

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Filière : Biologie
Option : Biochimie Physiopathologique



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Inhibition de la dénaturation de la
sérumalbumine bovine par les huiles
essentielles de Lavande et de Rue et les
polyphénols de pépins de Pamplemousse**

**Présenté par : Arezki Samra
Atoui Dounia**

Soutenu le : 20 Juin 2017

Devant le jury composé de :

Mme Debbache. N	MCB	Présidente
Mme Bedjou. F	Professeur	Encadreur
Mme Berboucha-Rahmani. M	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2016 / 2017

Dédicaces

On dédie ce travail à :

Nos chers parents, que nulle dédicace ne puisse exprimer nos sincères sentiments, pour leur patience illimitée leur encouragement continu, leur aide, en témoignage de notre profond amour et respect pour leurs grands sacrifices.

A nos frères et sœurs pour leurs encouragements tout au long de notre parcours.

A tous nos amis, surtout nos meilleurs amies Youna, Hassina et Nawal.

Remerciements

Nous remercions Madame Bedjou pour son encadrement, son suivi et ses indications

Nos sincères remerciements sont adressés aux membres du jury

Nous remercions monsieur Bouadam pour l'identification des plantes

Nous remercions Madame Oukil pour nous avoir permis d'extraire les huiles essentielles, Mademoiselle Touati et Madame Merzoug pour leur présence au niveau du laboratoire ainsi que leurs conseils

Nous remercions la techniciennes des laboratoires Samia et Madame Kherbachi

Nous remercions nos familles pour leurs soutiens et leurs encouragements

Nous remercions également toute personne ayant contribué à la réalisation de ce travail

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre I.....	2
I.1. L'Inflammation et la dénaturation protéique.....	2
I.1.1. Inflammation.....	2
I.1.2. L'Albumine.....	3
I.2. <i>Lavandula stoechas</i>	5
I.2.1. Taxonomie.....	5
I.2.2. Description et répartition.....	6
I.2.3. Utilisations thérapeutiques et industrielles.....	6
I.3. <i>Ruta chalepensis</i>	6
I.3.1. Taxonomie.....	6
I.3.2. Description et répartition.....	7
I.3.3. Utilisations thérapeutiques et industrielles.....	7
I.4. <i>Citrus paradisi</i>	8
I.4.1. Taxonomie.....	8
I.4.2. Origine et distribution.....	9
I.4.3. Description.....	9
I.4.4. Utilisation et activités étudiées.....	10
I.5. Les Huiles essentielles.....	10
I.5.1. Définition.....	10
I.5.2. Composition chimique.....	11

I.5.3. Utilisation et activités biologiques.....	11
I.6. Les Polyphénols.....	11
I.6.1. Définition.....	11
I.6.2. Activités biologiques.....	12
Chapitre II.....	13
II.1. Préparation du matériel végétal.....	13
II.1.1. Récolte et identification des plantes.....	13
II.1.2. Traitement du matériel végétal.....	14
II.2. Méthodes.....	14
II.2.1. Extraction des huiles essentielles.....	14
II.2.2. Extraction des composés phénoliques.....	15
II.3. Dosage des polyphénols totaux.....	17
II.4. Inhibition de la dénaturation protéique.....	17
Chapitre III.....	19
III.1. Rendement d'extraction.....	19
III.1.1. Huiles essentielles.....	19
III.1.2. Extrait éthanolique.....	20
III.2. Dosage des polyphénols	20
III.3. Inhibition de la dénaturation protéique.....	21
Conclusion et perspectives.....	26

Liste des figures

Figure 1 :	image	de	<i>Lavandula stoechas</i>5
Figure 2 :	image	de	<i>Ruta chalepensis</i>7
Figure 3 :	image	du fruit	de <i>Citrus paradisi</i>9
Figure 4 :	image	de	<i>Ruta chalepensis</i> séchée13
Figure 5 :	image	des feuilles	de <i>Lavandula stoechas</i> sséchées13
Figure 6 :	image	de l'hydrodistillateur	14
Figure 7 :	image	de la macération	de la poudre des pépins de Pamplemousse15
Figure 8 :	image	de la filtration	de l'extrait éthanolique des pépins de Pamplemousse15
Figure 9 :	Courbe	d'étalonnage	avec l'acide gallique17
Figure 10 :	Rendement des huiles essentielles de <i>R. chalepensis</i> et <i>L. stoechas</i> par hydrodistillation		19
Figure 11 :	Rendement en polyphénols des pépins de Pamplemousse par rapport à la masse de matière		20
Figure 12 :	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA par l'extrait phénolique des pépins de pamplemousse		22

Figure 13 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA par l'huile essentielle de *Ruta* *chaliensis*

.....23

Figure 14 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA par l'huile essentielle de *Lavandula* *stoechas*

.....23

Figure 15 : Pourcentage d'inhibition de la BSA par le Diclofenac de sodium.....24

Introduction

L'inflammation est une réponse de protection naturelle de l'organisme aux lésions tissulaires provoquées par des traumatismes physiques, agents chimiques ou infectieux. Elle est caractérisée par des douleurs, rougeur, chaleur, enflure et perturbations des fonctions physiologiques (Chandra et *al.*, 2012).

