



République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique
Université Dr. Moulay Taher Saida
Faculté des sciences - Département de Biologie



Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie Et Valorisation biologique des Plantes

**MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER EN
BIOLOGIE**

Option: Biochimie appliquée

Présenté par :

M^{elle}. Merabti Aicha

Sur le thème intitulé :

**Évaluation des activités anti-inflammatoire, anti-
hémolytique et antithrombotique de l'huile essentielle
de *Citrus sinensis***

Soutenu le : 16/09/2020.

Devant la commission de jury, composée de :

Nom et prénom	Grade	Etablissement	Qualité
Mr. Ziani Kaddour	maitre de conférences A	Université Dr. Moulay Tahar Saida	Président
Mr. Adli Djallal E. H	maitre de conférences A	Université Dr. Moulay Tahar	Examineur
Mr. KAHLOULA Khaled	Prof	Université - Dr. Moulay Tahar de Saida	Encadreur

Année Universitaire 2019-2020

Dédicace

A l'aide du Dieu j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

À l'âme de mes parents ;

À ma petite famille ;

A mes amis ;

À toute ma promotion de l'année universitaire 2019/ 2020.

Remerciement :

J'adresse mes sincères remerciements et ma gratitude les plus profondes à notre très cher encadreur **Mr. Kahloula. K** pour sa confiance, sa patience, son soutien scientifique et moral, sa disponibilité et sa participation active tout au long du travail.

Je tiens à remercier également :

- Le président de jury : **MR. ZIANI KADDOUR** maitre de conférence A université Moulay Tahar Saida.
- L'examineur: **MR. Adli Djallal Eddine Houari** maitre de conférence A université Moulay Tahar Saida d'avoir accepté de juger ce travail.
- Tous les enseignants qui ont contribué à notre formation.

Je remercie profondément **Mr. Brahmi Mustapha** pour ses conseils judicieux.

Enfin, je remercie le personnel des laboratoires de l'établissement public de santé de proximité et de l'établissement public hospitalier à Saida pour leur aide.

Résumé :

La présente étude visait à évaluer *in vitro* les activités anti-inflammatoire, anti-hémolytique et thrombolytique de l'huile essentielle des écorces de *Citrus sinensis*. Les pelures avaient été soumises à une hydrodistillation (en utilisant un hydrodistillateur de type Clevenger), le rendement moyen de l'extraction était de 0,62%. L'activité anti-inflammatoire *in vitro* a été évaluée par la méthode de dénaturation de l'albumine. Les résultats ont montré que l'HE de l'écorce de *C. sinensis* à une concentration de 100 µl inhibe la dénaturation des protéines induite par la chaleur avec un taux de 62%. L'activité anti-hémolytique a été testée sur un modèle cellulaire (les érythrocytes) et le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse était d'environ 70%. L'HE de *C. sinensis* présente une activité thrombolytique moyenne dont le pourcentage d'inhibition s'est avéré être d'environ 38% à 100 µl. Les résultats obtenus dans la présente étude indiquent que l'huile essentielle des pelures de *C. sinensis* peut être une source potentielle d'agents anti-inflammatoires, anti-hémolytiques et même thrombolytiques.

Mots clés : *citrus sinensis*, huile essentielle, anti-inflammatoire, anti-hémolytique, activité thrombolytique.

Abstract :

The present study was aimed to evaluate in vitro the anti-inflammatory, anti-hemolytic and thrombolytic activities of the essential oil of peel of *Citrus sinensis*. The oranges peels were subjected to hydrodistillation (using a Clevenger type hydrodistillator), the average extraction yield was 0.62%. The anti-inflammatory activity in vitro was evaluated by the albumin denaturation method. The results showed that the HE of the peel of *C. sinensis* at a concentration of 100 μ l significantly inhibits the heat-induced denaturation of proteins with a rate of 62%. Anti-hemolytic activity was tested on a cellular model (erythrocytes) and the percentage inhibition of hemolysis was approximately 70%. The EO of *C. sinensis* exhibits a mean thrombolytic activity; the percentage of inhibition was approximately 38% at 100 μ l. The results obtained in the present study indicate that the essential oil of the skin of *C. sinensis* may be a potential source of anti-inflammatory, anti-hemolytic and even thrombolytic agents.

Key words: *citrus sinensis*, essential oil, anti-inflammatory, anti-hemolytic, thrombolytic activity.

ملخص:

هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم الأنشطة المضادة للالتهابات ، والمضادة للانحلال والتخثر للزيت الأساسي لقشر البرتقال. عرض قشر البرتقال للتقطير المائي (باستخدام جهاز التقطير المائي من نوع Clevenger) ، وبلغ متوسط إنتاجية الاستخلاص 0.62%. تم تقييم النشاط المضاد للالتهابات في المختبر بالاعتماد على طريقة تمسخ الألبومين. أظهرت النتائج أنه بتركيز 100 ميكرو لتر يثبط الزيت العطري التمسح الحراري البروتينات بشكل كبير و ذلك بنسبة 62%. تم اختبار النشاط المضاد لانحلال الدم بالاعتماد على نموذج خلوي (كرات الدم الحمراء) وكانت النسبة المئوية لتنشيط انحلال الدم حوالي 70%. أظهر الزيت الأساسي لقشر البرتقال نشاطاً متوسطاً بالنسبة لتحليل الجلطات الدموية حيث قاربت نسبة التنشيط 38 % عند 100 ميكرو لتر. تشير النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة إلى أن الزيت الأساسي لقشر البرتقال قد يكون مصدرًا محتملاً للعوامل المضادة للالتهابات ومضادات الانحلال وحتى عوامل التخثر.

الكلمات المفتاحية : قشر البرتقال ، زيت أساسي ، نشاط مضاد للالتهاب ، نشاط مضاد للانحلال ، نشاط مضاد للتخثر.

Liste des figures :

Figure 01 : Globules rouges.

Figure 02 : membrane plasmique d'une hématie.

Figure 03 : adhésion et agrégation plaquettaire.

Figure 04 : Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes.

Figure 05: système d'hydrodistillation.

Figure 06: Ampoule à décanté.

Figure 07: Montage d'un système d'entraînement à la vapeur.

Figure 08: Schéma d'une installation de distillation sèche.

Figure 09: *C.sinensis* (a) *C.sinensis* (fruits) (b) Figure 12:*C.sinensis* (fleur) (c).

Figure 10: Schéma détaillant la structure du péricarpe de l'orange.

Figure 11: oranges fraîches.

Figure 12: épicarpes d'orange.

Figure 13 : Hydrodistillation.

Figure 14 : Ampoule à décanter.

Figure 15 : huile essentielle de *C.sinensis* obtenue après extraction.

Figure 16 : taux d'inhibition de la dénaturation de la BSA par l'HE de *C.sinensis*.

Figure 17 : taux d'inhibition de l'hémolyse des globules rouges induit par le H₂O₂.

Figure 18 : taux de lyse des caillots sanguins par l'HE de *C.sinensis*.

Liste des tableaux :

Tableau 01 : composition chimique du fruit d'orange.

Tableau 02 : Composition chimique de l'huile essentielle d'orange douce (*Citrus sinensis*)
(constituants principaux).

Liste des abréviations :

Citrus sinensis : C.sinensis

Concentration inhibitrice médiane : IC50

Globule rouge : GR

Hémoglobine : Hb

Huile essentielle : HE

HSP : heat shock protein

Sérum d'albumine bovine : BSA

Tables des matières :

Remerciements

Résumé

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

1.1. L'inflammation et la dénaturation protéique	2
1.2. Généralités	2
1.3. L'albumine.....	3
1.4. La dénaturation protéique.....	4
1.3.1. L'altération des protéines.....	4
1.3.2. La réponse au choc thermique.....	4
1.3.3. La phase d'élimination	4
2. Généralités sur le sang	5
3. Globules rouges	6
3.1. Généralité.....	6
3.2. Biosynthèse des globules rouges.....	7
3.3. Destinée et destruction des Erythrocytes.....	7
4. L'hémolyse	8
4.1. Généralités.....	8
4.2. L'hémolyse pathologique.....	9
5. Les thromboses	10
6. Les plantes médicinales	11
7. Les huiles essentielles	12
7.1. Généralités	12
7.2. Procédés d'extraction des huiles essentielles	13
7.2.1 La distillation à la vapeur d'eau.....	13
7.2.2. Entraînement a la vapeur d'eau.....	14

7.2.3. Distillation sèche.....	15
7.2.4. La pression à froid	15
8. Oranger doux (<i>Citrus sinensis</i>).....	16
8.2. Généralités.....	16
8.3. Classification botanique.....	17
8.4. composition chimique des fruits d'orange.....	18
8.5. Composition chimique de l'HE de <i>C.sinensis</i>	19
8.6. Les activités biologiques de l'HE de <i>C.sinensis</i>	20
8.5.1 Antimicrobiene.....	20
8.5.2 Antifongique	20
8.5.3 Anti-inflammatoire, antiallergique et analgésique.....	20
8.5.4 Antioxydante.....	20
8.5.5 Anti thrombotique	20
8.5.6 Anticancéreuse	21
8.5.7 Hypolipédiant.....	21
8.5.8 Anti hémolytique.....	21
8.5.9 Anti acétylcholinestérase	21
8.5.10 Autres activités biologiques	21

Matériel et méthodes

1. L'objectif.....	22
2. Matériel végétal.....	22
3. Extraction des huiles essentielles.....	23
4. La conservation de l'huile essentielle obtenue	24
5. Détermination du rendement d'extraction	24
6. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro de l'huile de <i>C. sinensis</i>	25
6.1. Mode opératoire	25
7. Evaluation de l'activité anti hémolytique in vitro	26
7.1. Mode opératoire	26
8. Evaluation de l'activité anti thrombotique.....	27
8.1. Mode opératoire	27

Résultats et interprétations :

1. Le rendement en huiles essentielles.....	28
---	----

2. L'évaluation de la l'activité anti-inflammatoire in vitro	28
3. Évaluation de l'activité anti hémolytique	29
4. Evaluation de l'activité anti thrombotique	30
Discussion	31
Conclusion	35
Références bibliographiques	36

INTRODUCTION

Introduction :

L'homme utilisait les plantes depuis la nuit des temps à des fins médicinales (**Ernest et al., 2005**). Les plantes médicinales présentent une source riche de médicaments parce qu'elles produisent une foule de molécules bioactives (**Small et Catling , 2000**).

Les différentes parties des plantes telles que les graines, les feuilles, les fleurs, les racines et l'écorce contiennent des composés actifs qui sont obtenus à travers différents processus d'extraction. Ces composés sont largement classés en alcaloïdes, saponines, polyphénols, caroténoïdes, glycosides, acides gras oméga et flavonoïdes. Chaque classe est responsable de ses propres effets pharmacologiques (**Nikitha et Rajendra, 2019**), produits comme métabolites secondaires par les plantes, les huiles essentielles interviennent dans plusieurs domaines, ils ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en cosmétique. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (**Billerbeck, 2002**).

Les agrumes représentent une culture commercialement importante depuis des milliers d'années. En outre, Les huiles essentielles d'agrumes sont précieuses dans les industries des parfums, des aliments et des boissons, et sont également utilisé comme aromathérapie et agents médicinaux (**Dosoky et Setzer ; 2018**).

Par ailleurs, l'activité biologique de nombreux extraits botaniques a été largement étudiée, mais peu de recherches ont été établies pour évaluer les activités thrombolytiques, anti-hémolytiques et anti-inflammatoires in vitro de des huiles essentielles extraites de l'écorce de l'orange malgré l'utilisation du fruit d'orange en médecine traditionnelle comme antipyrétique, anti-inflammatoire et sédatif (**Vinodhini et al., 2017 ; Aria et On loca ; 2005**).

A la lumière de ces données, notre étude a été entreprise pour évaluer les activités anti-inflammatoires, anti-hémolytiques et thrombolytiques in vitro de l'huile essentielle de l'écorce de *Citrus sinensis*.

Le manuscrit ci-rédigé comporte trois parties :

- Une revue bibliographique synthétisant brièvement les informations sur la plante étudiée et ses différentes propriétés thérapeutiques.
- Une deuxième partie «matériel et méthode» décrivant la méthodologie expérimentale réalisée
- Une troisième partie «résultats et discussions» décrivant les résultats obtenus et leur discussion générale.

SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

1. L'inflammation et la dénaturation protéique:

1.1. Généralités :

L'inflammation était connu par les sumériens et les égyptiens et est définie depuis Celsius par les signes cardinaux : rougeurs, œdèmes, chaleur, douleur (**Russo-marie, 1998**).

L'inflammation est une réaction immédiate de défense non spécifique de l'organisme à toutes agression remettant en cause son intégrité physique, c'est-à-dire générant une lésion tissulaire, qu'elle qu'on soit son origine mécanique (traumatisme articulaire ou musculaire), biologique (infection) ou immunologique (allergies), une mauvaise alimentation (abus d'aliments raffinés, de gras hydrogénés) possède sa part de responsabilité dans la survenue des maladies inflammatoires, tout comme il est également prouvé que certains aliments possèdent des effets anti-inflammatoires grâce à leurs constituants spécifiques (oméga 3, vitamines et oligoéléments, antioxydants, probiotiques, polyphénols tels les anthocyanines ou les flavonoïdes....) (**Gualtier, 2011 ; Bouhassira et Calvino, 2009**)

Le but de la réaction inflammatoire est de détruire ou bien contenir l'agent responsable du dommage, d'initier les processus de réparation et de rendre au tissu lésé sa fonction initial. On distingue arbitrairement l'inflammation aiguë et l'inflammation chronique (**Stevens et al., 2004**).

L'inflammation aiguë est une réaction de défense localisée et temporaire, elle prévient les dégâts causés par exemple par des agents pathogènes, elle se déroule en trois étapes :

- Vasodilatation avec accumulation régionale du sang ;
- Augmentation de la perméabilité endothéliale d'où exsudation de liquide et de protéines plasmatique ;
- Migration de leucocytes grâce à la coopération entre endothéliocytes et leucocytes (**Lüllmann-Rauch, 2008**).

L'inflammation chronique se fait suite à une inflammation aiguë non guérie et se manifeste pendant plusieurs semaines à plusieurs mois. Les destructions tissulaires sont plus graves et ont des conséquences fonctionnelles profondes. Elle est à l'origine de plusieurs maladies tels que: psoriasis, asthme, obésité, diabète, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), maladie cœliaque, rhumatismes... (**Proust-Millon et Lefief-Delcourt, 2018 ; Weill et Batteux, 2003**).

1.2. L'albumine :

L'albumine est la protéine globulaire la plus abondante dans le plasma. C'est une petite molécule de 66 kilo Dalton qui possède 585 acides aminés avec un groupement thiol au niveau de sa cystéine 34 sous forme réduite (**Mira, 2008**) qui joue un rôle dans l'agrégation de l'albumine sous l'effet de l'augmentation de température (**Barone, 1992**).

Cette protéine, synthétisée par le foie est soumise à une régulation par le statut nutritionnel, l'insuline, le cortisol, le glucagon ou les hormones thyroïdiennes. L'albumine est distribuée dans le sang et les organes comme la peau, le muscle, l'intestin, les tissus sous-cutanés (**Evans, 2002**). Sa demi-vie est de 15 à 20 jours. Elle est catabolisée par le système réticulo-endothélial (**Mira, 2008**).

