incubation à 37°C, 200 μ l de thromboplastine calcique (préchauffée au moins 15 minutes à 37°C) est additionné au mélange et le temps de la coagulation

est alors enregistré à l'aide d'un coagulomètre[13].

2. Résultats et discussion

2.1. Analyse qualitative

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique des plantes sélectionnées pour cette étude a permis de mettre en évidence la présence de quelques constituants chimiques. La détection de ces

composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité ou encore un changement de couleur spécifique. Les résultats des tests phytochimiques sont récapitulés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Résultats de l'analyse phytochimique des métabolites secondaires

Test	Résultat	Test	Résultat
Flavonoïdes	+	Anthocyanes	+
Alcaloïdes	-	Tanins	-
Stérols	-	Stéroïdes	±
Coumarines	-	Anthraquinones libres	+++
Glycosides	+++	Quinones	+++
Saponosides	±	Téropinoïdes	-

+++ = importante quantité ; += petite quantité ; ±=Trace; -= absence

Les résultats des alcaloïdes et des stérols montrent que : le *Curcuma longa* est dépourvu de ces composés phénoliques et contient des flavonoïdes. En effet ces résultats sont complètement similaires aux ceux obtenus par (Sawant R et Godghate A., 2013) [14], (Chairman et al., 2015) [15] et par (Nilanjana et al., 2013) [16]. par contre les résultats des tests réalisés par (Chairman et al., 2015) [15] et (Nilanjana et al., 2013) [16] à partir de l'extrait aqueux et méthanolique ; ont montré que les rhizomes de la plante *C. longa* contient des flavonoïdes et des alcaloïdes, d'autre part nos résultats de test de coumarines montrent que les rhizomes de *Curcuma* sont dépourvus de ces composés; ce qui est identique aux ceux trouvés par (Sawant R et Godghate A, 2013) [14].

La présence des glycosides avec une importante quantité est affirmé par (Swadhini P et al., 2011), [17] ce qui est soutenu par notre résultat.

L'espèce *Curcuma longa* renferme aussi les tanins et les saponosides, nos résultats s'accordent avec ceux obtenus par (Saxena Jyoti et al., 2012) [18], (Nilanjana et al., 2013) [16], (Chairman et al., 2015) [15] et par (Swadhini P et al., 2011) [17]. Encourageant notre recherche, (Swadhini P et al., 2011) [17] ont montrés aussi que le *Curcuma longa* porte des anthocyanes et anthraquinones.

Il y a un pourcentage superficiel des stéroïdes dans le *Curcuma longa*, ce résultat est similaire à celui de (Saxena Jyoti et al., 2012) [18], (Sawant R et Godghate A, 2013) [14] et (Chairman et

al.,2015) [15], mais ces derniers ont approuvés l'absence de ces métabolites lorsqu'ils ont utilisés l'extrait éthanolique de *Curcuma*.

Les quinones sont présentées fortement dans notre plante, ce qui est fondé par (SaxenaJyoti et al.,2012) [18]. Les térapénoïdes sont absent dans notre plante, ce résultat est identique à celui trouvé par (Nilanjana et al., 2013) [16].

2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux de chaque extrait du *Curcuma longa* a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligramme équivalent en acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g) ; en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (Figure1).