Dans la plupart des cas cette réaction est bénéfique pour l'hôte agressé, mais une activation excessive de celle-ci, peut provoquer des altérations importantes (Lanneau, 2010) incluant la dénaturation de certaines protéines. Ces dernières ayant perdu, de ce fait, leur structure tridimensionnelle, peuvent provoquer l'apparition d'autoantigènes transformant ainsi une réaction inflammatoire en une réaction autoimmune (Nguyen et *al.*, 1989 in Lanneau, 2010).

Les plantes ont toujours été à l'origine des traitements utilisés par l'homme que ça soit en pharmacothérapie ou en phytothérapie. Les plantes sont alors utilisées directement ou après extraction de molécules bioactives (huile essentielle, composés phénoliques,...).

Les plantes médicinales sont utilisées en thérapie traditionnelle pour le traitement de plusieurs maladies, parmi elles on cite *Lavandula stoecha* (Melpomeni et *al.*, 1978), *Ruta chalepensis* (Daoudi et *al.*, 2015), et *Citrus paradisi* (Morton et *al.*, 1987). Elles ont fait l'objet de plusieurs études et recherches scientifiques. Ces dernières ont pu mettre en évidence les différentes activités biologiques de *L. stoechas* (Gilani et *al.*, 2000 in Celik et Aslanturk, 2007), *R. chalepensis* (Amra et *al.*, 1991 in Merghache et *al.*, 2009) et *C. paradisi* (Morton et *al.*, 1987). Elles sont également introduites en industrie pharmaceutique, parfumerie et alimentation.

Dans ce travail nous avons étudié l'activité anti inflammatoire, *in vitro*, des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* et *Ruta chalepensis* et de l'extrait phénolique des pépins de *Citrus paradisi* (Pamplemousse), par l'évaluation de leur capacité à protéger la sérumalbumine bovine (BSA) contre la dénaturation thermique.

CHAPITRE I

I.1 L'INFLAMMATION ET LA DENATURATION PROTEIQUE**I.1.1 Inflammation**

L'inflammation c'est un processus normal et complexe qui se produit en réponse à des agressions physiques (choc thermique), chimiques ou infectieuses. Elle est accompagnée de douleur, rougeur, chaleur, une augmentation de la perméabilité vasculaire, la dénaturation des protéines et la destruction des membranes cellulaires (Leelaprakash et Mohan Dass, 2011).

Le plus souvent cette réaction est bénéfique pour l'organisme agressé. Cette réaction met en jeu de nombreux systèmes biologiques qui visent à détruire ou à éliminer la substance étrangère. Cependant, une activation très prolongée peut entraîner des altérations plus ou moins importantes (Lanneau, 2010).

Une réaction inflammatoire non immune peut conduire à une inflammation immune après dénaturation des protéines endogènes devenues auto-antigéniques (Clos, 2012). L'exposition d'une cellule au choc thermique provoque: l'altération des protéines, la réponse au choc thermique et enfin la récupération ou l'élimination des protéines altérées (Nguyen et al., 1989 in Lanneau, 2010).

• La première étape (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).

• La seconde étape (réponse au choc thermique)

Il y' aura l'intervention des protéines de choc thermique (HSP ou heat shock proteins) qui vont reconnaître les régions normalement enfouies dans la molécule (l'albumine) et qui deviennent accessibles après dénaturation ou dégradation (Jacquier-sarlin et Polla, 1994). L'interaction HSP-protéines dénaturées favorise soit leur dégradation, soit leur transport dans les différents organites et leur assemblage, (Ellis et Van Der Vies, 1991 in Jacquier-sarlin et Polla, 1994) et l'activation des lymphocytes T après présentation des auto-

antigènes en présence des molécules de CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) et la différenciation des monocytes en macrophages (Jacquier-sarlin et Polla, 1994) .

- **Phase d'élimination**

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

I.1.2 L'albumine

L'albumine est une petite protéine globulaire de 66 k Da et la plus abondante dans le plasma. Elle représente environ 60 % des protéines plasmatiques et 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 (Evans, 2002). 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).

- **Rôles**

L'albumine effectue plusieurs rôles dans l'organisme :

- **Rôle antioxydants**

Les propriétés antioxydants de l'albumine sont liées à certains sites de sa structure :

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

➤ **Transport**

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, acides faibles ou neutres et de petites molécules de tout type comme les métaux. Elle transporte et véhicule également le cholestérol, la bilirubine, le NO,...(Evans, 2002).

- Elle est responsable du maintien de la pression oncotique (Evans, 2002)
- 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).

Depuis l'antiquité jusqu'à nos jours, l'homme a toujours eu recours à la nature pour y puiser sa nourriture et ses soins. En effet il est toujours à la recherche de nouvelles molécules pharmacologiques afin de combattre l'inflammation qui est souvent à l'origine de plusieurs maladies. Ces molécules sont souvent et essentiellement à base de plantes.

I-2 *Lavandula stoechas*

I-2-1 Taxonomie

Règne : Plante

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Lavandula*

Espèce : *Lavandula stoechas* (Rao et al., 1979 in Siddiqui, 2016)



Figure 1: image de *Lavandula stoechas* (photographie originale)

I.2.2 Description et répartition

L'espèce *Lavandula stoechas*, appelé en arabe khouzama et Amezzir en Kabyle (Ouhaddad, 2016), est un arbuste de la famille des lamiaceae. Il pousse naturellement et spontanément dans les régions méditerranéennes (Sierra et al., 2009). Sa floraison dure le long de l'été jusqu'au début de l'automne (Siddiqui, 2016) avec des fleurs violettes dégageant une odeur forte. Elles se disposent en épi directement attaché à la tige (figure 1). Cet arbuste qui peut atteindre 1m de hauteur (Herrera, 1997) possède des feuilles persistantes, opposées et aromatiques de couleur gris bleuâtre (Mohammedi et Atik, 2012).