L'albumine joue plusieurs rôles dans l'organisme notamment comme antioxydant dont cette propriété est liée à certains sites de sa structure :

- la cystéine en position 34 dont l'action antioxydante est liée à la capture des radicaux libres d'oxygène et de l'azote.
- la portion N terminale composée de quatre acides aminés qui représentent un site de liaison pour les métaux pro-oxydants (cuivre, fer...) (**Mira, 2008**).

De plus, l'albumine est l'une des protéines plasmatiques ayant la capacité d'interagir avec une variété de ligands y compris la fixation et le transport des médicaments, de petites molécules de tout type comme les métaux. Elle transporte et véhicule également le cholestérol, la bilirubine, le NO, ...etc.

- Elle est responsable du maintien de la pression oncotique.
- Elle a aussi un rôle anti thrombotique et anticoagulant qui peut être dû à sa capacité à lier le NO (oxyde nitrique), ce qui permet de prolonger l'effet anti agrégeant du NO sur les plaquettes (**Evans, 2002**).

1.3. La dénaturation protéique :

La dénaturation protéique passe par trois étapes :

1.3.1. L'altération des protéines :

L'albumine subit des changements structuraux avec perte de sa forme tridimensionnelle et exposition de certains sites hydrophobes (comme le résidu cystéine 34) qui sont inaccessibles dans le cas physiologique normal (protéine native fonctionnelle). Ces zones hydrophobes peuvent interagir et former des agrégats qui sont délétères pour la cellule (**Arrigo, 2005**).

1.3.2. La réponse au choc thermique :

Dans cette étape, il y aura l'intervention des protéines de choc thermique (heat shock proteins HSP) qui vont reconnaître les régions normalement enfouies dans la molécule (l'albumine) et qui deviennent accessibles après dénaturation ou dégradation. L'interaction HSP-protéines dénaturées favorise soit leur dégradation, soit leur transport dans les différents organites et leur assemblage et l'activation des lymphocytes T après présentation des antigènes en présence des molécules de complexe majeur d'histocompatibilité et la différenciation des monocytes en macrophages (**Jacquier-sarlin et Polla, 1994**).

1.3.3. La Phase d'élimination :

Elle consiste à éliminer les protéines anormales et empêcher la formation d'agrégats ce qui permet la renaturation des protéines si les possibilités de réparation de la cellule le permettent (**Arrigo, 2005**).

2. Généralités sur le sang :

Le sang est un liquide qui circule dans un système clos, c'est un tissu conjonctif ou circulent dans un liquide appelé plasma, des cellules sanguines et ou dissoutes des substances tels que les sels minéraux, les vitamines, les enzymes et les hormones. Les cellules sanguines proviennent successivement, selon l'ontogénèse, du sac vitellin au niveau des ilots de Wolff et Pander, du foie, de la rate et de la moelle osseuse. A l'âge adulte leur production est exclusivement médullaire **(Thiam, 2017 ; Kierszenbaum, 2006)**. Le volume sanguin de l'adulte est de 4,5 litres, ce qui représente environ 7% de la masse corporelle. Les cellules sanguines en occupent presque 45% du volume sanguin. Le sang est de densité 1,05 et de potentiel d'hydrogène de 7,4 **(Lüllmann-Rauch, 2008 ; Perbet, 2005)**.

Le sang est constitué d'élément cellulaire : comprenant les globules rouges, les globules blancs, les plaquettes et de phase liquide ou plasma constitué de constitué d'eau, de sels minéraux, de protéines et de molécules organiques. Après coagulation, le plasma dépourvu de fibrinogène constitue le sérum.

D'un point de vue biochimique, on distingue deux types de protéines plasmatiques qui: les albumines et les globulines qui représentent des taux de 55 et 45% respectivement.

Les albuminés sont synthétisées par le foie ; elles peuvent être une source d'énergie en cas de déficit nutritionnel chronique et assurent le transport dans le milieu intérieur de différentes molécules surtout les molécules à caractère hydrophobe. Les globulines dans le sang existe en 3 types; les α globulines dont la protéine qui transportent la thyroxine ou la vitamine A ; les β globulines dont les protéines de transport du fer, et les γ globulines qui représentent principalement les anticorps. On y trouve aussi un ensemble hétérogène de molécules organiques et de minéraux tels : les glucides ; les lipides (triglycéride, cholestérol, acides gras libres) ; les pigments (bilirubine, biliverdine) ; les vitamines et hormones liposolubles et les macro- éléments (Na, K et Cl) et les oligoéléments (Fer, potassium, calcium, Magnésium, sodium,..... etc). **(Thiam, 2017 ; Norbert et al., 1995)**.

Les cellules du sang sont de deux types, les érythrocytes et les globules blancs. Au contraire d'autres cellules, les cellules de sang sont en perpétuel renouvellement par le processus hématopoïèse **(Geay, 1995)**.

3. Globules rouges :

3.1. Généralités :

Les globules rouges (GR) ou encore appelés érythrocytes ou hématies sont des cellules dépourvues de noyau et d'organites, rondes de 7 à 8 μm de diamètre, sous forme de disque biconcave d'épaisseur variable du centre à la périphérie. Ils sont constitués d'une membrane plasmique, de son cytosquelette sous-jacent et d'enzymes glycolytiques. Leurs cytoplasme contient un pigment rouge ; l'hémoglobine (Hb) bien coloré par l'éosine. L'Hb représente 95 % du contenu protéique total de l'érythrocyte, il permet la fixation et le transport de l'oxygène de manière efficace (Thiam, 2017 ; Lüllmann-Rauch, 2008 ; Kierszenbaum, 2006; Stelman, 2000).

Les globules rouges représentent les cellules les plus abondantes du corps humain 5,200,000 \pm 300,000 cellules / mm^3 de sang chez un homme en bonne santé. Les hématies ont un haut degré de flexibilité requis pour le passage de ces derniers à travers les capillaires (Hamidi et Tajerzadeh, 2003)

La membrane plasmique des globules rouges humaines contient 52% de protéines, 40% de lipides et 8% de glucides, ces derniers sont toujours associés soit à des lipides (glycolipides) ou bien à des protéines (glycoprotéines) (Maillet, 2006).

Les hématies ont une durée de vie limitée de 120 jours et celle vieillies sont identifiées et éliminées par les macrophages de la moelle osseuse, du foie, de la rate ou détruites par hémolyse dans la rate et sont remplacées dans la circulation par des réticulocytes, qui achèvent leur synthèse d'hémoglobine et leur maturation dans les deux premiers jours suivant la mise en circulation (Kierszenbaum, 2006)



Figure 01 : Globules rouges (Medkour, 2008).

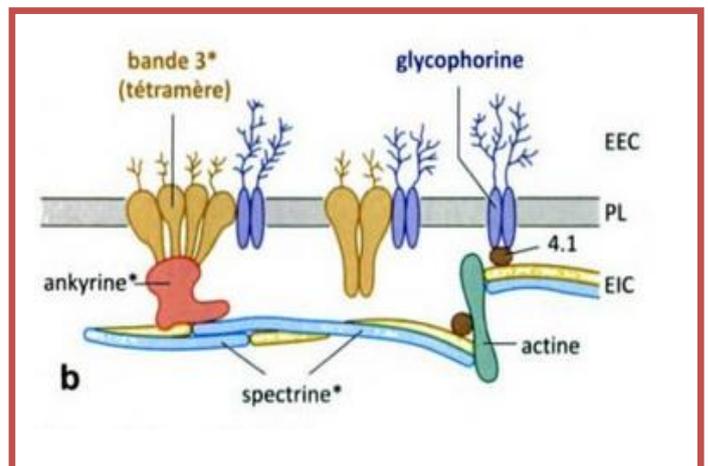


Figure 02 : membrane plasmique d'une hématie (Lüllmann-Rauch, 2008)

3.2. Biosynthèse des globules rouges :

La biosynthèse des GR commence à partir de la 3^{ème} semaine du stade embryonnaire au niveau du sac vitellin puis elle diminue vers la 5^{ème} semaine et disparaît complètement lors de la 9^{ème} semaine. Au niveau 3^{ème} mois foetal, le relai est pris par le foie, puis par la moelle osseuse hématopoïétique à partir du 5^{ème} mois de gestation. La moelle osseuse restera le seul site de synthèse des érythrocytes «érythropoïèses » chez l'adulte. **(Kierszenbaum, 2006)**. Lors de la différenciation, Les cellules souches de la moelle osseuse au cours de la première mitose se différencient, et vont former les progénitures. Les cellules souches (proérythroblastes) donnent alors les érythroblastes. Au fur et à mesure des divisions cellulaires, la taille des érythrocytes diminue et elles se chargent d'hémoglobine, après elles perdent le noyau et les organites de cellules (Réticulum endoplasmique rugueux, mitochondrie, appareil de Golgi). Plus les cellules sont avancées dans la lignée plus leur taille diminue, plus le cytoplasme basophile, riche en Acide ribonucléique dévient acidophile, riche en hémoglobine et plus le noyau se condense jusqu'à son expulsion qui transforme l'érythroblaste acidophile en réticulocyte, après il y a migration des GR matures dans le sang **(Bezeaud et al., 2001)**.

3.3. Destinée et destruction des Erythrocytes (GR) :

Chaque seconde notre corps produit entre deux et trois Millions de globules rouges, mais l'absence de noyau et d'organites pose aux érythrocytes un certain nombre de limites importantes, ils ne peuvent ni synthétiser de protéine, ni croître, ni se diviser c'est pourquoi leur durée de vie est limitée. Leur membrane plasmique devient rigide et se fragilise et devient incapable de se déformer car elle perd progressivement ses propriétés chimiques, Les érythrocytes sont pris au piège dans les petits vaisseaux de la rate, parfois appelée le «cimetière des globules rouges », où ils sont phagocytés et digérés par la macro phagocytes **(Marieb et Hoehn, 2013)**.

Au cours de la destruction des érythrocytes l'hème de l'hémoglobine est séparé de la globine, cette dernière est dégradée en acide aminés, par contre l'hème est libéré dans la circulation, son noyau de Fer est récupéré puis associé à une protéine comme la ferritine ou l'hémosidérine et emmagasiné en vue d'une réutilisation ultérieure. Le reste du groupement hémique « proto porphyrine » est métabolisé en biliverdine puis en bilirubine un pigment jaune libéré dans la circulation sanguine et transporté par l'albumine vers le foie où elle subit une Glycéro-conjugaison qui la transforme en bilirubine conjuguée. Cette dernière passe dans la bile et sera éliminée majoritairement dans les selles. Une petite partie est réabsorbée par l'intestin et éliminée par le rein sous forme d'urobiline **(Thiam, 2017)**.

Au bout de 120 à 140 jours, le globule rouge meurt par sénescence ; la masse globulaire est détruite, c'est l'hémolyse physiologique où les hématies sont détruites par les phagocytes mononucléés de la moelle osseuse, du foie et de la rate (**Girot et Wajeman, 1992**)

4. L'hémolyse :

3.1.1 Généralités :

L'hémolyse désigne le processus visant la destruction de la membrane érythrocytaire provoquant la libération d'hémoglobine (Hb) et d'autres composants associés dans le plasma. Dans un milieu faiblement hypotonique, les hématies tentent de maintenir un équilibre entre la concentration ionique du milieu extracellulaire et celle du milieu intracellulaire, l'eau pénètre néanmoins dans l'hématie qui se distend, se gonfle, devient sphérique et subit l'hémolyse, l'hématie se vide de l'hémoglobine en fabriquant des pores membranaires appelés pores d'hémolyse (**Maillet, 2006 ; Schuller, 2003**).

Le comportement de la membrane de l'hématie et en particulier la mesure de sa résistance osmotique présente un intérêt diagnostique pour les cliniciens. De nombreuses pathologies hémolytiques influencent considérablement cette résistance (maladies hémolytiques auto-immunes et la sphérocytose héréditaire). La résistance des membranes à l'hémolyse provoquée est mesurée par un Fragilimètre. La mesure en temps réel de l'intensité de transmission lumineuse traversant une solution de sang total diluée renseigne sur le phénomène. Les résultats obtenus informent directement sur la résistance de la membrane qui est considérée optiquement comme une particule diffusante. La détermination de l'hémolyse initiale, à 50% et totale permet d'apprécier les caractéristiques de l'hémolyse (**Didelon, 2001**).

L'hémolyse physiologique doit être différenciée de l'hémolyse pathologique ou l'hyper hémolyse liée à la modification des trois facteurs vitaux pour le GR. En l'occurrence, la membrane érythrocytaire ; le métabolisme énergétique (intégrité des enzymes impliqués) et le contenu hémoglobinique (**Dahmani et al., 2000**).

L'hémolyse pathologique a plusieurs signes biochimiques dont on note :

- Une baisse de l'haptoglobine plasmatique
- Une augmentation du taux de bilirubine non conjugué.
- Une élévation du taux de Lactate déshydrogénase plasmatique (**Berrebi, 2009**).

3.2. L'hémolyse pathologique :

Si la destruction des érythrocytes qui a lieu dans la rate est un phénomène normal, l'hémolyse anormale du sang peut avoir différentes causes. Il peut s'agir d'une pathologie qui aboutit à la destruction des globules rouges dans les vaisseaux sanguins, cas de certaines anémies, des accidents transfusionnels, du paludisme, etc; des parasites, des infections bactériennes et virales, des agents chimiques, des plantes toxiques peuvent aussi entraîner une hémolyse. De plus, l'hémolyse peut être due à des phénomènes auto-immuns (**Chapel et al., 2004**).

L'hémolyse pathologique peut être liée à plusieurs causes notamment;

- Une anomalie des globules rouges conduisant à une hémolyse corpusculaire ceci correspond à une anomalie constitutionnelle de l'hémoglobine comme les anomalies de structure (hémoglobinopathies), anomalies quantitatives de la synthèse des chaînes de globine (thalassémies), drépanocytose.
- Une anomalie constitutionnelle de la membrane du GR. C'est le cas des micro-sphérocytose causés par une augmentation de la perméabilité au Na⁺ et à l'eau.
- Un déficit enzymatique du GR comme le déficit en pyruvate kinase ou un défaut de régénération de l'ATP.
- Une agression extrinsèque des hématies correspondant à une hémolyse extracorporelle qui est caractérisée par une agression directe de l'hématie par une toxine bactérienne, animale, chimique ou par un parasite.
- Une rigidité anormale acquise de la membrane du globule rouge cas des anémies hémolytiques auto-immunes.
- Rupture des hématies normales sur un obstacle tel que les prothèses valvulaires (**Thouvenin et Laporte, 2011 ; Maillet, 2006**).

5. Les thromboses :

La thrombose est une masse sanguine solide (thrombus) obstruant la lumière d'un vaisseau sanguin, elle résulte d'une hémostase inappropriée (une interaction anormale du sang avec la paroi vasculaire). Les thromboses sont formées d'agrégats plaquettaires, de fibrilles de fibrines et d'érythrocytes. Les thromboses sont les maladies vasculaires les plus fréquentes. Les maladies thromboemboliques affectent le système veineux (70% des cas) aussi bien que le système artériel (30% des cas) (**Fischer et al., 2014 ; Varet, 2012 ; Jobin, 1995**).