2.2. Analyse quantitative

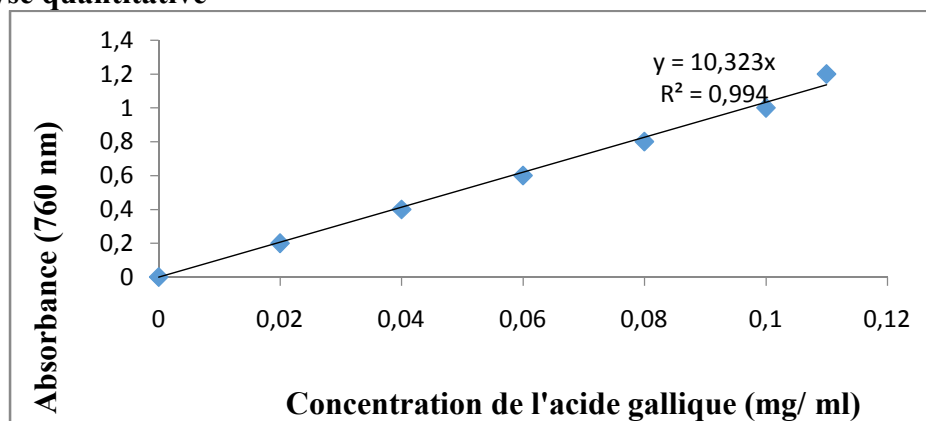


Figure 1 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

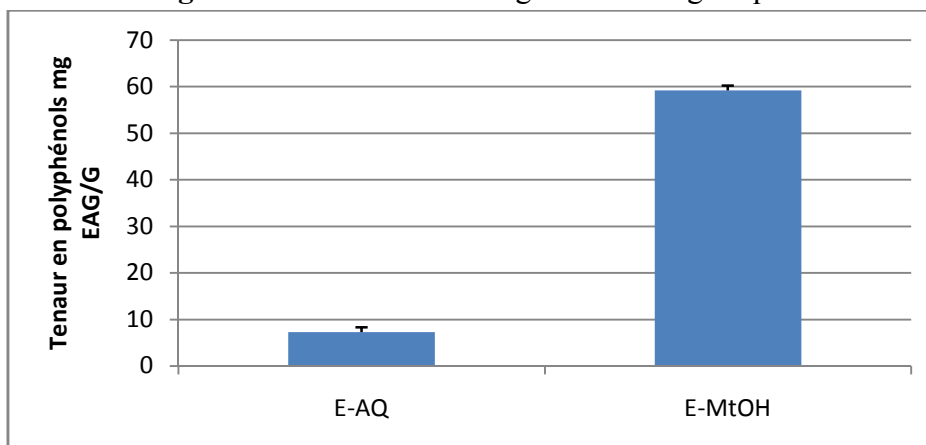


Figure 2 : Teneur en polyphénols totaux pour *C longa*

À partir des résultats représentés dans la figure2, nous constatons que l'espèce *Curcuma longa* ; semble riche en polyphénols dans l'extrait méthanolique en comparaison avec l'extrait aqueux qui a donné des faibles rendements.

Pour le dosage quantitatif des composés phénoliques, nous avons noté une teneur élevée en polyphénols de l'extrait méthanolique par rapport à l'extrait aqueux. cela corrobore au travaux de Araújo et Leon,(2001)[19] qui ont montré que l'extrait alcoolique était un solvant

plus efficace pour extraire les métabolites secondaires que les extraits aqueux, il est de même, les résultats de Julie *et al.*, (2009)[20] sur le contenu des extraits alcooliques de *Curcuma longa* en composés phénoliques, montrent que la richesse des extraits alcooliques en composés phénoliques est due à l'efficacité de l'éthanol dans l'extraction des principes actifs et que la curcumine, le principal composé phénolique de cette plante, est soluble dans l'éthanol mais insoluble dans l'eau.

Pour l'extrait aqueux ; Notre résultat de la teneur en polyphénols (7,3 mgEAG/g) est supérieur aux résultats trouvés par (TurkietGudda, 2012)[21] qui a montré que le *C longa* possède un contenu en polyphénols de (4,14 mgEAG/g).

La différence en résultats de la teneur en polyphénols peut être expliquée par un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques température élevée exposition solaire, les pratiques culturelles, la maturité

à la récolte et les conditions de stockage sécheresse, salinité) (Podsdek, 2007) [22], aussi certaines études récentes ont montré que la teneur en composés phénoliques se changent de façon considérable d'une espèce à une autre et à l'intérieur de la même espèce (Ksouriet *al.*, 2009) [23].

2.3. Activité anticoagulante

Le pouvoir anticoagulant des polyphénols du *Curcuma longa* et de leurs principaux constituants a été évalué *in vitro* vis-à-vis de la voie endogène et la voie exogène de la coagulation à l'aide de deux tests chronométriques, le TCK et le TQ respectivement.

2.3.1. Activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène

Les résultats de l'activité anticoagulante obtenus (Figure 3) révèlent que les deux extraits méthanoliques et aqueux des rhizomes du *Curcuma longa* possèdent une activité anticoagulante dose dépendante.

Un temps de coagulation (TCK) allongé par rapport à un témoin de TCK de 39 S, le TCK normal est compris entre 30 et 40 S selon le réactif.