La lavande est originaire de l'ancien monde, elle est retrouvée dans les îles Canaries, au sud de l'Europe, en Afrique du nord et de l'est, au sud-ouest de l'Asie et en Inde. Cette plante se trouve dans les forêts et les montagnes ayant des sols humides (Siddiqui, 2016).

I.2.3 Utilisations thérapeutique et industrielle

Depuis longtemps, *lavandula stoechas* est utilisée par les populations, des régions méditerranéennes, en médecine traditionnelle contre plusieurs maladies. Ils utilisaient son huile essentielle et l'infusion de ses feuilles comme anti spasmolytique, contre le diabète, les douleurs menstruelles, les calculs rénaux, l'otite et l'hypertension (Herrera, 1997). Elle était aussi utilisée contre les maux d'estomac, le cancer, l'ulcère, l'asthme, les maladies cardiovasculaires, la bronchite, le rhumatisme, l'insomnie, l'épilepsie et les maux de tête (Mohammedi et Atik, 2012).

Lavandulastoechas est largement cultivée à travers le monde pour ses diverses utilisations, en industrie alimentaire comme épice ou thé (Sierra et al., 2009) tandis que ses huiles essentielles sont utilisées pour la saveur et le goût et aussi en parfumerie et cosmétique (Gilaniet al., 2000).

I.3 *Rutachalepensis***I.3.1 Taxonomie**

Règne : Plante

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Spindales

Famille : Rutaceae

Genre : Ruta

Espèce : *Rutachalepensis* (anonyme 1)

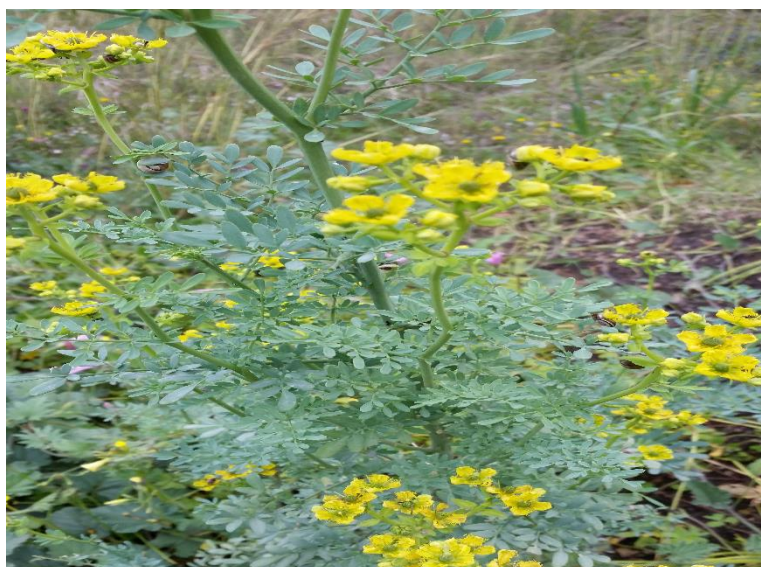


Figure 2: image de *Ruta chalepensis* (photographie originale)

I.3.2 Description et répartition

Ruta chalepensis, connue sous le nom d'Awermi en berbère et Fidjel en arabe (Daoudiet *al.*, 2015), est une plante aromatique d'origine méditerranéenne (Gonzalez-Trujano, 2006 in Tounsi et *al.*, 2011) qui pousse spontanément dans les rocailles, pelouses et coteaux secs (Beniston, 1984 in Merghache et *al.*, 2009). Cet arbuste appartenant à la famille des rutaceae, peut atteindre 1 m de hauteur. Il est caractérisé par des feuilles longues et lancéolées de couleur bleu-vert (figure 2) (Ntalliet *al.*, 2011) qui dégagent une odeur assez forte (Tounsiet *al.*, 2011). Sa floraison, de couleur jaunâtre, débute en avril jusqu'au mois de juillet (Ntalliet *al.*, 2011).

I.3.3 Utilisations thérapeutique et industrielle

Ruta chalepensis est utilisée en médecine traditionnelle de plusieurs pays pour traiter plusieurs maladies (Iauk et *al.*, 2004 in Tounsi et *al.*, 2011). Elle est utilisée pour traiter le rhumatisme, les troubles mentaux, la fièvre, l'hémorragie menstruelle, l'arthrite, les

maladies hépatiques et les désordres gastro-intestinaux (Gonzalez-Trujano et *al.*, 2006 in Abbaset *al.*, 2013). Cette plante possède des propriétés analgésiques, antipyrétiques, anti-inflammatoires, antifongiques, antimicrobiennes, sédatives, emménagogues et antihelminthiques (Ntalliet *al.*, 2011; Abbas et *al.*, 2013). L'étude, réalisée par Mansour et ses collaborateurs, a démontré l'activité dépressive de *Ruta chalepensis*, dose dépendante, sur le système nerveux centrale (Al-Said et *al.*, 1990).