Les thromboses veineuses sont favorisées par la stase ou l'hypercoagulabilité sanguine alors que la lésion pariétale (dysfonction de l'endothélium vasculaire, l'inflammation pariétale, athérosclérose) est l'élément déterminant de la thrombose artérielle. La thrombose veineuse est traditionnellement caractérisée par un thrombus riche en globules rouges et en fibrine, alors que les thrombi artériels, le plus souvent ancrés sur des lésions athéroscléroseuses ou l'inflammation est très présente, sont riches en plaquettes donnant un aspect de thrombus blanc (**Aiach et Guillin, 2006**).

La formation de caillots sanguins est un grave problème de circulation sanguine. Le thrombus ou l'embolie entrave la circulation sanguine en bloquant le vaisseau sanguin, privant ainsi les tissus d'un flux sanguin normal et d'oxygène. Ces conséquences entraînent une nécrose du tissu dans cette zone (**Rajman et al., 2014**).

Le traitement et/ ou la prévention secondaire des thromboses artériels repose sur les antiagrégants plaquettaires puisque les plaquettes jouent un rôle majeur dans la physiopathologie de ces thromboses, alors que le traitement des thromboses veineuses repose sur les anticoagulants (**Fischer et al., 2014**).

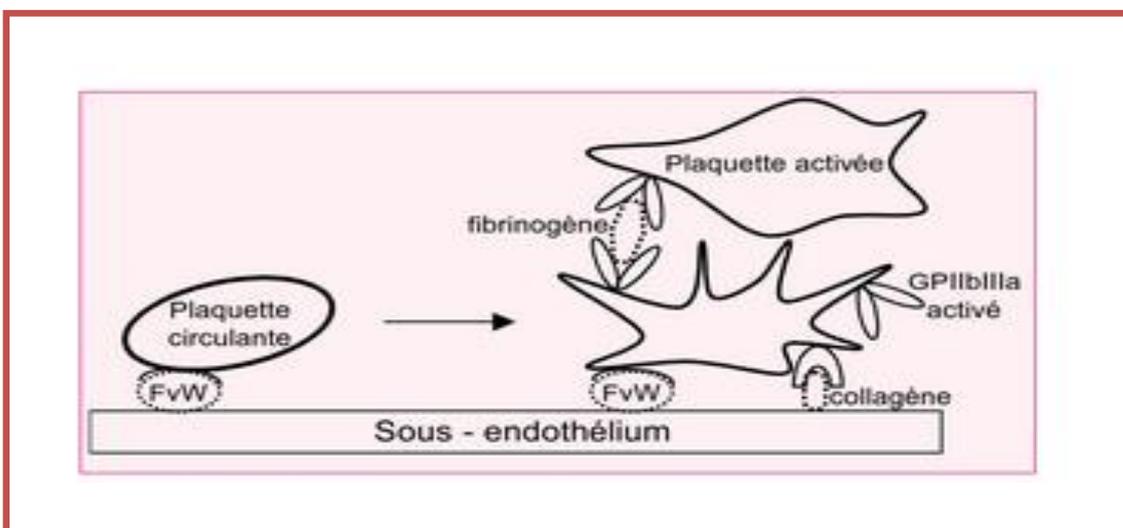


Figure 03 :
adhésion et
agrégation
plaquettaire
(**Aiach et
Guillin,
2006**)

6. Les plantes médicinales :

Depuis la nuit des temps, les plantes ont été utilisées à des fins médicinales et étaient à l'origine d'une grande partie de la médecine moderne (**Edzard et Pittler, 2005**)

Selon l'OMS, dans certains pays en voie de développement d'Asie, d'Afrique et d'Amérique latine, 80% de la population dépend de la médecine traditionnelle surtout en milieu rural du fait de la proximité et de l'accessibilité de ce type de soins au coût abordable et surtout en raison du manque d'accès à la médecine moderne (**Békro et al., 2010**).

Une plante médicinale ou encore drogue végétale est définie par la pharmacopée comme étant une plante dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Lorrain, 2013**).

Ces plantes contiennent une ou plusieurs substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse des drogues utiles (**Abayomi, 2010**). Certaines d'entre elles ne sont pas exclusivement utilisées dans les soins médicaux humains ; mais appliquées également dans la médecine vétérinaire (**Schmelzer et Gurib-Fakim, 2013**).

Les plantes médicinales ne sont pas toujours sans danger, elles paraissent anodines mais peuvent se révéler toxiques ou mortelles, naturelles ou "bio" ne signifient pas qu'elles soient dénuées de toxicité (**Aghandous et Soulaymani-Bencheikh, 2010**).

7. Les huiles essentielles :

7.1. Généralités :

Chaque fois, après avoir écrasé un pétale de fleur, une branchette, ou une quelconque partie d'une plante, un parfum se dégage, cela signifie qu'une huile essentielle (HE) s'est libérée (**Padrini et Lucheroni, 1996**).

L'homme utilisait les huiles essentielles depuis plusieurs centaines d'année (**Baumman, 2015**).

Selon la pharmacopée européenne 2008, une HE est un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas un changement significatif de sa composition.

L'association française de normalisation (**Afnor, 2000**) a défini les huiles essentielles comme étant : des produits obtenus soit à partir de matières premières soit par distillation à l'eau ou à la vapeur, soit à partir des fruits du genre citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques.

Les HE sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluide, souvent colorées et plus légère que l'eau ; elles se distinguent des huiles fixes et des principaux lipides en ce sens qu'elles se volatilisent sous l'action de l'air et de la chaleur. Les HE sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques mais insolubles dans l'eau (**Bardeau, 2009**).

Elles sont obtenues à partir des fleurs, des feuilles, des fruits, des racines, des écorces, de graines, de bourgeons, de brindilles, de bois, de racines ou de rhizomes (**Burt, 2004**).

Ces substances démontrent plusieurs activités biologiques notamment : antibactérienne ; antifongique ; antivirale ; antiparasitaire ; spasmolytique ; anti oxydante ; anti inflammatoire ; analgésique ; antalgique ; sédative ; cicatrisante ; circulatoire ; anti tumorale et anti cancéreuse (**Ficelle, 2019 ; Edris, 2007**).

En outre, ces molécules bioactives affectent plusieurs cibles dans la cellule (**Carson et Hammer, 2011**) et peuvent de ce fait, exercer des effets cytotoxiques sur les cellules eucaryotes en augmentant la perméabilité des membranes mitochondriales externes et internes ce qui provoque la mort cellulaire par nécrose et apoptose (**Amstrong, 2006**).

La toxicité des HE sur les cellules eucaryotes est responsable de leurs effets indésirables sur l'hôte. Les risques sont variés, on note : l'oxydation, l'irritation, la corrosivité, la sensibilisation des cellules, la toxicité aigue sur les organes, la cancérogénicité et la tératogénicité ce qui limite l'utilisation médicinale des huiles essentielles (**Vigan, 2010**).

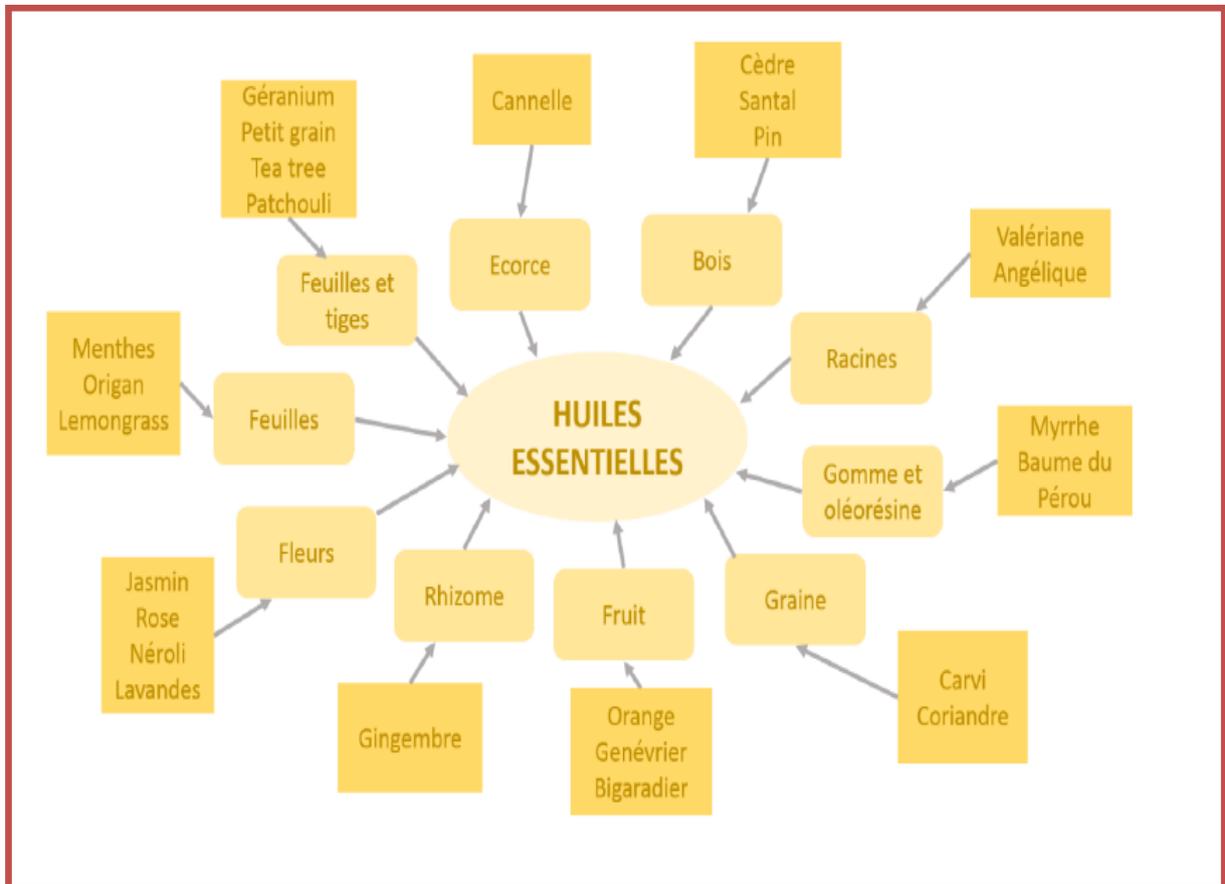


Figure 04 : Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes (**Deschepper, 2015**)

7.2. Procédés d'extraction des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont obtenues par :

- Hydrodistillation
- Distillation sèche
- Procédé mécanique sans chauffage

Il existe cependant d'autres méthodes destinées à des utilisations dans d'autres domaines que la santé. De ce fait, à partir d'une même matière première végétale, une multitude d'extraits différents peuvent être réalisés, parmi lesquels on retrouve les huiles essentielles (**Deschepper, 2015**)

7.2.1. La distillation à la vapeur d'eau :

C'est de loin le procédé le plus répandu datant de plus d'un millénaire, il convient à la majorité des plantes aromatiques et permet de fabriquer les huiles essentielles les plus pures (**Riote, 2015**).

Le procédé consiste à immerger la matière première dans un bain, l'ensemble est porté à ébullition à pression atmosphérique dont la chaleur permet l'éclatement et libération des molécules odorantes contenus dans les cellules végétales. En passant dans un réfrigérant; l'eau se condense et les deux phases sont récupérés dans un erlenmeyer, une aqueuse (hydrolat) et l'autre organique (HE). (Voir Figure N°06) (**Lucchesi, 2005 ; Bachelot et al., 2006**). Le contenu de l'erlenmeyer est transféré dans une ampoule à décanter (voir Figure N°07) qui permet d'éliminer l'eau aromatique et il reste que l'HE (**Willem, 2002**).



Figure N°05: système d'hydrodistillation
(**Brahmi, 2019**).

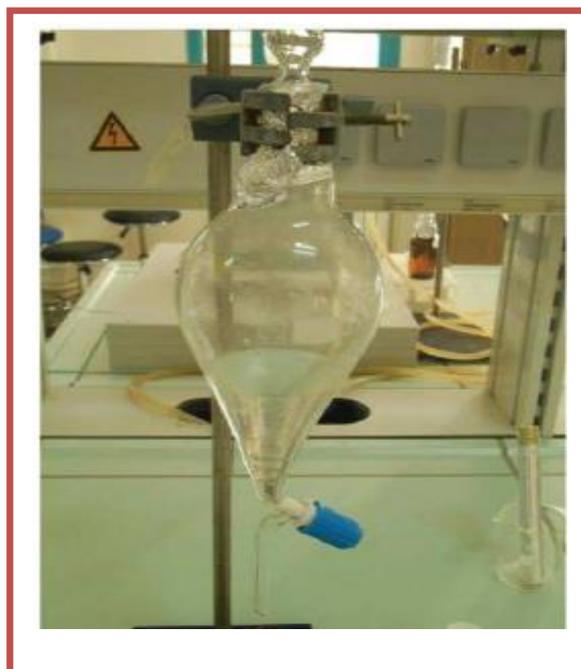


Figure N°06: Ampoule à décanter
(**Brahmi, 2019**).

7.2.2. Entraînement à la vapeur d'eau:

Cette méthode est proche de l'hydrodistillation, la différence fondamentale est basée sur l'utilisation des aérosols de vapeur d'eau et cela représente l'avantage de ne pas mettre en contact l'eau avec des fleurs sensibles qui peuvent perdre leurs principes actifs (**Dumortier, 2006**). Une vapeur d'eau traverse une cuve (l'alambic) remplie de plantes aromatiques. A la sortie de la cuve et sous pression contrôlée, la vapeur d'eau enrichie de principes volatils, se condense et traverse un serpentin. L'eau et l'HE sont recueillis dans un essencier (vase florentin) dont la différence de densité entre les deux liquides permet une séparation aisée de l'HE (**Zhiri et Baudoux, 2005**).

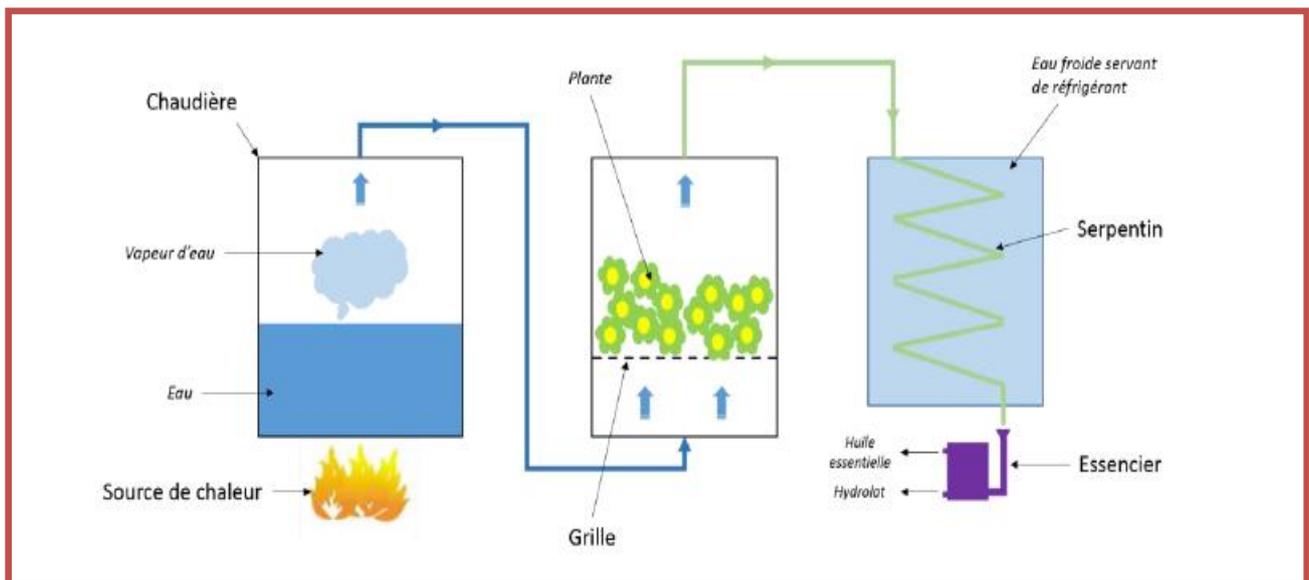


Figure N°07: Montage d'un système d'entraînement à la vapeur (**Deschepper, 2015**).