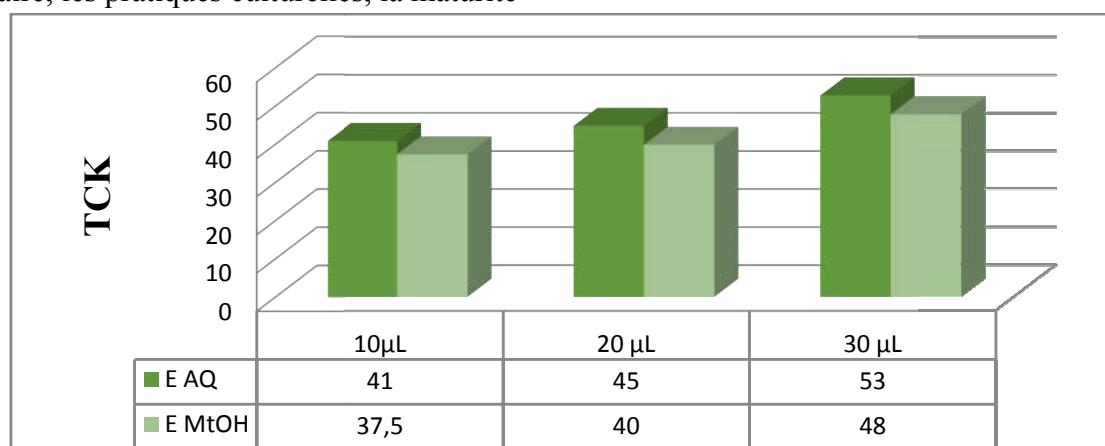


Figure 3 : Capacité anticoagulante des extraits méthanoliques et aqueux de *C longa* vis-à-vis de la voie endogène.

Les extraits dosés montrent des temps de coagulation différents. L'observation

générale de l'histogramme révèle que les extraits aqueux exercent des TCK

relativement plus importants que les extraits méthanolique.

Les différents volumes (10, 20,30 μ L) des extraits méthanoliques et aqueux de *C.longa* montrent que le volume 10 μ L présente une activité anticoagulante avec un TCK de 41S par un allongement de 2 S pour l'extrait aqueux et un TCK de 37,5 S avec un allongement de 1,5S pour l'extrait méthanolique(Figure 3). Par ailleurs, le volume 20 μ L capable d'exercer un effet anticoagulant sur la voie endogène de la coagulation, estimé par un TCK de 45 S par un allongement de 6 S pour l'extrait aqueux et un TCK de 40 S par un allongement de 1 S pour l'extrait méthanolique(Figure 3).

Le volume 30 μ L a une capacité anticoagulante estimée par un TCK de53S par allongement de 14 S pour l'extrait

aqueux et un TCK de 48 S par un allongement de 9S pour l'extrait méthanolique.

b)Activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène

Le TQ normal est compris entre 12 et 14 secondes selon les réactifs utilisés[12]et un allongement par rapport au contrôle négatif traduit une activité anticoagulante du matériel testé vis-à-vis de la voie exogène de la coagulation. Un temps de coagulation (TQ ou TP) allongé par rapport à un témoin a un TQ de 12,5S.

Dans un premier temps, des extraits méthanolique et aqueux à des volumes différents (10, 20,30 μ L) de *C.longa* sont incubées avec le plasma durant certains temps (15 min) à fin de déterminer le temps d'incubation optimal pour obtenir une activité anticoagulante élevée (figure 04).

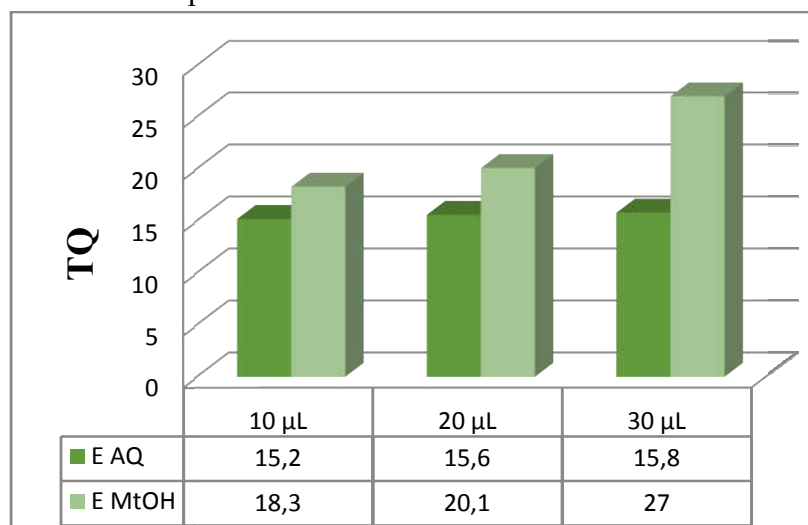


Figure 04 : Capacité anticoagulante des extraits méthanoliques et aqueux de *C longa* vis-à-vis de la voie exogène.