Selon l'enquête ethnobotanique, effectuée par Daoudi et ses collaborateurs au Maroc, *R. chalepensis* est une plante à usage thérapeutique par excellence mais qui présente des effets abortifs (Daoudi et *al.*, 2016).

Bien qu'elle possède une odeur très forte et désagréable, cette plante est largement exploitée pour l'extraction de ses huiles essentielles destinées à la parfumerie et l'industrie pharmaceutique et agroalimentaire (Amra et *a.l.*, 1991 in Merghache et *al.*, 2009).

I.4 Citrus Paradisi

I.4.1 Taxonomie

Règne	Plante
Sous règne	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae
Genre	Citrus
Espèce	Paradisi (anonyme 2)



Figure 3: image du fruit *Citrus paradisis* (photographie originale)

II.4.2 Origine et distribution

L'identification botanique des citrus est particulièrement complexe du faite de leur biologie et de leurs cultivars qui sont presque toujours des clones. Ces derniers dérivent par hybridation ou mutation suite à la reproduction d'arbre par greffage, ou bien au phénomène de polyembryonie (développement d'un ou plusieurs embryons nucellaires, à partir des cellules du nucelle qui est un tissu voisin de l'ovule à $2n$ chromosomes, à côté de l'embryon zygotique). Ces deux phénomènes se produisent chez tous les agrumes sauf pour le *Citrus maxima* (Chauvet, 1980). La nomenclature scientifique du Pamplemousse a été à l'origine de plusieurs débats scientifiques pour lui attribuer vers la fin le nom de *Citrus paradisi* (Chauvet, 1980).

L'espèce *Citrus paradisi* est originaire des Antilles (Caraïbes) elle fut introduite en Floride au XIX siècle et aux Etats unis au début XX siècle puis en Israël, en Europe (Espagne, Italie) et au Afrique (Chauvet, 1980).

I.4.3 Description

Le pamplemoussier est un arbre de la famille des rutacea, ayant de 5 à 6 m de hauteur et pouvant même atteindre 12 m avec l'âge. Ses feuilles sont persistantes, ovales et vertes foncés à fleurs blanches et 4 pétales (Morton. 1987).

Le fruit du pamplemoussier est de couleur jaune (Morton, 1987), de taille moyenne à grande et de forme aplatie aux deux pôles ou sphérique (figure 3) (Chauvet, 1980). Son écorce est mince à moyennement épaisse. Sa chair tendre et juteuse et comprend plusieurs graines (Chauvet, 1980).

I.4.4 Utilisations et activités étudiées

En médecine traditionnelle l'huile essentielle, préparée à partir des fleurs de pamplemoussier est utilisée pour le traitement d'insomnies et comme tonique. Sa pulpe est considérée comme un acide efficace pour le traitement des troubles urinaires. L'activité antibiotique des extraits de feuilles de *Citrus paradisi* a été déterminée (Morton et al., 1987).

En industrie l'écorce du pamplemousse est utilisée en confiserie et constitue une source importante de pectine pour la préservation d'autres fruits. L'huile de pelure est utilisée comme arôme pour la préparation de boissons (Morton et al., 1987).

Il est utilisé dans la confection de l'extrait des pépins de pamplemousse qui est un antibiotique et un complément alimentaire. Ce dernier est constitué de plusieurs composés dont les polyphénols (ex : quercétine) (Cordonnier, 2015).

Le fruit du pamplemoussier comprend également des effets indésirables. En effet c'est un inhibiteur enzymatique qui augmente les effets secondaires et la toxicité de certains médicaments, utilisés dans le traitement du cancer du sein (Chabbosseau et Derbré, 2015).

I.5 LES HUILES ESSENTIELLES

I.5.1 Définition

Les huiles essentielles sont des mixtures complexes de métabolites secondaires volatiles qui sont isolées à partir de plantes par plusieurs techniques (kalemba et Kunicka, 2003).

Elles sont extraites à partir de différentes parties de la plante : fleurs, feuilles, pépins, racines et fruits (Van De Braak et Leijten, 1999 in Burt, 2004). Elles sont généralement de couleur jaune claire ou foncé mais qui peut changer chez certaines plantes (organ) (kalemba et Cunicka, 2003).

I.5.2 Composition chimique

Plusieurs paramètres influencent la composition chimique des huiles essentielles : la partie utilisée de la plante, le lieu et la période de récolte, l'âge de la plante,...(Bencharet *al.*, 2008 ; Merghacheet *al.*, 2011). Les composants actifs les plus importants des huiles essentielles sont les terpènes (mono terpènes, sesquiterpènes) et les phénylpropanes. Ce sont des métabolites secondaires (Calsamiglia et *al.*, 2007) conférant à la plante des propriétés aromatiques et médicinales (Kalembaet Kunicka, 2003).

I.5.3 Utilisations et activités biologiques

En médecine, les huiles essentielles sont reconnues pour leurs activités antifongique et antibactérienne, grâce à la présence de composés terpéniques qui interagissent avec la membrane des microorganismes et provoquent sa dégradation (Knobloch et *al.*, 1989 in Giordani et *al.*, 2006). Elles possèdent également des effets positifs sur les maladies cardiovasculaires, dans les processus inflammatoires, certaines tumeurs et dans les maladies induites par les radicaux libres (Calsamiglia et *al.*, 2007). Les huiles essentielles ont également des propriétés anti virales, anti protozoaires et insecticides (kalembaet Kunicka, 2003)

Mises à part leurs activités biologiques, les huiles essentielles sont largement utilisées en cosmétique et parfumerie, pour la fragrance et en alimentation pour le goût, la saveur et la préservation (Kalemba et Kunicka, 2003).