7.2.3. Distillation sèche

La distillation sèche est une méthode d'extraction des huiles essentielles reconnue par la pharmacopée européenne mais on ne retrouve dans la pratique que peu de documents s'y rapportant. Cette technique, très peu utilisée, consiste en un chauffage doux de la matière première, sans eau ni solvant organique. Les substances volatiles sont ensuite condensées et récupérées.

La température est ici inférieure à 100°C, ce qui limite une nouvelle fois les phénomènes de dénaturation liés au chauffage. L'absence d'eau permet également de préserver les substances volatiles de l'hydrolyse. On obtient par ce procédé une huile essentielle de grande qualité, assez fidèle à l'essence présente dans la plante, mais avec un rendement très faible. C'est donc une méthode qui convient aux matières première particulièrement fragiles (Deschepper, 2015).

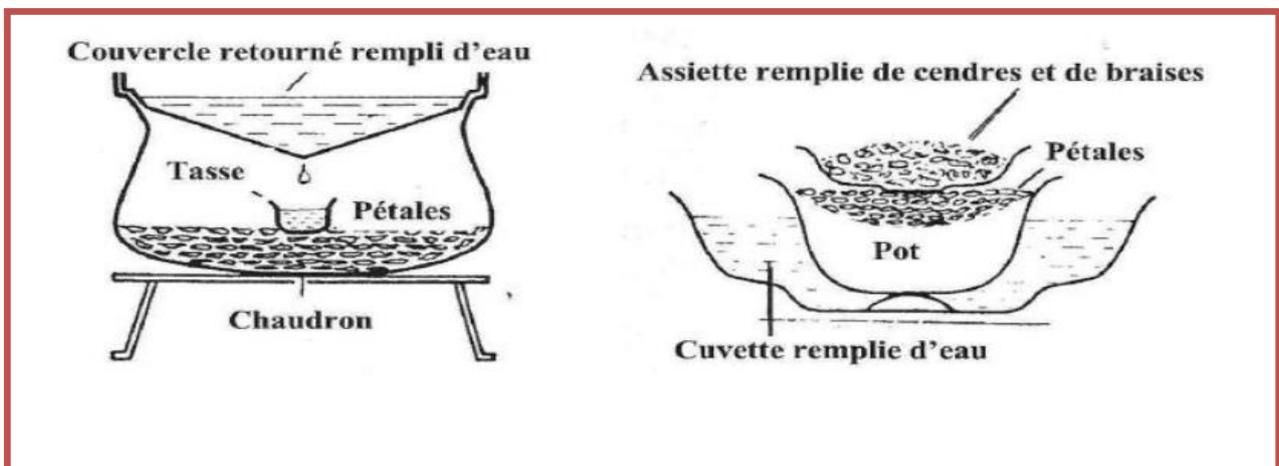


Figure 08 : Schéma d'une installation de distillation sèche (Deschepper, 2015)

7.2.4. La pression à froid :

L'expression consiste à presser la partie de la plante concernée pour récupérer les essences, ce procédé est conçu pour les agrumes dont les huiles sont proches de l'écorce. Les "zestes" sont dilacérés et le contenu de poches sécrétrices rompues est récupéré par un procédé physique qui consiste à exercer, sous un courant d'eau, une action abrasive sur la surface de fruit. Après élimination des déchets, l'HE est séparé par centrifugation (Riotte, 2015 ; Bruneton, 1999).

8. Oranger doux (*Citrus sinensis*) :

8.1. Généralités :

L'oranger (*Citrus sinensis*) est un arbre de croissance rapide de la famille des Rutaceae, du genre *Citrus* qui comporte des arbres et des arbustes aromatiques (Spichiger et al., 2002 ; Donadio, 1999). Il est originaire de la Chine (Bottineau, 2010) et a été introduit par les Portugais au 18^{ème} siècle (Polese, 2008). Cet arbre est maintenant répandu dans le Pacifique, les pays méditerranéens et les régions chaudes du monde (Dinawari et al., 2017).

Les orangers sont des arbres de hauteur de 9 à 10 m, à fleurs et à feuillage persistant avec de grandes épines sur les branches. Les feuilles sont vertes foncées alternes, à pétioles étroitement ailés et émettent une forte odeur caractéristique d'agrumes en raison de la présence d'huile abondante, les fleurs d'un blanc immaculé sont très parfumées, et portent des oranges, le fruit a une pulpe très juteuse divisée en cloisons et en loges, au jus jaune à rouge et à l'écorce jaune tirant sur le rouge (Dinawari et al., 2017 ; Goldhamer et al., 2012). *C. sinensis* représente la plus large variété du genre *Citrus* cultivé autour du monde d'un taux d'environ 70% de la production totale de toutes les espèces du genre (Flamini et al., 2003).

L'oranger permet d'obtenir des aromates, des eaux parfumées et des pâtes de fruits (Allian, 2010).

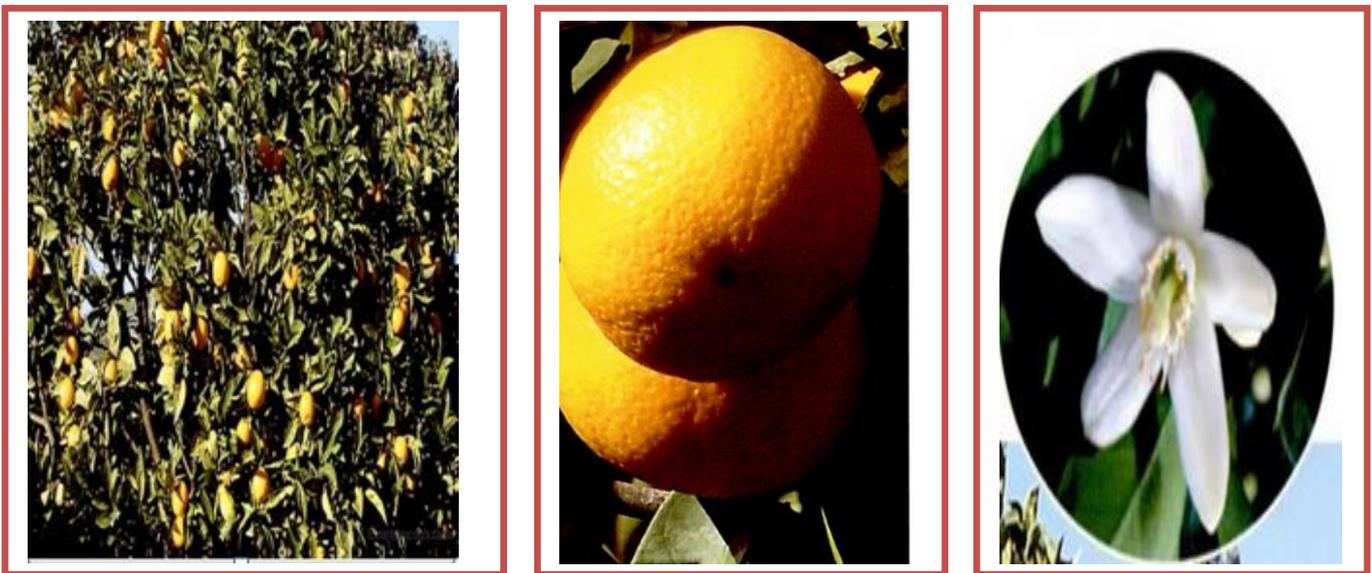


Figure 09: *C. sinensis* (a) ; *C. sinensis* (fruits) (b) ; *C. sinensis* (fleur) (c) (Polese, 2008)

D'un point de vue botanique, les oranges sont des fruits charnus de type baie avec un péricarpe structuré en trois parties bien différenciées : l'épiderme appelé flavédo, le mésocarpe appelé albédo et l'endocarpe (pulpe). L'épiderme est la surface périphérique du fruit. Il est coloré par des pigments caroténoïdes être présente 8 à 10% du fruit. Il contient de nombreuses glandes sécrétrices d'essences aromatiques qui sont réparties de façon irrégulière (Huet, 1991).

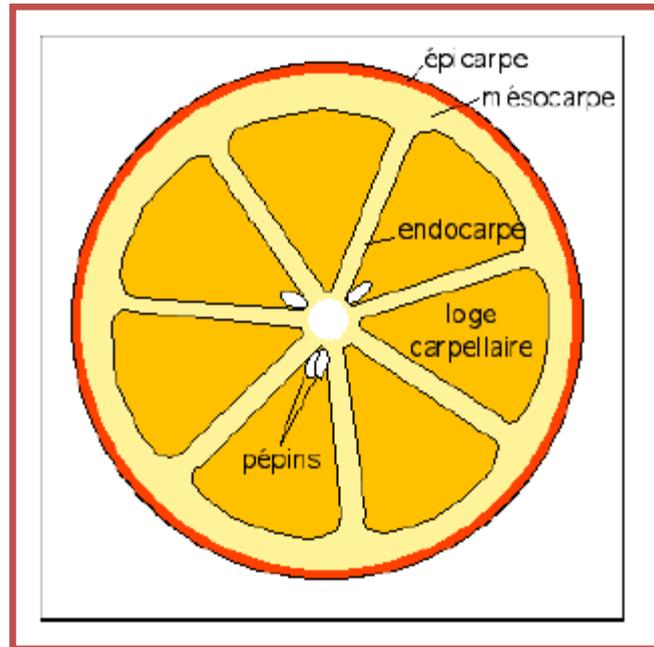


Figure 10: Schéma détaillant la structure du péricarpe de l'orange (Huet, 1991).

8.2. Classification botanique :

Le genre citrus comprend plusieurs espèces, il occupe la première place mondiale parmi les fruits et son importance ne cesse de croître (Guillaume, 2013).

D'après (Milind et al., 2012) , la position taxonomique de *C.sinensis* se présente comme suit :

Règne	Plantea
Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Dicotyledoneae
Sous-classe	Sapindales
Ordre	Rosidae
Famille	Rutaceae
Sous famille	Aurantoideae
Genre	Citrus
Espèce	<i>Citrus sinensis</i>

8.3. composition chimique du fruit d'orange :

Il y a des produits chimiques naturels précieux dans les agrumes, c'est une excellente source de différents éléments et vitamines nécessaires pour le corps humain, y compris les vitamines C, les vitamines B, le potassium, phosphore et autres éléments (**Abobatta, 2019**)

Composants	Teneur
eau	88,4
Protéines (g)	0,8
Acides gras	0,3
Fibres	0,5
Sucre(g)	9,3
Minéraux (g)	0,7
Calcium (mg)	40
Phosphore	30
Fer (mg)	0,7
Vitamine C	50
Energie (Kcal)	40

Tableau 01 : composition chimique du fruit d'orange (**Abobatta, 2019**).

8.4. Composition chimique de l'HE de *C.sinensis* :

L'HE d'orange douce a une odeur douce, fraîche et acidulée, est de couleur jaune à orange. L'analyse qualitative et quantitative par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC / MS) de l'huile essentielle a identifié 115 composés. L'essence d'orange douce (*Citrus sinensis*) se compose principalement de (constituants principaux): limonène (89,547%), β .-myrcène (4,106%), β .-phellandène (1,670%), α .-pinène (1,312%). totalisant environ 98,396% (Boughendjioua et al., 2019)

Composés	Temps de rétention (min)	Pourcentage
α.-Pinene	11.053	1.312%
β.-Phellandrene	13.797	1.670%
β.-Myrcene	15.299	4.106%
α .-Phellandrene	16.090	0.165%
3-Carene	16.405	0.210%
Limonene	18.405	89.547%
δ .-Terpinene	20.329	0.239%
Cyclooctane	21.388	0.159%
1,6-Octadien-3-ol	23.415	0.257%
α .-Terpineol	29.840	0.352%
Decanal	31.178	0.251%
Naphthalene	49.899	0.128%
Total		98.396

Tableau 02 : Composition chimique de l'huile essentielle d'orange douce (*Citrus sinensis*) (constituants principaux) (Boughendjioua et al., 2019).

8.5. Les activités biologiques de l'HE de *C.sinensis* :

L'huile essentielle de *C.sinensis* a démontré plusieurs activités biologiques in vitro et in vivo notamment :

8.5.1. Antimicrobienne :

l'HE que les extraits de l'épicarpe de l'orange ont démontrés une activité antibactérienne contre plusieurs souches pathogènes tels que : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A*, *almonella paratyphi B*, *Shigella flexneri*, *Vibrio cholerae*, *staphylococcus auerus* ; *Mycobacterium tuberculosis* ; *Bacillus cereus* , *Bacillus subtilus*, *Plasmodium berghei* (Awoibi et al., 2019 ; Bozkurt et al., 2017 ; Djenanne, 2015 ; Shalu et al., 2015 ; Obidi et al., 2013 ; Najimu et al., 2013 ; Kirbaşlar et al., 2009 ; Rajarajan et al., 2009; Corona et al., 2008)

8.5.2. Antifongique :

L'huile essentielle de *C. sinensis* possède une activité antifongique sur les pathogènes fongiques tels que : *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* , *candida albicans*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium solani*, *Microsporium canis* (Dias et al., 2019 ; Qadir et al., 2018 ; Garibay et al., 2017 ; Shalu et al., 2015 ; Velázquez-Nuñez et al., 2013 ; Kirbaşlar et al., 2009 ; Rajarajan et al., 2009).

8.5.3. Anti-inflammatoire, antiallergique et analgésique :

Cette huile essentielle provoque une atténuation de la réaction inflammatoire (induite in vivo par : l'administration de l'acétone, trinitrobenzene sulfonic acid TNBS ou bien l'injection de carragénine), une suppression de réactions allergique, une réduction de l'œdème ainsi qu'une baisse de la production du facteur du nécrose tumorale (Khan et al., 2016 ; Bengag et allam, 2015 ; Mitoshi et al., 2014) comme elle réduit significativement le taux de la dénaturation de l'albumine in vitro (Vinodhini et al., 2017), ainsi elle a démontré des propriétés analgésiques (Malleshappa et al., 2018).

8.5.4. Antioxydante :

L'huile essentielle des écorces d'oranges présentent une source riche d'antioxydants naturels et a démontré une capacité importante de piégeage des radicaux libres (Vinodhini et al., 2017 ; Ghulam et al., 2013 ; Hyang-Sook et al., 2000).

8.5.5. Anti thrombotique :

L'huile essentielle de *C.sinensis* allonge le temps de coagulation sanguine et de ce fait elle possède une action protectrice contre les complications des maladies cardiovasculaire essentiellement les thromboses (Vinodhini et al., 2017 ; Hsiu –Fang et al., 2012).

8.5.6. Anticancéreuse :

Le limonène composé de l'HE de *C.sinensis* exerce un effet cytotoxique in vitro sur les cellules tumorales en réduisant leurs prolifération dans le colon, la bouche et la peau (**Monajemi et al., 2005 ; Kurowska et al., 2004**).