Le volume 10 μ L des extraits aqueux et méthanoliques de *C longa* capable d'allonger le temps de quick avec des valeurs d'ordre de (2,7S et 5.8S) avec un TQ de 15,2S et de 18,3S respectivement.

Cependant, le volume 20 μ L des extraits aqueux et méthanoliques de *C longa* a une activité anticoagulante estimée par un TQ de 15,6 S par un allongement de 3,1S, et

un TQ de 20,1 S par un allongement de 7,6 S respectivement (Figure 04).

Enfin, le volume 30µL possède un effet anticoagulant vis-à-vis de la voie exogène avec des TQ de 15.8S avec un allongement de 3.3 S pour l'extrait aqueux et un TQ de 27 S avec un allongement peu éloigné aux ceux des normes de coagulation de 14.5 S pour l'extrait méthanolique.

4.2.2. Discussion

l'évaluation de la capacité anticoagulante des extraits méthanolique et aqueux de *Curcuma longa* établi par les deux tests chronométriques d'exploration de la coagulation ; le TCK et le TQ démontre que ces extraits exercent une activité anticoagulante vis-à-vis les deux voies de la coagulation, mais cette activité est plus marquée par l'extrait méthanolique que par l'extrait aqueux et que les constituants qui possèdent des groupements fonctionnels, particulièrement les monoterpènes phénoliques, peuvent être les composés responsables de cette activité anticoagulante.

En plus, dans cette étude, le screening phytochimique a montré (Tableau2) la présence de polyphénols, en particulier de flavonoïdes (flavones, flavanones, isoflavones et chalcones), qui est déjà associés à une altération de l'hémostase.

Nos résultats s'accordent au ceux de (Kim et al., 2012) [24], qui ont trouvé que le *Curcuma* empêche l'agrégation plaquettaire et la formation des caillots, ce qui aide et stimule la circulation sanguine, comme ils signalent également que la curcumine (composé principale de polyphénols) prolonge significativement le PTT (temps de céphaline activé) et le TP

et inhibe les activités de thrombine et de facteur FX (Kim et al.,2012) [24].

Conclusion

Le screening phytochimique effectué, nous a permis de mettre en évidence la richesse de notre plante en lipides, protéines, flavonoïdes, anthraquinone libre et le sucre réducteur. Elle est dépourvue des terpénoïdes, coumarines, stérols et alcaloïdes. En outre, les résultats de la quantification des polyphénols totaux ont révélé que l'extrait méthanolique renferme une teneur en polyphénols totaux plus importante que l'extrait aqueux.

L'étude du pouvoir anticoagulant des extraits de *Curcuma longa* sur l'allongement du temps de coagulation des deux voies endogène et la voie exogène de la coagulation à l'aide de deux tests chronométriques, le TQ et le TCK respectivement a permis de démontrer que ces extraits exercent une activité anticoagulante vis-à-vis les deux voies de la coagulation.

Enfin nous pouvons dire que cette étude est l'une des très peu travaux sur l'évaluation de l'activité anticoagulante de notre plante et ces résultats restent préliminaires et nécessitent des études complémentaires approfondies à différents niveaux de l'approche à travers :

- La purification de ces polyphénols et la détermination de leurs activités anticoagulante séparément et combinés pour faire ressortir l'effet synergique entre ces molécules
- La caractérisation fine et poussée de ces polyphénols par d'autres techniques telles que la GC/SM ou l'HPLC/MS.

- L'évaluation *in vivo* des activités anticoagulante et antiplaquettaire des extraits phénoliques des extraits de *curcuma longa*.
- L'application des tests spécifiques pour l'estimation de l'activité anticoagulante par ciblage des facteurs clés de la coagulation : FII (thrombine) et FX (prothrombine).

Remerciements

Les auteurs remercient le personnel de l'équipe de laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital de Chelghoum Laid : BOUMECHRA Houssam Elddine (médecin chef), BOUGHEDDA Badr Elddine et BENATHMENE Soumia (Technicien au sein du labo d'EPH HOUARI BOUMEDIEN) ; pour les facilités qu'ils ont mises à notre disposition pour réaliser ce travail.

Références bibliographiques

- [1]- Segnou, Fatakun C.A., Akoroda, M., Hahn, S. 1992 - Studies on the reproductive biology of white yam (*Dioscorea rotundata*)". *Euphytica*. 64 (3): 197.
- [2]- Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J. et Hilali, A. 2015 - Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6 (4): 1111-1117.
- [3]- Trease E. et Evans W.C. 1987 - *Pharmacognosie, Billiaire Tindall*. London 13th ed.
- [4]- Memelink J., Verpoort R., Kigine J. W. 2001- Organisation of jasmonate responsive gene expression in alkaloid metabolism.