I.6 LES POLYPHENOLS

I.6.1 Définition

Le terme polyphénols est attribué à une large gamme de composés chimiques, caractérisés par la présence d'un cycle benzoïque portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (Macheix, 1996). Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : tige, feuilles, fleurs, racines, fruits, pollens, graines et bois (Boizot et Charpentier, 2006). Ils sont synthétisés par deux grandes voies métaboliques : la voie de l'acide shikimate et celle de l'acétate (Quideau et *al.*, 2011).

I.6.2 Activités biologiques

En raison des rôles importants qu'ils ont, les polyphénols ont pu acquérir une grande place dans le monde de la recherche biologique (Macheix, 1996). Ils participent dans la structure essentielle (la lignine) et la coloration bleu, jaune ou rouge de certains tissus végétaux (Macheix, 1996) et protègent les plantes contre les pathologies microbiennes, les herbivores et les radiations solaires (Quideau et *al.*, 2011).

Traditionnellement ils étaient utilisés dans le tannage de peaux (Macheix, 1996). Actuellement ils sont considérés comme molécules, à activités biologiques très importantes, car ce sont des anti-antioxydants participant à la réduction du stress oxydatif, lié à plusieurs maladies chroniques (cardiovasculaires, neuro dégénératives et cancéreuses), en diminuant le taux de radicaux libres (Quideau et *al.*, 2011). Les polyphénols possèdent également des propriétés antiinflammatoires, antiprolifératives et anti apoptotiques, grâce à leur capacité de se lier aux protéines, ce qui peut induire l'inhibition de certaines enzymes, la modulation de récepteurs ou même des facteurs de transcription. De ce fait les composés phénoliques peuvent toucher à la transduction du signal et donc toucher à la régulation des fonctions cellulaires (Sandur et *al.*, 2007 in Quideau et *al.*, 2011).

CHAPITRE II

II.1 PREPARATION DU MATERIEL VEGETAL

Les plantes utilisées dans cette étude sont la lavande (*Lavandula stoechas*), la rue (*Ruta chalepensis*) qui ont servi à l'extraction des huiles essentielles, et les fruits du pamplemoussier dont les pépins ont servi à l'extraction des polyphénols.

II.1.1 Récolte et identification des plantes

Lavandula stoechas et *Ruta chalepensis*, ont été récoltées dans la forêt de Tamridjt à souk el tenine dans la wilaya de Bejaia au mois de mars 2017. L'identification des plantes a été faite par le botaniste de l'université de Bejaia M^r Bouadam.

Tandis que le pamplemousse a été récolté au mois de février dans la région de Louasta à Souk el Tenine.

II.1.2 Traitement du matériel végétal

Les plantes et les pépins ont été lavés à l'eau courante (les plantes afin d'éliminer la poussière et les pépins pour éliminer les débris de pulpe) puis séchés à l'ombre dans un endroit sec et aéré (les plantes séchées sont représentées dans les figures 4 et 5).



Figure 4 : image de *Ruta chalepensis* séchée (photographie originale)



Figure 5 : image des feuilles de *Lavandula stoechas* séchées (photographie originale)

Une fois séchés les pépins ont été mis à l'étuve pendant une semaine à 40°C puis broyés, à l'aide d'un broyeur électrique, en poudre pas trop fine pour éviter le colmatage. La poudre obtenue a été conservée dans un bocal en verre à l'abri de la lumière.

II.2.METHODES

II.2.1Extraction des huiles essentielles

- **Procédé d'extraction**

Les huiles essentielles de *Lavandula stoechas* et *Ruta chalepensis* ont été obtenues par la technique d'hydrodistillation (Mohammedi et Atik, 2012). Pour cela 100g de matière végétale (feuilles) séchées, à température ambiante et à l'ombre, ont été mises dans un ballon avec 1000 ml d'eau de source le tout est macéré pendant une nuit. Le contenu du ballon est ensuite porté à ébullition pendant 2h et la vapeur est récupérée après condensation dans un autre ballon vide protégé de la lumière avec du papier aluminium (figure 6). Le distillat récupéré est ensuite versé dans une ampoule à décanter recouverte avec du papier aluminium jusqu'au lendemain. Les huiles récupérées après décantation sont conservées dans des petits flacons sombres à 4°C.

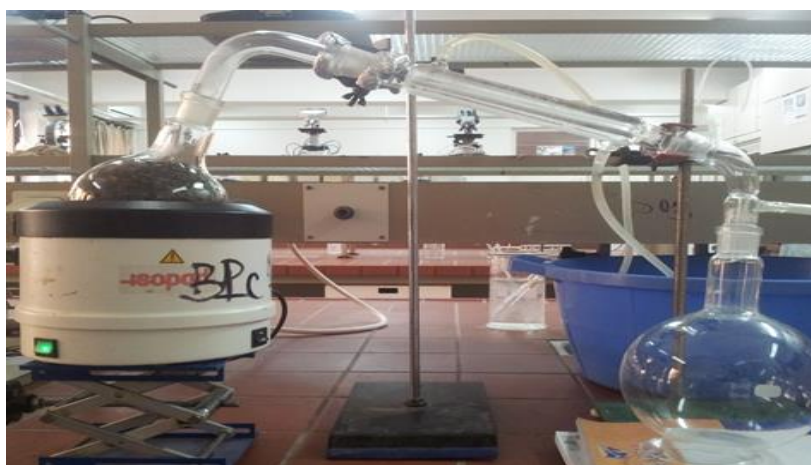


Figure 6 : image de l'hydrodistillateur (photographie originale)

- **calcul du rendement**

Le rendement en huiles essentielles a été calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = (M_1 / M_0) * 100$$

Où :

M_1 : la masse de l'huile essentielle récupérée en mg.