8.5.7. Hypolipémiante :

L'administration des extraits éthanoliques des écorces d'oranges chez rats albinos sous régime riche graisses a réduit significativement le poids corporel, le poids du foie ainsi que le taux du cholestérol et du triglycérides (**Ezekwesili-Ofilé et Gwacham, 2015**).

8.5.8. Anti hémolytique :

L'HE des écorces de *C. sinensis* réduit le taux d'hémolyse provoqué in vitro en stabilisant la membrane des hématies (**Qadir et al., 2018; Vinodhini et al., 2017**).

8.5.9. Anti acétylcholinestérase :

l'HE de *C.sinensis* peut être un médicament candidat employé comme inhibiteur naturel de l'anti acétylcholinestérase (**Boughendjioua et al., 2019**)

8.5.10. Autres activités biologiques :

De nombreux travaux ont révélés d'autres vertus de l'utilisation de l'huile essentielle de *C.sinensis* notamment comme :

Un anxiolytique (**Mannucci et al., 2018**), un hypoglycémiant (**Mallik et Khan, 2014**), un bio insecticide (**Akono et al., 2016 ; Akhal et al., 2014**), un larvicide (**Elakhal et al., 2015**).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. L'objectif :

Notre travail a pour objectif d'évaluer quelques activités biologiques in vitro de l'HE extraite des écorces fraîches de *C.sinensis* notamment l'activité anti inflammatoire, activité anti hémolytique et l'activité anti thrombotique.

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée au niveau du laboratoire de l'université tandis que les activités on été testées au laboratoire du polyclinique Nord de l'établissement publique de santé de proximité à Saida.

2. Matériel végétal :

Les écorces fraîches d'orange ont été obtenues à partir d'oranges fraîches (*Citrus sinensis*) achetés sur le marché local de la wilaya de Saida (cité Zitoune).

Les oranges ont été lavées et pelées, puis les pelures ont été coupées en 1 cm Pièces carrées (Djennane, 2019).



Figure 11: oranges fraîches

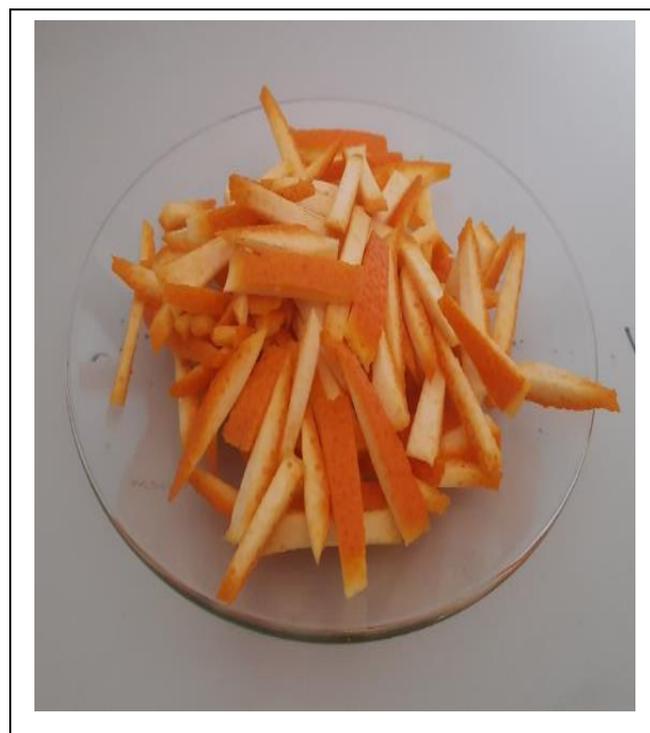


Figure 12: écorces d'orange

3. Extraction des huiles essentielles :

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par la méthode de l'hydrodistillation dont le protocole consiste à introduire 30 g d'écorce fraîches dans un hydrodistillateur de type Clevenger avec 500 ml d'eau. L'ensemble est porté à ébullition pendant 3 à 4 heures. La vapeur émise sera condensée grâce à un système de refroidissement à eau, puis elle sera collectée dans un flacon opaque. A la fin de l'expérimentation, on obtient un distillat composé de deux phases l'une est organique (HE) et l'autre est aqueuse (eau aromatique). Ces dernières vont être séparées par décantation pour obtenir l'HE (Nazlina et al., 2017)



Figure 13 : Hydrodistillation



Figure 14 : Ampoule à décanter

4. La conservation de l'huile essentielle obtenue :

L'huile essentielle (HE) extraite est conservée à une température voisine de 4°C, dans un flacon en verre fermé et bien enveloppé par un papier aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière (Vinodhini et al., 2017).



Figure 15 : huile essentielle de *C.sinensis* obtenue après extraction.

5. Détermination du rendement d'extraction :

Le rendement en huile essentielle a été déterminé par rapport à la matière sèche, c'est le rapport entre le poids d'huile extraite et celui de la matière végétale utilisée (Bssaibis et al., 2009). Il est exprimé par la formule suivante :

$$R (\%) = M \times 100 / M_0$$

Dont :

R (%) : Rendement en huile essentielle de la matière végétale.

M : quantité d'huile récupérée exprimée en g.

M₀: quantité de la matière végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g.

6. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'huile de *C. sinensis* :

A fin d'évaluer les propriétés anti-inflammatoire *in vitro*, de l'huile essentielle de *citrus sinensis*, le modèle de la dénaturation de l'albumine a été choisi dans cette étude.

Le principe de cette technique est basé sur la capacité de l'HE à réduire la dénaturation thermique du sérum d'albumine bovine (**Bouhlali et al., 2016**).

6.1. Mode opératoire :

Le mélange réactionnel était composé d'huile essentielle à différentes concentrations (20-100 µl) et de 1 millilitre (ml) d'une solution aqueuse à 2 % d'albumine bovine. Les échantillons ont été incubés à 37 ° C pendant 20 minutes (min) puis chauffés à 57 ° C pendant 20 min. Après refroidissement des échantillons, la turbidité a été mesurée par spectrophotométrie à 660 nm. L'expérience a été réalisée en trois exemplaires (**Vinodhini et al., 2017**). Les tests ont été réalisés en triplicata.

. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé comme suit:

$$\text{Pourcentage d'inhibition}\% = \frac{(\text{Absc ontrole} - \text{Abs échantillon}) \times 100}{\text{Abs controle}}$$

Abs : absorbance.

7. Evaluation de l'activité anti hémolytique in vitro :

Dans le présent travail, le recours à l'utilisation des globules rouges vise à étudier *in vitro* l'effet protecteur probable de l'huile essentielle d'orange sur la préservation de l'intégrité cellulaire vis-à-vis l'attaque par le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

7.1. Mode opératoire :

Les échantillons de sang veineux humain ont été prélevés dans des tubes EDTA d'adultes en bonne santé et bien nourris (25-30 ans). Les tubes ont été ensuite centrifugés à 1500 tour (tr) / min pendant 10 min. En outre, le plasma a été jeté des tubes et les globules rouges décantés ont été lavés trois fois avec une solution saline (0,9% NaCl). Ensuite, les globules rouges ont été dilués avec du tampon phosphate salin pour donner une suspension à 4% (v/v). Différentes concentrations de l'essentiel de *C. sinensis* (20-100 µl) ont été ajoutées à 2,0 ml de suspension d'érythrocytes puis le volume a été porté à 5,0 ml avec une solution saline. Ce mélange a été pré-incubé pendant 5 min à température ambiante, puis 0,5 ml de solution de H₂O₂ a été ajouté pour induire une dégradation oxydative de la membrane lipidique. Les tubes ont été incubés pendant une heure. Ensuite le mélange réactionnel a été centrifugé à 1500 tr / min pendant 10 min. finalement, l'étendue de l'hémolyse a été mesurée par spectrophotométrie à 540 nm (Qadir et al., 2018). Les tests ont été réalisés en triplicata.

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé à l'aide de la formule:

Pourcentage d'inhibition = [ABS contrôle - ABS échantillon / ABS contrôle] × 100.

8. Evaluation de l'activité anti thrombotique :

Dans le présent travail, on a évalué le potentiel probable de l'HE de *C.sinensis* à dégrader la fibrine principal constituant des caillots sanguins.

8.1. Mode opératoire :

Environ 3 ml de sang frais ont été prélevés sur des volontaires (n = 4) et immédiatement distribués dans différents tubes de micro centrifugation stériles pré-pesés (0,5 ml / tube). Les tubes ont été incubés à 37 ° C pendant 45 min. Après la formation du caillot, le sérum a été complètement éliminé (aspiré sans perturber le caillot formé) et chaque tube ayant un caillot a été à nouveau pesé pour déterminer le poids du caillot (poids du caillot = poids du caillot contenant- le poids du tube du tube seul).

Une concentration d'environ **20 à 100 µL** d'huile a été ajoutée au tube de caillot, 100 µL d'eau distillée dans un tube de caillot servent de contrôle négatif. Tous les tubes ont été incubés à 37 ° C pendant 90 min et observés pour la lyse du caillot. Après l'incubation, le liquide libéré a été retiré et les tubes ont à nouveau été pesés pour observer la différence de poids après la rupture du caillot (**Shahriar et al., 2018**)

Le pourcentage de la lyse a été calculé suivant la formule suivante :

Le pourcentage de lyse du caillot = (Poids du caillot avant lyse - Poids du caillot après lyse) / Poids du caillot avant lyse × 100

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

1. Le rendement en huiles essentielles:

L'HE a été extraite à partir d'une matière végétale fraîche (*C.sinensis*) et le rendement a été calculé par rapport à la matière végétale fraîche. Les résultats obtenus en montrent un rendement de l'ordre de 0,62% en HE des écorces d'orange doux pour la technique d'extraction qui est l'hydrodistillation.

2. L'évaluation de la l'activité anti-inflammatoire in vitro :

Les résultats de l'inhibition de la dénaturation du sérum d'albumine bovine par l'HE de *C.sinensis* sont représentés dans la figure suivante :

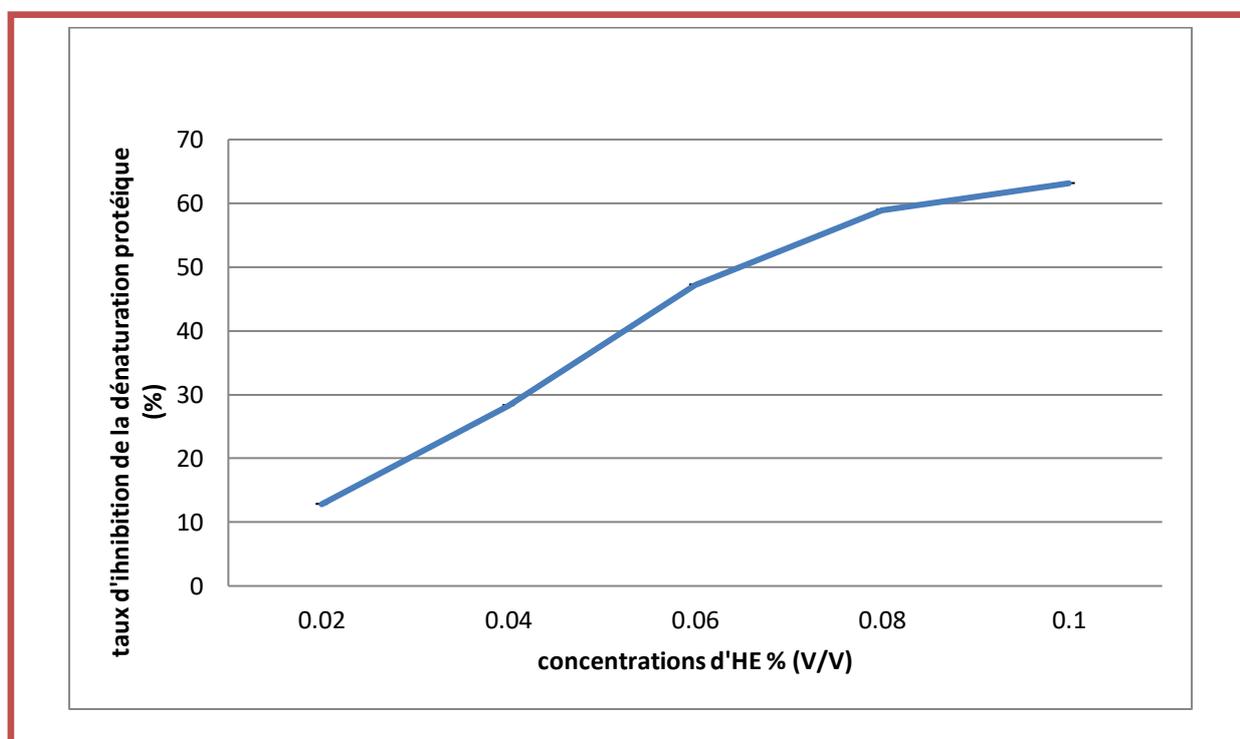


Figure 16 : Taux d'inhibition de la dénaturation de la BSA par l'HE de *C.sinensis*

La capacité de l'huile à inhiber la dénaturation des protéines a été étudiée. On a constaté que l'huile essentielle de l'écorce de *C. sinensis* était efficace pour inhiber la dénaturation de l'albumine induite par la chaleur à différentes concentrations. L'inhibition de la dénaturation est concentration dépendante. A une concentration de 100 μ l, le taux d'inhibition de la dénaturation protéique était de 62%. On a pu calculer la valeur de la concentration inhibitrice médiane (IC50) qui a été de l'ordre de 80 μ l.

3. Évaluation de l'activité anti hémolytique :

À fin d'étudier l'effet de l'HE de *C.sinensis* sur les globules rouges, un test de stabilisation membranaire de globules rouges humains a été réalisé. Ces dernières sont soumises à des conditions de stress oxydant provoquer par l'ajout du H₂O₂ les espèces réactives oxygénées ainsi formés conduisent à des altérations membranaires et par conséquent une hémolyse. Les résultats sont représentés dans la figure 17.