[5]- Kalla, A. 2012- *Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : Pituranthos scoparius, Rantherium adpressum et Traganum nudatum*. Thèse de Doctorat en Sciences. Université de Mentouri – Constantine

[6]- Mibindzou Mouellet A. 2004 - *Screening phytochimique de deux espèces de plantes : Crotalaria retusa L (papilionaceae) et Halleaciliata Aubrev & Pellegr. (rubiacae) récoltées au Gabon*. Thèse de doctorat, Mali, 58 p.

[7]- Douhou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L.M., Badoc A., Gmira N. 2003- Screening phytochimique d'une endémique ibéro marocaine, *Thymelaealythroides*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* 142: 61-78.

[8]- Harborne J.B. 1998 - *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis*. Third Edition. ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB). 203-214.

[9]- Diallo D. 2000 - *Ethno pharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: Glinus oppositifolius (Azoceae), Diospyros abyssinica (Ebenaceae), Entada africana (Mimosaceae), Trichilia emetic (Meliaceae)*. Thèse de doctorat de recherche, Faculté des sciences de l'université de Lausanne Suisse.

[10]- Afaq F. et Malik A. 2005- Pomegranate Fruit Extract Modulates UV-B-mediated Phosphorylation of Mitogen-activated Protein Kinases and Activation of Nuclear Factor Kappa B in Normal Human Epidermal keratinocytes. *Photochemistry and photobiology*, 81(1): 38-45.

- [11]-Skerget, M., P. Kotnik, M. Hadolin, A.R. Hras, M. Simonic and Z. Knez, 2005- Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem.*, 89: 191-198.
- [12]- Athukorala .Y., Lee .KW., Kim .SK., et Jeon. YJ. 2007-Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea. *Bioresource Technology*. 98: 1711–1716.
- [13]- Wang J., Wang F., Zhang Z., Shi X. 2009- Synthesized different derivatives of low molecular Fucoidan extracted from *Laminaria japonica* and their potential antioxidant activity in vitro. *Int j boil Macromol* 44(5): 379-84.
- [14]- Sawant R.S. and Godghate A.G. 2013- Qualitative phytochemical screening of rhizomes of *Curcuma longa* L. *International Journal of Science, Environment and Technology*, Vol. 2, No 4, , 634 – 641.
- [15]- Chairman K; JayamalaM; VijilaChristyR and Ranjit Singh Aja. 2015- Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of *curcuma longa* .Natural Dye. *Phytochemistry* 16:79 83
- [16]- Nilanjana Deb., PurbaMajumd., Ajoy Kumar Ghosh. 2013- Pharmacognostic and Phytochemical Evaluation of the Rhizomes of *curcuma longa* Linn.
- [17]- Swadhini S.P., Santosh R, Uma C, Mythili S and Sathiavelu A. 2011- Phytochemical Screening and Antimicrobial activity of five medicinal plants against *Myrothecium* SP. *International Journal of Pharma and Biosciences*, 2(1): B272-B279 .
- [18]-SaxenaJyoti and SahuRajeshwar, 2012-valuation of Phytochemical constituents in Conventional and Non-conventional species of *Curcuma*. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(8):203-204.
- [19]-Araujo c c., Leon L.2010 - biological activities of *curcuma longa* L.*Mem Inst Oswaldo Cruz* ; 96 :723-28.
- [20]- Julie S. Jurenka, MT(ASCP).2009 - Anti-inflammatory Properties of Curcumin, a Major Constituent of *Curcuma longa*: A Review of Preclinical and Clinical Research. *Alternative MedicineReview* Volume 14p 141-153).
- [21]-Turki, Gudda , Marfak A. 2012 - *Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de Leur reactivite avec les radicaux issus des Alcools: formation de depsides*. Thèse de doctorat. Limoges
- [22]- Podsedek, A.2007- Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: *A review*. *LWT*. 40:1-11.
- [23] - Ksouri R, Falleh H, Megdiche W, Trabelsi N, Hamdi ,Chaieb K, Bakhrouf A, Magné C , Abdelly C. 2009 - Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L and related polyphenolic constituents. *Food and Chemical Toxicology*. 47(8): 2083-2091.
- [24] -Kim DC, Ku SK, & Bae JS.2012- Anticoagulant activitie of curcumin and its derivative. *BMB Rep*; 45(4): 221-226. PMID: 22531131