M_0 : la masse de la matière végétale sèche en mg (Falleh et *al.*, 2008 in Mahmoudi et *al.*, 2013).

II.2.2 Extraction des composés phénoliques

- **Protocole d'extraction**

Les polyphénols ont été extraits par macération selon le protocole de Mahmoudi et *al.*, (2013) suivi de légères modifications.

Pour cela 30g de poudre de pépins de Pamplemousse ont été mises dans 100 ml d'éthanol à 70% pendant 48 heures avec agitation (figure 7). Ensuite la solution a été filtrée avec du papier filtre standard (Mahmoudi et *al.*, 2013) (figure 8)



Figure 7: image de la macération de la poudre de pépins de pamplemousse (photographie originale)



Figure 8 : image de la filtration de l'extrait éthanolique (photographie originale)

Le solvant est ensuite évaporé (partiellement) au rotavapeur pendant 20 min et l'extrait obtenu est conservé à l'obscurité jusqu'à utilisation.

- **calcul du rendement**

Le rendement d'extraction est calculé par la formule donnée par Falleh et *al.* :

$$R(\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}}) * 100$$

Où :

M_{ext} : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

M éch : la masse sèche de l'échantillon végétal en mg (Falleh et *al.*, 2008 in Mahmoudi et *al.*, 2013).

II.3 DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX

Le dosage des polyphénols a été réalisé seulement sur l'extrait éthanolique de la poudre des pépins de pamplemousse.

- **Principe**

Le dosage est basé sur la quantification colorimétrique des composés phénoliques, cette technique qui a été décrite par Ribéreau-Gayon(1968), utilise comme réactif le Folin ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968 in Boizot et Charpentie, 2006). L'intensité de la coloration reflète la concentration de l'extrait en polyphénols et l'absorbance est lue entre 725nm et 750nm (Boizot et Charpentie, 2006).

- **Mode opératoire**

On introduit, dans des tubes à essai, 0.4 ml de solution d'extrait à différentes concentrations (1 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml, 4mg/ml) on y ajoute 1.6 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7% et 2 ml de Folin ciocalteu (1/10). Les tubes sont incubés pendant 2h à l'obscurité. L'absorbance est ensuite lue à 760 nm.

Le blanc est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par de l'éthanol à 70 %.

- **Expression des résultats**

Les concentrations en composés phénoliques totaux, de l'extrait, sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant comme standard l'acide gallique (figure 9).

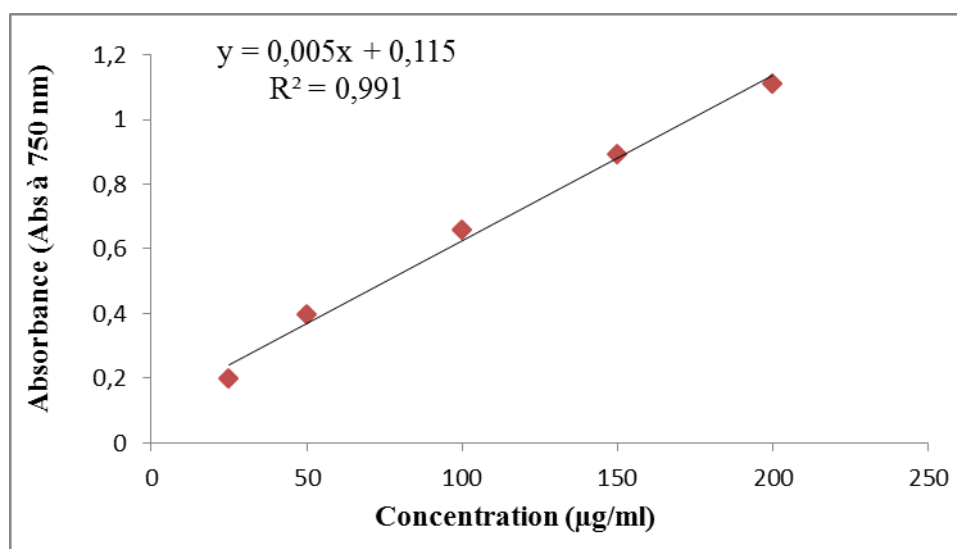


Figure 9 : Courbe d'étalonnage avec l'acide gallique

II.4 INHIBITION DE LA DENATURATION PROTEIQUE

- **Principe**

Afin d'évaluer les propriétés anti-inflammatoire *in vitro*, des huiles essentielles des différentes plantes étudiées et de l'extrait éthanolique des pépins de pamplemousse, 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 ces extraits à réduire la dénaturation thermique de la BSA (Bouhlali et *al.*, 2016).

La dénaturation des protéines tissulaires est bien connue comme étant l'une des conséquences des maladies inflammatoires et arthritiques, aboutissant à la production d'auto-antigènes (Williams et *al.*, 2008).