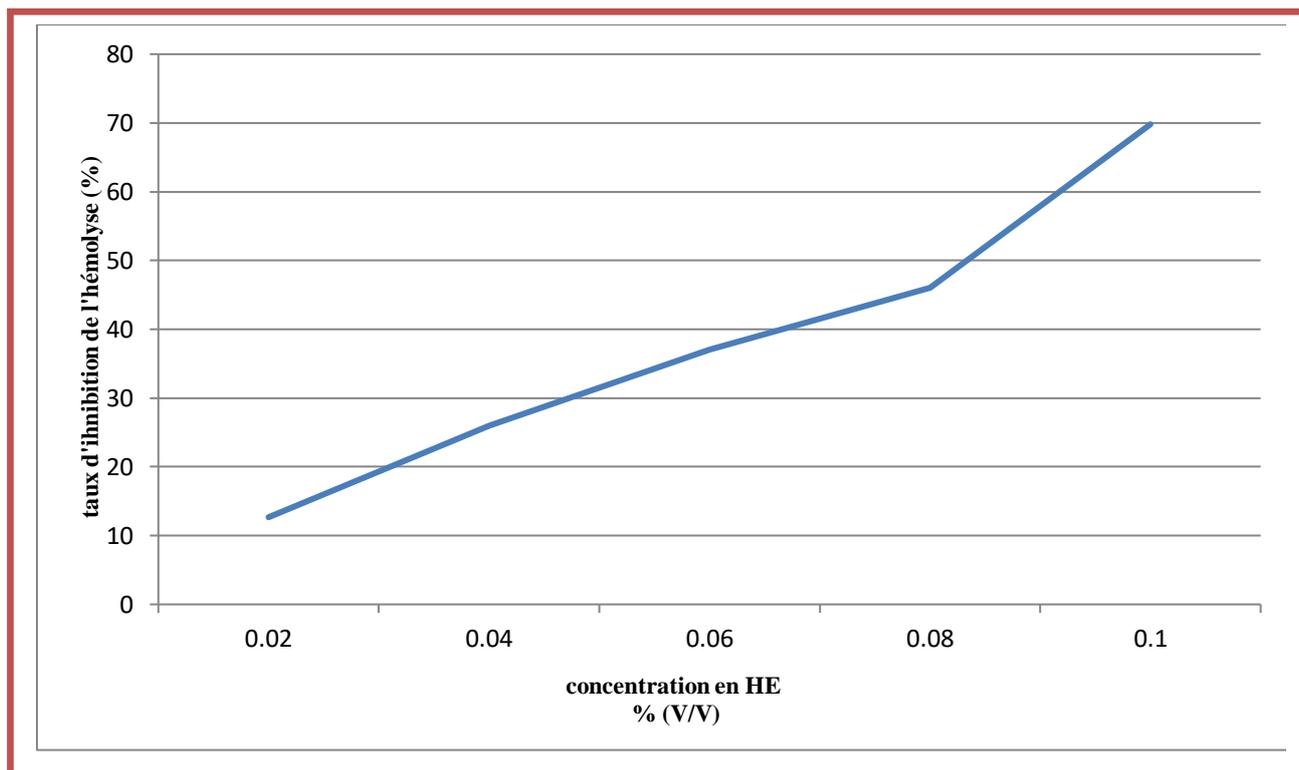


Figure 17 : Taux d'inhibition de l'hémolyse des globules rouges induit par le H₂O₂.

On a remarqué que l'huile essentielle de *C.sinensis* possède un effet protecteur significatif contre l'hémolyse induit par le H₂O₂. Cet effet est dose dépendant. A une concentration de 100 µl d'HE le taux d'inhibition de l'hémolyse était de 70%. La valeur IC 50 de L'HE extraite de l'écorce d'orange est estimée à 71 µl.

4. Evaluation de l'activité anti thrombotique :

Les résultats ont montrés que l'augmentation de la concentration de l'HE accentue l'activité de lyse des caillots. L'activité antithrombotique dépend de la dose. L'huile essentielle de *C. sinensis* à une concentration maximale de 100 µl a démontré une lyse du caillot d'environ 38 % (figure 18). En revanche, les caillots traités avec 100 µl d'eau distillée stérile n'ont montré qu'une lyse négligeable des caillots (10%).

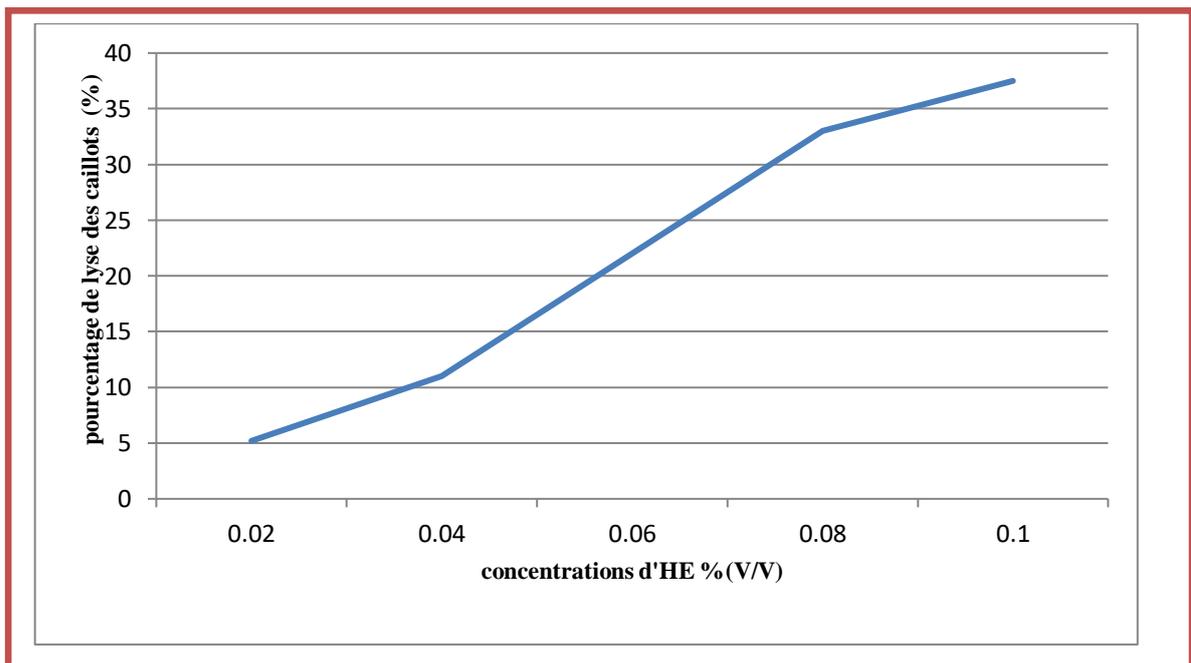


Figure 18 : Taux de lyse des caillots sanguins par l'HE de *C.sinensis*

DISCUSSION

Discussion :

Malgré la disponibilité et l'innovation de la technologie et de la médecine moderne, les pratiques traditionnelles ont toujours une importance primordiale pour traiter diverses maladies dans le monde. Les substances bioactives provenant de l'alimentation jouent un rôle important dans la santé humaine et dans le traitement de certaines maladies chroniques, notamment les arthrites, les maladies cardiovasculaires ... etc (**Chaudhari et al., 2019**).

Les vertus des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles et des applications sans bases scientifiques précises (**Brahmi, 2019**).

Les composés bioactives des agrumes (genre citrus) présentent des propriétés antibactériennes, antivirales, antifongiques, anticarcinogéniques, antithrombotique et anti-inflammatoires. Ces composés actifs sont des phénols, des caroténoïdes, des phytoestrogènes et des sulfures ayant potentiel antioxydant qui sont marqués comme promoteur de la santé en raison de leur large spectre dans le corps humain (**Abobatta, 2019**).

Le présent travail s'inscrit dans le but la mise en évidence de quelques activités biologiques des huiles essentielles de l'espèce la plus répandu du genre citrus le *citrus sinensis* dont beaucoup de travaux ont dévoilé ses divers effets thérapeutiques.

- Le rendement en huile essentielle :

L'huile essentielle de *citrus sinensis* a été obtenue par hydrodistillation avec un rendement de 0,62%, ceci est en accord avec les travaux de **Djenane, 2018** qui a rapporté des valeurs comprise entre 0,50 à 0,70 % pour une variété algérienne d'oranges et l'étude faite par **Qadir et al., 2018** qui ont noté un rendement de 0,65%. En revanche les données enregistrés ne concordent pas avec celles de **Ghulam et al., 2013** qui ont mentionnés un rendement de 0,24 % et celles de **obidi et al., 2013** qui ont enregistrés un rendement de 0,46 % .

En outre, **Egharevba et al., 2016** ont rapporté un rendement de 0,78%. Cette différence en rendement peut être attribuée à plusieurs facteurs dont essentiellement, l'origine, l'espèce, la période de récolte, la durée de séchage et la technique d'extraction des huiles essentielles (**Karousou et al., 2005**).

- L'activité anti-inflammatoire :

L'inflammation est une réponse physiologique à une variété d'agents, y compris microorganismes infectieux, produits chimiques toxiques composés et blessures physiques. Il existe de nombreuses maladies qui sont associées au processus d'inflammation telles que l'arthrite et le diabète, la maladie d'Alzheimer et le cancer. De nombreux médicaments sont disponibles pour prévenir ou minimiser la progression de l'inflammation; ils comprennent des anti-inflammatoires non stéroïdiens médicaments et corticostéroïdes, mais ils ont des effets secondaires. La médecine traditionnelle offre de nombreuses opportunités en matière de soins de santé.les huiles essentielles sont utilisées dans ce contexte pour traiter de nombreuses maladies (**Dragomanova et al., 2019 ; Pérez et al., 2011**).

Nos résultats approuve que l'huile essentielle de *C.sinensis* est dotée d'un pouvoir anti-inflammatoire important, ceci affirme les résultats obtenus par **Vinodhini et al., 2017** qui ont rapporté une IC 50 équivalente à 64 µl et **jazet Dongmo et al., 2008** dont l'activité anti-inflammatoire a été testée en utilisant la méthode enzymatique par la lipoxigénase; la CI50 était de 20,3 mg / L.

En outre, plusieurs études réalisées in vivo ont démontrés l'effet anti-inflammatoire marqué de l'HE et des extraits aqueux ethanologiques et méthanologiques des épicarpes d'orange sur l'œdème de la patte induit par la carraghénine chez le rats (**Malleshappa et al., 2018 ; Osarumwense, 2017 ; Bengag et Allam ; 2015 ; Mitoshi et al., 2013**). Ainsi il a été prouvé que le limonène composé majoritaire de l'huile essentielle de *C.sinensis* présente une activité anti migratoires sur les macrophages et cela en inhibant les médiateurs pro-inflammatoires présents dans l'inflammation exsudative tels que les cytokines chimiotactiques. De plus, l'HE a régulée la production de cytokines inflammatoires, facteur de nécrose tumorale α , interleukine 6 et 1β (**Kummer et al., 2013 ; Min-Jin et al., 2013**).

- L'activité anti-hémolytique :

L'action anti hémolytique in vitro de notre extrait a été évaluée par l'utilisation des érythrocytes qui constituent un modèle cellulaire très adéquat pour l'étude du stress oxydant. En raison de la richesse de leurs membranes en acides gras polyinsaturés et la concentration cellulaire élevée en oxygène et en l'hémoglobine, ces cellules sont extrêmement susceptibles aux endommagements oxydatifs (**Arbos et al., 2008**). De plus, les érythrocytes sont facile à isoler du sang et leurs membrane est similaire à d'autres membranes cellulaire (**Shobana et Vidhya, 2016**). Les globules rouges sont un outil précieux pour l'étude des transports ioniques transmembranaires via la membrane érythrocytaire (**Wajeman et al, 1992**).

Si les globules rouges (RBC) sont exposés à des substances nuisibles telles que le milieu hypotonique alors la rupture de sa membrane se produira, provoquant la libération de l'hémoglobine et d'autres composants internes dans le fluide environnant (**Rahman et al., 2015**).

La protection de la membrane érythrocytaire du sang humain par l'HE de *C.sinensis* a été testée contre la lyse évoquée par une solution hypotonique. D'après les résultats, on a constaté que tous les extraits d'écorces d'agrumes ont montré une protection notable des globules rouges humains contre l'effet néfaste de la solution hypotonique dans une manière qui s'est avéré la plus élevée à une concentration de 100 µl.

Les résultats notés sont accord avec ceux acquis par **Vinodhini et al., 2017** qui ont obtenus un taux d'inhibition d'hémolyse de 68% à une dose d'HE de 100 µl.

En outre, **Azantsa et al., 2019** ont mentionnés un taux de protection contre l'hémolyse de 87,7% et cela par l'extrait aqueux des pelures d'oranges et **Malleshappa et al., 2018** ont rapporté un taux de 80% par l'extrait éthanolique des écorces d'oranges.

- **Activité anti thrombotique :**

Les agrumes sont connus par leurs activités biologiques bénéfiques pour le corps humain, ils sont disponibles toute l'année et représentent une source riche de flavonoïdes, de caroténoïdes et de composés bioactifs qui sont utilisés dans le traitement de l'hypertension et des maladies cardiaques (**Abobatta, 2019**).

Les maladies cardiovasculaires représentent l'une des plus notables problèmes de santé de la civilisation moderne. Arrêt vasculaire cérébrale et crise cardiaque conduit souvent à une issue mortelle; problème essentiel en dessous se trouve la formation de thrombus. Ainsi, l'application d'espèces végétales et plantes médicinales en prévention la formation de thrombus présente un intérêt (**Bojic et al., 2019**).

La présente étude a été menée pour étudier l'activité thrombolytique d'HE des pelures de *C. sinensis*. Les résultats obtenus coïncident avec celles de **Assefa et al., 2016** qui ont noté un taux de lyse des caillots sanguins de 41 %. En outre **Najnenn et al., 2018** ont rapporté un faible pourcentage de lyse du caillot par l'extrait méthanolique de la peau de *C. sinensis* équivalent à 26,96%. En revanche, **Biswas et al., 2018** ont mentionnés un taux de lyse de seulement 4,79 % pour une dose d'extrait méthanolique de 100 $\mu\text{mg/ml}$. On peut expliquer ces différences par la variation des composés bioactives extraites par différentes méthodes d'extractions (**Anagnostopoulou et al., 2006**)

CONCLUSION

Conclusion :

Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressés à l'étude des activités anti-inflammatoire, anti-hémolytique et thrombolytique de l'huile essentielle extraite des épicarpes d'oranger doux (*C. sinensis*).

-Ce travail nous a permis en premier lieu de maîtriser les plus simples techniques analytiques en passant de l'extraction des huiles essentielles à partir de la matière végétale par hydrodistillation.

Les résultats obtenus de ce présent travail démontrent que les HE de *C.sinensis* possède un effet anti-inflammatoire puissant puisque l'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine était de 62 %. Quand à la stabilisation de la membrane plasmique cette HE a prouvé un effet protecteur significatif, l'inhibition de l'hémolyse était de 70 %. L'activité antithrombotique était la moins marquée avec un taux de 38%.

En conséquence, des recherches plus approfondies peuvent être nécessaires pour parvenir à des conclusions concrètes sur les résultats de la présente étude. Cependant, l'isolement de nouveaux composés bioactifs et l'évolution de leur mode d'action et de leur profil de toxicité chronique pourraient être les prochaines étapes à suivre pour éventuellement trouver de nouveaux composés menés. La plante peut être soumise à un dépistage supplémentaire contre diverses maladies afin de découvrir son efficacité inexplorée et peut être une source potentielle de médicaments candidats chimiquement intéressants et biologiquement importants.

A Cet effet, ces résultats ouvrent de larges perspectives pour d'autres études afin de :

- Déterminer les molécules bioactives responsables des activités testés.
- Évaluer leurs activités *in vivo* en étudiant la toxicité.
- Déterminer leurs mécanismes et leurs modes d'action.
- Evaluer d'autres activités biologiques : antitumorale, anticancéreuse,...etc

Références bibliographiques :

A

Abayomi Sofowora, Plantes Médicinales Et Médecine Traditionnelle d'Afrique, Edition Karthala 2010 Page 22.

Abobatta, Waleed Fouad 2019. Nutritional Benefits of Citrus Fruits. American Journal of Biomedical Science & Research ISSN: 2642-1747.

Adams James G., 2012. Emergency Medicine E-Book: Clinical Essentials Elsevier Health Sciences, 5 Sept. 2012 - 1888 Pages.

AFNOR 2000. Huiles Essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome 1- Echantillonnage Et Méthodes D'analyses 471 P. Tome 2- Volume 1 Monographie Relative Au Huiles Essentielles 323 P. Tome 2- Volume 2 Monographie Relative Aux Huiles Essentielles 663p.