- **Mode opératoire**

Cette activité a été réalisée selon le protocole de Chandra et *al.*, (2012) avec de légères modifications (Chandra et *al.*, 2012) :

Un volume de 1 ml de solution d'albumine bovine sérique à 2%, préparée dans du PBS (phosphate-buffered saline, Ph = 6.4), est ajouté à 1 ml de solution d'extrait (phénoliques, huile essentielle) à différentes concentrations.

Le contrôle est préparé en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée.

Du Diclofenac a été utilisé comme standard.

Les tubes ont été incubés pendant 20 min à température ambiante, puis chauffés à 70°C pendant 5 min.

La lecture est faite à 660 nm.

- **Calcul du pourcentage d'inhibition**

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ (PI)} = \left(\frac{\text{Abs C} - \text{Abs T}}{\text{Abs C}} \right) \times 100$$

Où :

Abs C : absorbance du contrôle

Abs T : absorbance du test (Bouhlali et *al.*, 2016)

CHAPITRE III

III.1 RENDEMENT D'EXTRACTION

III.1.1 Huiles essentielles

L'extraction par hydrodistillation, à partir des feuilles de *Lavandula stoechas* et *Ruta chalepensis* a donné des huiles essentielles possédant une couleur variant du jaune clair au jaune foncé avec une odeur prononcée.

Le calcul des rendements d'extraction des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* et *Ruta chalepensis* a donné les résultats présentés dans la figure n°10.

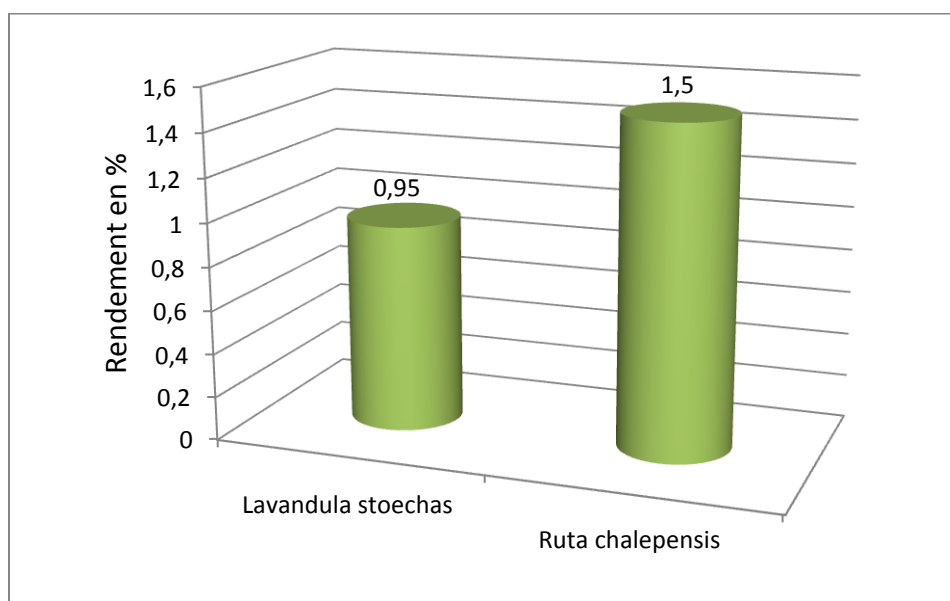


Figure 10 : Rendement en huiles essentielles de *R. chalepensis* et *L. stoechas*

D'après les taux d'extraction montrés dans la figure, nous remarquons que le rendement en huile essentielle est plus important pour *Ruta chalepensis* (1,5 %) par rapport à *Lavandula stoechas* (0,95 %).

Des études réalisées par Mohammedi et Atik (2011) sur l'extraction de l'huile de *lavandula stoechas* ont indiqué que cette dernière est plus riche en composés volatiles qui représentent 2.01% du contenu en huile essentielle des feuilles sèches.

D'autres travaux, réalisés par Majdoub et *al.*, (2014) sur les feuilles de *Ruta chalepensis*, poussant en Tunisie, ont montré qu'elle est moins riche en composés volatiles avec un rendement de 0,34 %.

Les différences des rendements en huiles essentielles entre les espèces, peuvent être dues à diverses conditions notamment l'environnement, le génotype et l'origine géographique de la plante (Smallfield, 2001 in Bachiri et *al.*, 2016). Ces rendements peuvent même différer d'une partie à une autre de la même plante.

Merghache et *al.*, (2009) ont obtenu des rendements de 0,84%, 0,69%, 1,22% et 0,31% respectivement pour les parties aériennes, les feuilles, les fleurs et les tiges de *Ruta chalepensis*

III.1.2 Extrait éthanolique

Le rendement d'extraction des polyphénols totaux, à partir des pépins de *Citrus paradisi*, est de 8 % (figure 11).