Aghandous, R. Soulaymani-Bencheikh, 2010. Epidémiologie Et Stratégie Nationale De Lutte Contre Les Intoxications Au Monoxyde De Carbone, Actes Du 3 Eme Congrès International De Toxicologie Fès.

Alan Stevens, James Lowe, Barbara Young, 2004. Anatomie Pathologique De Boeck Supérieur- 304 Pages.

Allian Yves-Marie, De L'orangerie Au Palais De Cristal Une Histoire Des Serres Edition Quae, 2010.

Arias BA, Ram´on-Laca L (2005) Pharmacological properties of citrus and their ancient and medical uses in the Mediterranean region. Journal of Ethnopharmacology 97: 89–95.

Armstrong, J.S., 2006. Mitochondrial Membrane Permeabilization: The Sine Qua Non or Cell Death. Bioessays 28, 253–260.

Arrigo, A.P. 2005. Chaperons moléculaires et repliement des protéines : L'exemple de certaines protéines de choc thermique. *M/S : médecine sciences*, 216-7: 619–625.

Awoibi Kristhien, Akio Blessing, Obiajunwa Kelechi O., Nwanjo U. H., Nwosu Benson Toxicological And Antiplasmodial Suppressive Activities Of Ethanolic Extracts Of Orange

(Citrus Sinensis) Peels, Grape (Citrus Paradisi) Andguava (Psidium Guajava)Leaves In Albino Rats International Journal Of Engineering Science Invention (IJESI) ISSN (Online): 2319 – 6734.

Awraris Derbie Assefal • Eun Young Ko1 • So Hyun Moon1 • Young-Soo Keum1, 2016. Antioxidant and antiplatelet activities of flavonoid-rich fractions of three citrus fruits from Korea. 3 Biotech (2016).

B

Bardeau Fabrice, 2009. Les Huiles Essentielles Edition Lanore, Page 33

Barone, G., Giancola, C et Verdoliva, A. (1992). DSC studies of the denaturation and aggregation of serum albumin. *Thermochim Acta*, 199: 197-205

Baumann Alexandre, Science Et Huiles Essentielles Edition L'harmattan,2015 Page 11 .

Baumann Alexandre,2015. Science et huiles essentielles édition l'harmattan, page 11.

Bengag Amin* And Allem Rachida, Anti-Inflammatory Activity Citrus Essence (C. Sinensis And C. Aurantium) Local To Chlef Region (Algeria): In Vivo Study Biomol Res Ther.

Bernard Devulder, Médecine Vasculaire, Elsevier Masson, 2004 - 498 Pages

Bernard Devulder, Médecine Vasculaire, Elsevier Masson, 2004 - 498 Pages

Bernard Weill, Frédéric Batteux De Boeck Supérieur, Immunopathologie Et Réactions Inflammatoires 12 Mars 2003 - 312 Pages

Berrebi William, Diagnostics Et Thérapeutique De Poche: Guide Pratique Du Symptôme A La Prescription, Edition Armando Editore, 2009 - 1826 Pages Page 592.

Bezeaud A;Clauvel J.P;Guillin M.C ; Lefrère F ; Lévy J.P;Varet B.(2001).Hématologie et transfusion .Edition: Masson.Paris

Boris G. K. Azantsa1, Mary-Ann A. Mbong1, Guy RN Takuissu1, Rosane S. Matsinkou1, Imelda L. N. Djuikoo1, Janvier F. Youovop1, Judith L. Ngondi1 & Julius E. Oben1, 2019. Anti-hemolytic, Anti-lipid Peroxidation and Antioxidant Properties of Three Plants Locally Used to Treat Metabolic Disorders: *Allium sativum*, *Persea americana* and *Citrus sinensis*

Botineau Michel, 2010. Botanique Systématique Et Appliquée Des Plantes A Fleurs Edition 2010 Page 779

Boughendjioua Hicham, Abdarraouf Hafsa and Alaeddine Kadach, 2019. Antiacetylcholinesterase Activity Of Sweet Orange (*Citrus Sinensis*) Essential Oil From Algeria. Algerian Journal Of Natural Products Online ISSN: 2353-0391.

Bouhassira, B. Calvino Arnette, Douleurs : Physiologie, Physiopathologie Et Pharmacologie 2009 - 384 Pages

Bozkurt Taner, Osman Gülnaz, Yıldız Aka Kaçar Chemical Composition Of The Essential Oils From Some Citrus Species And Evaluation Of The Antimicrobial Activity IOSR Journal Of Environmental Science, Toxicology And Food Technology (IOSR-JESTFT) E-ISSN: 2319-2402, P- ISSN: 2319-2399. Volume 11.

Brahmi mustapha, 2019. Evaluation des Effets prophylactique de l'administration d'un extrait de *Mentha Spicata* (menthe verte) chez les rats wistar Co-exposés au plomb et manganèse. Etude biochimique, histologique et neurocomportementale. Thèse de doctorat.

Burt S. 2004. Essential Oils: Their Antibacterial Properties And Potential Applications In Foods – A Review- International Journal Of Food An Microbiology.

C

Carson, C.F., Hammer, K.A., 2011. Chemistry And Bioactivity Of Essential Oils.

Chapel Helen, Mansel Haeney, Siraj Misbah, Neil Snowden, 2004. Immunologie clinique: De la théorie à la pratique, avec cas cliniques édition boeck 4^{ème} édition.

Claude Martin, Benoît Vallet, Bruno Riou Arnette - John Libbey Eurotext, Physiologie Humaine Appliquée (2e Edition) 2017 - 914 Pages Page 137.

Claude Martin, Benoît Vallet, Bruno Riou Arnette - John Libbey Eurotext, Physiologie Humaine Appliquée (2e Edition) 2017 - 914 Pages Page 137

Corona María Del Rayo Camacho, Mónica A. Ramírez-Cabrera, Omar González-Maria José Velázquez-Nuñez A, Raúl Avila-Sosa B, Enrique Palou A, Aurelio López-Malo A, 2008. Antifungal Activity Of Orange (*Citrus Sinensis* Var. Valencia) Peel Essential Oil.

Codine Philippe, Nelly Kotzki, Jacques Pélissier, 2005. coagulation, thrombose et médecine physique Elsevier Masson - 114 pages

Couplan François, 2009. Le Régál Végétal: Plantes Sauvages Comestibles Editions Ellebore, 2009 - 527 Pages

Couplan François, 2009. Le Régál Végétal: Plantes Sauvages Comestibles Editions Ellebore, 2009 - 527 Pages

Cuman1, 2013. Evaluation of Anti-Inflammatory Activity of *Citrus latifolia* Tanaka Essential Oil and Limonene in Experimental Mouse Models. Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2013, Article ID 859083, 8 pages.

D

Dahmani, G. A. Orliaguet, P. G. Meyer, S. Blanot, D. Renier, P. A. Carli, 2000. Perioperative blood salvage during surgical correction of craniosynostosis in infants, BJA: British Journal of Anaesthesia, Volume 85, Pages 550–, 555

Deschepper Robin, 2015 Variabilité De La Composition Des Huiles Essentielles Et Intérêt De La Notion De Chémotype En Aromathérapie Université D'aix-Marseille – Faculté De Pharmacie – 27 Bd Jean Moulin – Cs 30064 - 13385 Marseille Cedex 05 – France

Deschepper Robin, 2015 Variabilité De La Composition Des Huiles Essentielles Et Intérêt De La Notion De Chémotype En Aromathérapie Université D'aix-Marseille – Faculté De Pharmacie – 27 Bd Jean Moulin – Cs 30064 - 13385 Marseille Cedex 05 – France.

Devulder Bernard, 2004. Médecine vasculaire, Elsevier Masson- 498 pages

Diasa. A.L.C W. C. Sousaa, H. R. F. Batistaa, C. C. F. Alvesa, E. L. Souchiea, F. G. Silva , P. S. Pereiraa, E. M. Sperandioa, C. M. Cazalb , M. R. Forimc And M. L. D. Mirandad, 2019. Chemical Composition And In Vitro Inhibitory Effects Of Essential Oils From Fruit Peel Of Three Citrus Species And Limonene On Mycelial Growth Of Sclerotinia Sclerotiorum Brazilian Journal Of Biology.

Didelon Jacques, 2001. Automatisation Et Validation D'un Test De Fragilité Des Hématies Par Hémolyse Lente Editeur Inconnu, 2001 - 178 Pages

Dinawari.A.H, A.Ibn Al-Wafid, A.Z.M Ibn El-Awwam, A.I.M Al-Ghafiqi , A.A.A. Al-Nabati, A .M.A Les Fondateurs De La Botanique Ibn Al-Baitar Édition 2017 Page 122.

Djenane Djamel, 2015. Chemical Profile, Antibacterial And Antioxidant Activity Of Algerian Citrus Essential Oils And Their Application In *Sardina Pilchardus*. *Foods* 2015, 4, 208-228.

Donadio LC. Orange Pear. Jaboticabal: FUNEP; 1999.

DUMORTIER DORA 2006. Contribution à l'amélioration de la qualité de l'huile essentielle d'*ylang-ylang* (*Cananga odorata* (Lamarck) J.D. Hooker et Thomson variété *genuina*) des Comores. En vue de l'obtention du grade de Bio ingénieur.

E

Edris Amr E., 2007. Pharmaceutical And Therapeutic Potentials Of Essential Oils And Their Individual Volatile Constituents: A Review *PHYTOTHERAPY RESEARCH* *Phytother. Res*

Egharevba H *, Oladosun P2, Izebe K S2, 2016. Chemical Composition and Anti-tubercular Activity of the Essential Oil of Orange (*Citrus sinensis* L.) Peel from North Central Nigeria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 2016.

Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., Attia, H., 2011. Dietary fibre and fibre rich by-products of food processing: characterisation, technological functionality and commercial applications: a review. *Food Chem.* 4, 411–421.

Ernst Edzard, Max H Pittler, 2005. *Médecines Alternatives : Le Guide Critique* Edition Elsevier Page 48.

Evans, T.W. (2002). Albumin as a drug biological effects of albumin unrelated to oncotic pressure. *Journal Alimentary pharmacology and therapeutics*, 16 (5): 6-11.

F

Ficelle Marie, 2019. *Huiles, Essentielles Au Quotidien* Edition Sylvaine Varlaz, 2019 Page 05.

Fischer Anne-Marie, Virginie Siguret, Jean-Noël Fiessinger John Libbey Eurotext, 2014. *Les traitements antithrombotiques – 2e édition-* 165 pages

Flamini, G.; Cioni, P.L.; Morelli, I. Use Of Solid-Phase Micro-Extraction As A Sampling Technique In The Determination Of Volatiles Emitted By Flowers, Isolated Flower Parts And Pollen. *J. Chromatogr. A* 2003, 998, 229–233.

Fuinel Guy, 2002. *Arbres Et Plantes Médicinales Du Jardin* Edition Lanore Page 83.

G

Gabriel Fernando Esteves Cardia, Saulo Euclides Silva-Filho, Expedito Leite Silva, Seun-Ah Yang A, Sang-Kyung Jeon B, Eun-Jung Lee B, Chang-Hyun Shim C & In-Seon Lee B, 2010. Comparative Study Of The Chemical Composition And Antioxidant Activity Of Six Essential Oils And Their Components Natural Product.

GAZENGEL Jean-Marie, ORECCHIONI, Le Préparateur En Pharmacie - Guide Théorique Et Pratique (2e Ed.) Edition Chantal Arpino, 2013 Page 1255-1260

Geay T, 1995. Hématopoïèse Animale et Humaine, Utilisation Thérapetique des Facteurs de Croissance Hématopoïétiques. Thèse Doctorat Veterinaries, Lyon, France.

Ghulam Mustafa Kamal, Muhammad Yasin Ashraf, Abdullah Ijaz Hussain Andleeb Shahzadi And Muhammad Ismail Chughtai, 2013. Antioxidant Potential Of Peel Essential Oils Of Three Pakistani Citrus Species: Citrus Reticulata, Citrus Sinensis And Citrus Paradisii Pak. J. Bot., 45(4): 1449-1454, 2013.

Ghulam Mustafa Kamal, Muhammad Yasin Ashraf, Abdullah Ijaz Hussain Andleeb Shahzadi And Muhammad Ismail Chughtai 1 Antioxidant Potential Of Peel Essential Oils Of Three Pakistani Citrus Species: Citrus Reticulata, Citrus Sinensis And Citrus Paradisii Pak. J. Bot, 2013.

Giroit R; Lantz B; Wajcman H. 1999. Les maladies du globule rouge. Edition médecine science. Goldhamer, D.A.; Intrigliolo, D.S.; Castel, J.R.; Fereres, E. Citrus, 2012. In Crop Yield Response To Water: FAO Irrigation And Drainage Paper 66, 1st Ed.; Pasquale Steduto, P., Theodore, C., Hsiao, T.C., Elias Fereres, E., Dirk Raes, D., Eds.; Food And Agriculture Organization Of The United Nations: Rome, Italy, 2012; Volume 49, Pp. 300–315.

Gualtier Damien, 20011. Mes Recettes Anti-Inflammatoires Ixelles Edition - 160 Pages

Guibourt, N. J. -B. G. 2014. Histoire Naturelle Des Drogues Simples Cambridge University Press, 8 Mai 2014 - 568 Pages Page 422

Guillaume Jean, 2013. Ils Ont Domestiqué Plantes Et Animaux: Prélude A La Civilisation Page 379 Edition Quae, 2013.

Guillaume Thouvenin, Sylvie Laporte, 2011. Pédiatrie. Elsevier Masson, 25 juil. 2011 - 288 pages

Gülay Kirbaşlar, Aydın Tavman, Başaran Dülger And Gülen Türker, 2009. Antimicrobial Activity Of Turkish Citrus Peel Oils Pak. J. Bot.

H

Habibur Rahman, M., Eswaraiah, C. et Dutta, A.M. (2015). In - vitro anti-inflammatory and anti-arthritic activity of *Oryza sativa*. Var. Joha Rice (An Aromatic Indigenous Rice of Assam), *American-Eurasian J. Agric. & Environ*, 15 (1): 115-121.

Hernández Juan Manuel J. Favela, Omar González-Santiago 2, Mónica A. Ramírez-Cabrera 2, Patricia C. Esquivel-Ferriño 2 and María del Rayo Camacho-Corona , 2016. Chemistry and Pharmacology of *Citrus sinensis*. *MMoloelceueluse*.

Hsiu -Fang Yen 1, Sheng -Yang Wang 2, Chin -Chung Wu³, Wan -Yu Lin 3, Tung -Ying Wu³, Fang -Rong Chang 3,4* AND CHIN-KUN WANG, 2012. Cytotoxicity, Anti-Platelet Aggregation Assay And Chemical Components Analysis Of Thirty-Eight Kinds Of Essential Oils *Journal Of Food And Drug Analysis*, Vol. 20, No. 2, Pages 478-483.

J

Jacquier-sarlin, M.R et Polla, B.S. (1994). Protéines de stress : soi, non-soi et réponse Immune. *Médecine/sciences*, 10 (1): 31-41.

Jazet D.P.M., J. Kuate, V. Ngouana, F. Damesse, S.E. Tchida, A.P.H. Zollo, C. Menut, 2008. Comparison des propriétés antiradicalaires et anti-inflammatoires des huiles essentielles de *Citrus reticulata* var. Madagascar et *Citrus sinensis* var Casagrande du Cameroun. *Fruits*, 63(4), 201-208 (2008).

Jobin François, 1995. La Thrombose Presses Université Laval- 321 Pages

K

Karousou R, Koureas DN, Kokkini S. 2005. Essential oil composition is related to the natural habitats: Corido *Thymus capitatus* and *Satureja thymbra* in Natura 2000. *Phytochemistry*. 2005; 66:2668–73.

Khan Rafeeq Alam, Neelam Mallick¹ And Zeeshan Feroz 2016. Anti-Inflammatory Effects Of *Citrus Sinensis* L., *Citrus Paradisi* L. And Their Combinations *Pakistan Journal Of Pharmaceutical Sciences* · May 2016.

Kierszenbaum Abraham L., 2006. Histologie Et Biologie Cellulaire: Une Introduction A L'anatomie Pathologique Edition Boeck 2006 Page 147-148

Kirbaşlar F. Gülay, Aydın Tavman, Başaran Dülger And Gülen Türker⁴ Antimicrobial Activity Of Turkish Citrus Peel Oils Pak. J. Bot., 41(6): 3207-3212, 2009.

L

Lorrain E, 2013.100 Questions Sur La Phytothérapie. Edition La Boétie, Italie.

Lüllmann-Rauch Renate, Histologie De Boeck Supérieur, 2008 - 704 Pages 264.

Libbey John Eurotext, 2006. Les Traitements Antithrombotiques 2 Mars 2006 – 155 Pages.

Lu Hui¹, Li He², Lu Huan¹, Li Xiaolan^{3*} And Zhou Aiguo⁴, 2010. Chemical Composition Of *Lavender* Essential Oil And Its Antioxidant Activity And Inhibition Against Rhinitisrelated Bacteria. African Journal Of Microbiology Research Vol. 4 (4), Pp. 309-313, 18 February, 2010.

M

Maillet Marc, 2006. Biologie Cellulaire Elsevier Masson, - Page 53

Malleshappa Pallavi, Ramesh Chapeyil Kumaran, Krishna Venkatarangiah, Sameera Parveen, 2018.Peels of Citrus Fruits: A Potential Source of Anti-inflammatory and Antinociceptive Agents Pharmacogn J. 2018; 10(6) Suppl:s172-s178 A Multifaceted Journal in the field of Natural Products and Pharmacognosy

Malvesy Thierry, 2007.L 'Herbier De Georges Cuvier: Les Débuts D'un Naturaliste De Génie, Normandie, 1788-1795. Société d'Histoire Naturelle Du Pays De Montbéliard, 2007 - 159 Pages

Marieb Elaine N;Katja Hoeh ; 2013. ;Anatomie et physiologie humaines;Edition :8 pearson.p:739.

Martos M. Viuda-,Y. Ruiz-Navajas, J. Fernández-López* And J. Perez-Álvarez, 2007.Antibacterial Activity Of Lemon (Citrus Lemon L.), Mandarin (Citrus Reticulata L.), Grapefruit (Citrus Paradisi L.) And Orange (Citrus Sinensis L.) Essential Oils, Ctra Beniel, Km 3.2, E-03312 Orihuela (Alicante).

Marvin Edeas, Les Secrets De Santé Du Thé : Un Peu De Thé Tous Les Jours Eloigne Le Médecin Pour Toujours Alpen Editions S.A.M., 7 Mars 2005 - 95 Pages 18-19

MEDKOUR Terkia, 2008. Modélisation Mathématique et Simulation Numérique de la Polymérisation de l'Hémoglobine Drépanocytaire. Thèse de Doctorat de l'Université Paris XII. Page 02

Min-Jin Kim¹, Kyong-Wol Yang^{2,3}, Sang Suk Kim⁴, Suk Man Park⁴, Kyung Jin Park⁴, Kwang Sik Kim⁴, Young Hun Choi⁴, Kwang Keun Cho³, Nam Ho Lee¹, Chang-Gu Hyun, 2013. chemical composition and anti-inflammatory effects Of essential oil from hallabong flower

Mira, J.P. (2008). L'albumine endogène : un pouvoir anti-oxydant majeur. *Réanimation*, 3: 7-9.

Mitoshi Mai, Isoko Kuriyama¹, Hiroto Nakayama², Hironari Miyazato², Keiichiro Sugimoto², Yuko Kobayashi³, Tomoko Jippo³, Kouji Kuramochi⁴, Hiromi Yoshida¹ And Yoshiyuki Mizushina¹, 2014. Suppression Of Allergic And Inflammatory Responses By Essential Oils Derived From Herbal Plants And Citrus Fruits, *International Journal Of Molecular Medicine* 33: 1643-1651.

Monajemia Ramesh, Shahrbanoo Oryanb, Ali Haeri-Roohanic, Alireza Ghannadid And Abbas Jafariane , 2005.Cytotoxic Effects Of Essential Oils Of Some Iranian Citrus Peels *Iranian Journal Of Pharmaceutical Research* (2005) 3: 183-187 .

N

Najimu Nisha, A. Anu Swedha, J. Syed Nasar Rahaman Antibacterial Activity Of Citrus Sinensis Peel Against Enteric Pathogens *International Journal Of Pharmaceutical Research And Bio-Science*, 2013

Najneen Ahmed^{1*}, Mantasha Tabassum¹, Sharmin Ahmed², Shagufta Jasmin Subi³, Mst Marium Begum, 2018. Analysis of the antibacterial and thrombolytic activity of the methanolic extract of citrus sinensis peel. *International Journal of Sciences & Applied Research*.

Nazlina Z. , M.K. Chan**, J.G. Angelynn, C.M. Choo, 2017. Kinetic Study of Hydrodistillation of Citrus Sinensis and Quality of the Oil. *International Journal of Engineering & Technology IJET-IJENS* Vol:17 No:01

Nikitha G, Rajendra Sandur V, 2019. Cardioprotective Potential Of Plants And Plant-Derived Principles – A Review. *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinal Research*. Vol 12, Issue 3, 2019.

Noémie Vialard , Remèdes Et Recettes A La Lavande 2013 Edition Fleurus - 64 Pages

Norbert I .Renée F. 1995. Collection biologie Médicale :Hématologie édition Médicales Internationales . France ,111p.

O

Osarumwense .P.O, 2017. Anti-inflammatory Activity of Methanoilc and Ethanolic Extracts of *Citrus sinensis* peel (L) Osbeck on Carrageenan induced Paw Oedema in Wistar rats. J. Appl. Sci. Environ. Manage. *October* 2017 Vol. 21.

Ozioma Josephine, Ezekwesili-Ofili* And Ngozi Christine Gwacham, 2015. Comparative Effects Of Peel Extract From Nigerian Grown Citrus On Body Weight, Liver Weight And Serum Lipids In Rats Fed A High-Fat Diet African Journal Of Biochemistry Research Vol 9(9).

P

PADRINI FRANCESCA et LUCHERONI MARIA TERESA. (1996)- Le grande livre des huiles essentielles – guide pratique pour retrouver vitalité, bien être et beauté avec les essences et l’aromassage énergétiques avec plus de 100 photographies. Editions de Vacchi. Paris. 212 p.

Pallavi Malleshappa, Ramesh Chapeyil Kumaran, Krishna Venkatarangaiah, Sameera Parveen Peels Of Citrus Fruits: A Potential Source Of Anti-Inflammatory And Anti-Nociceptive Agents Pharmacogn J. 2018; 10(6) Suppl:S172-S178 A Multifaceted Journal In The Field Of Natural Products And Pharmacognosy

Pebret François, 2005. Anatomie, Physiologie : Pharmacologie-Etymologie : S'auto-Evaluer En 1137 ... De Edition Heures Du France 2005 Page 143

Pérez N. J. Ruiz, 2017. Antimutagenic and antioxidant activity of the essential oils of *Citrus sinensis* and *Citrus latifolia* scientific reports .

Pérez Salud G., Miguel Zavala S., Lucina Arias G. and Miguel Ramos L, 2011. Anti-inflammatory Activity of Some Essential Oils. Journal of pharmacology.

Polese Jean-Marie,2008. La Culture Des Agrumes Edition ARTEMIS 2008 Page 37- 41.

Proust-Millon Laetitia, 2018. Le Grand Livre De L'alimentation Anti-Inflammatoire: Arthrose, Alzheimer, Cancer, Asthme, Obésité... Les Meilleurs Ingrédients Et Recettes Pour

Prévenir L'inflammation Chronique Alix Lefief-Delcourt Éditions Leduc.S, 25 Oct. 2018 - 288 Pages.

R

Rafeeq Alam Khan, Neelam Mallick and Zeeshan Feroz, 2016. Anti-inflammatory effects of Citrus sinensis L., Citrus paradisi L. and their combinations Pakistan journal of pharmaceutical sciences ·

Rajarajan A.T., V.G. Vijayasree, W. Kenichi, S.Vijaya Kumar, G.Narasimman And S. Sadish Kumar, 2019.ANTHELMINTIC AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF PEELS OF ITRUS SINENSIS Pharmacologyonline 1: 363-368 (2009).

Ramjan Ali , Marjan Hossain , Jannatul Ferdous Runa , Hasanuzzaman Md , Islam Mahmodul , 2014. Evaluation of thrombolytic potential of three medicinal plants available in Bangladesh, as a potent source of thrombolytic compounds Avicenna J Phytomed

Ruiz-Pérez1 Antimutagenic And Antioxidant Activity Of The Essential Oils Of Citrus Sinensis And Citrus Latifolia Scientific Reports Received: 24 May 2017 Accepted: 30 August 2017.

Russo-Marie Françoise, 1998.L'inflammation Edition John Libbey Eurotext, 1998 - 565 Pages.

S

Schuller Edmond Editions Jean-paul Gisserot, Mieux comprendre pour bien guérir : votre santé de A à Z De 2003 - 313 pages page 23

Scimeca Daniel, Max Tétou, 2005. Votre Santé Par Les Huiles Essentielles: Simple Et Pratique, Le Guide Des Huiles Essentielles Au Quotidien Alpen Editions S.A.M., 2005 - 94 Pages.

Small Ernest, Grace Deutsch,2001, Herbes Culinaires Pour Nos Jardins De Pays Froid.Conseil National De Recherches Canada NRC Research Press, 2001 - 193 Pages Page 107

Samama Meyer Michel, 2001. Hémorragies Et Thromboses: Du Diagnostic Aux Traitements Edition Elsevier Masson, 17 Juin 2011 - 504 Pages

Santiago, Elvira Garza-González, Isidoro De Paz Palacios And Julieta Luna-Herrera Activity Against Drug Resistant-Tuberculosis Strains Of Plants Used In Mexican Traditional Medicine To Treat Tuberculosis And Other Respiratory Diseases *Phytotherapy Research* *Phyther. Res.* 22, 82– 85 (2008).

Schmelzer, G.H. & Gurib-Fakim, A, 2013 *Les Plantes Médicinales* 2 Edition 2013 Page 12.

Schuller Edmond, 2003, *Mieux Comprendre Pour Bien Guérir : Votre Santé De A A Z* Editions Jean-Paul Gisserot - 313 Pages Page 23

Scimeca Daniel, Max Tétou, 2005. *Votre Santé Par Les Huiles Essentielles: Simple Et Pratique, Le Guide Des Huiles Essentielles Au Quotidien* Alpen Editions S.A.M., 2005 - 94 Pages

Seun-Ah Yang A , Sang-Kyung Jeon B , Eun-Jung Lee B , Chang-Hyun Shim C & In-Seon Lee B, 2010. Comparative Study Of The Chemical Composition And Antioxidant Activity Of Six Essential Oils And Their Components *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*.

Shalu Hasija, Geeta Ibrahim, Ashok Wadia, 2015. Antimicrobial Activity Of Citrus Sinensis (Orange), Citrus Limetta (Sweet Lime) And Citrus Limon (Lemon) Peel Oil On Selected Food Borne Pathogens, *International Journal Of Life Sciences Research*

Shobana, S., et Vidhya, R. (2016). Evaluation of *in vitro* hemolytic activity of different parts of abutilon indicum (Linn.). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(5): 1182–1196.

Small Ernest, Grace Deutsch, 2001. *Herbes Culinaires Pour Nos Jardins De Pays Froid*. Conseil National De Recherches Canada NRC Research Press, 2001 - 193 Pages Page 107

Spichiger Rodolphe-Eduard, Vincent V, Savolainen, Murielle Figeat, Daniel Jeanmonod, 2002. *Botanique Systématique Des Plantes A Fleurs* Troisième Edition Revue Et Corrigé 2002 Page 272.

Stellman Jeanne Mager, 2000. *Encyclopédie De Sécurité Et De Santé Au Travail* , Edition Anglaise Originale 2000, Page 2.

Swapnil Y. Chaudhari, Galib Ruknuddin, Pradeepkumar Prajapati, 2019. Ethno medicinal values of Citrus genus: A review. Medical Journal of Dr. D.Y. Patil University | Published by Wolters Kluwer – Medknow.

Shahriar¹, M. A. Bhuiyan², M. S. Rana¹, 2018. Screening of Antibacterial, Thrombolytic, Membrane Stabilizing, Anti-inflammatory and Antitumor Activity of *Citrus assamensis* Leaf Extracts. J. Sci. Res.

T

Thiam Doudou, 2017. Manuel D'hématologie: Tome 1, Physiologie Edition l'Harmattan 2017 Page 13, 14.

V

VARET, 2012. Le Livre De L'interne En Hématologie - 3e Edition Lavoisier, 16 Mai 2012 - 736 Pages

Vashist Hemraj, D.S Rathor et Gurpreet Singh, 2010. A comparative report on the percentage yield of volatils oils by hydrodistillation. Singapour journal of scientific research.

Velázquez-Nuñez a Maria José, Raúl Avila-Sosa b, Enrique Palou a, Aurelio López-Malo a, 2013. Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil

Viallard Marcel-Louis, Claudine Tanguy, 2002. Traité D'anesthésie Pour Les Infirmiers Et Infirmières Anesthésistes: Conforme Au Programme Officiel Du Diplôme d'État IADE Edition Heures De France, 2002 - 344 Pages

Vinodhini M., M. Kalaiselvi, R. Amsaveni And V. Bhuvaneshwari, 2017. Chemical Composition And Biological Activities Of Essential Oil From Citrus Sinensis Peel World Journal Of Pharmaceutical And Medical Research Wjpmr, 2017,3(8), 164-168.

W

Wajeman h., Lantz B., Girot R. (1992). - les maladies du globule rouge.- 2e edition ; Paris : Inserm

Williams, L.A.D., Connar A. O., Latore, L., Dennis, O., Ringer, S., Whittaker, J.A., Conrad, J., Vogler, B., Rosner, H et Kraus, W. (2008). The in vitro Anti-denaturation Effects Induced by Natural Products and Non-steroidal Compounds in Heat Treated (Immunogenic) Bovine

Serum Albumin is Proposed as a Screening Assay for the Detection of Anti-inflammatory Compounds, without the use of Animals, in the Early Stages of the Drug Discovery Process.
West Indian Med J.

Wilson Mélinda, 2007. Fleurs Comestibles: Du Jardin A La Table Les Editions Fides, 2007 - 278 Pages.

Z

Zhiri A Et Baudoux D, 2005. Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Aromathérapies scientifique. ISBN : 2-919905-27-9. Edition Inspir Development - rue Goethe, 1 - L-1637 Luxembourg. P 14-15.