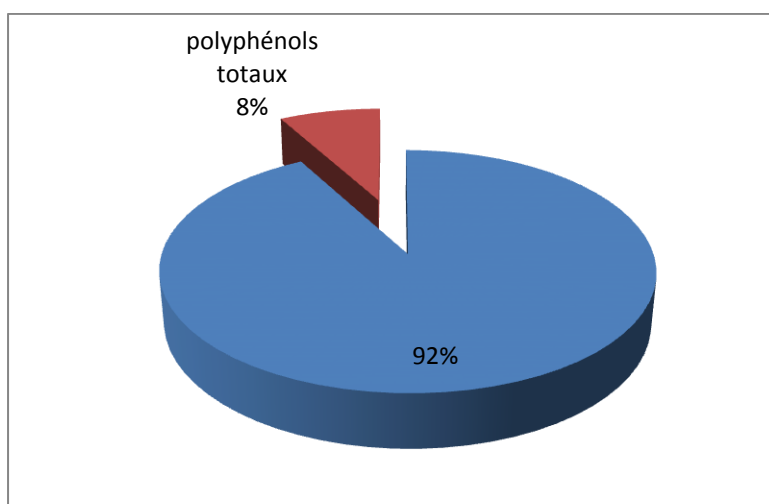


Figure 11 : Rendement en polyphénols totaux des pépins de Pamplemousse par rapport à la masse de matière

III.2 DOSAGE DES POLYPHENOLS

La concentration en polyphénols de l'extrait éthanolique, des pépins de *Citrus paradisi*, a été déterminée à partir d'une courbe standard utilisant l'acide gallique comme étalon de référence (figure 9).

La teneur des pépins de *Citrus paradisi* en polyphénols est évaluée à 1,66 mg équivalent d'acide gallique / g d'extrait.

Oboh et Ademosun (2006) ont obtenu une teneur en polyphénols égale à 2,9 mg/g sur l'écorce de *Citrus*, ce qui les polyphénols sont plus concentrés dans l'écorce que dans les pépins.

Selon Gbohaida et *al.*, (2015) la richesse en polyphénols de l'écorce est due au fait que la plante élabore plus de polyphénols au niveau de ses organes aériens pour se protéger contre les rayons solaires.

De manière générale, l'extrême variété de la teneur en composés phytochimiques pourrait être due essentiellement à la période et le lieu de récolte, la partie utilisée, le génotype, la technique d'extraction, le stade de développement de la plante ainsi qu'aux conditions climatiques et à l'altitude (Merghache et *al.*, 2009 ; Smallfield, 2001 in Bachiri et *al.*, 2016).

III.3 INHIBITION DE LA DENATURATION PROTEIQUE

L'activation incontrôlée ou prolongée de l'inflammation peut provoquer des altérations dangereuses, telles que la dénaturation de protéines. Ces dernières subissent une perte de leur structure qui aboutit à l'exposition d'autoantigènes (Clos, 2012), auparavant cryptiques, donnant naissance à de nombreuses maladies (arthritiques, rhumatoïdes,...) (Lanneau, 2010).

Selon Rathisre et *al.*, (2013), la méthode de la dénaturation protéique est la plus convenable pour l'évaluation *in vitro* de l'activité anti inflammatoire des extraits.

Les résultats de l'inhibition de la dénaturation de la sérumalbumine, par nos trois extraits sont représentés dans les figures 12, 13 et 14.

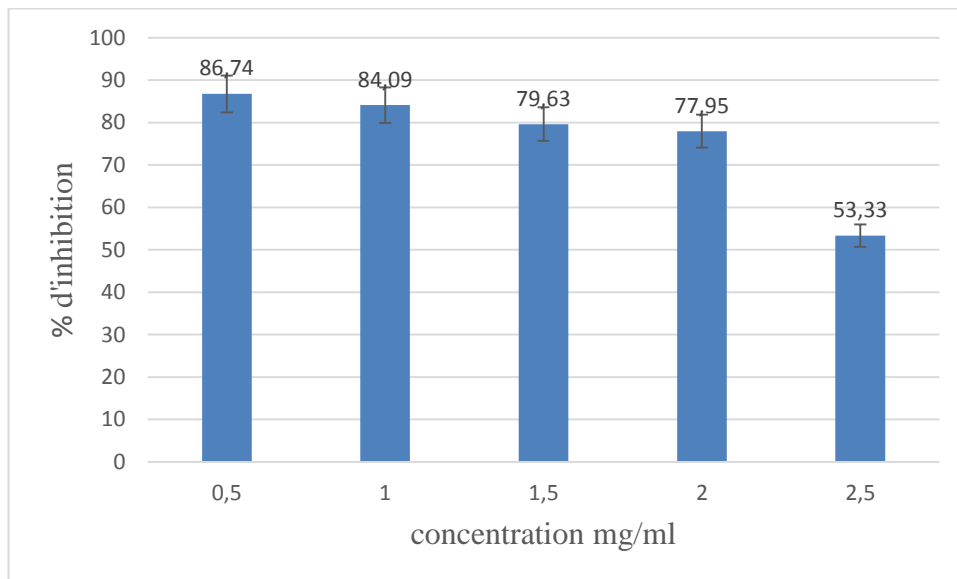


Figure 12 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA par l'extrait phénolique des pépins de Pampelmousse

Selon les résultats représentés dans la figure 12, on constate que l'effet anti dénaturant des polyphénols est inversement proportionnel à la concentration.

Le pourcentage d'inhibition le plus élevé (86.74%) est obtenu avec la concentration la plus faible (0.5 mg/ml). Ces résultats coïncident avec les résultats de Williams et *al.*, (2008), selon lesquels l'activité anti dénaturante, des composés naturels isolés à partir des plantes, est plus importante lorsque la concentration est faible (Williams et *al.*, 2008).

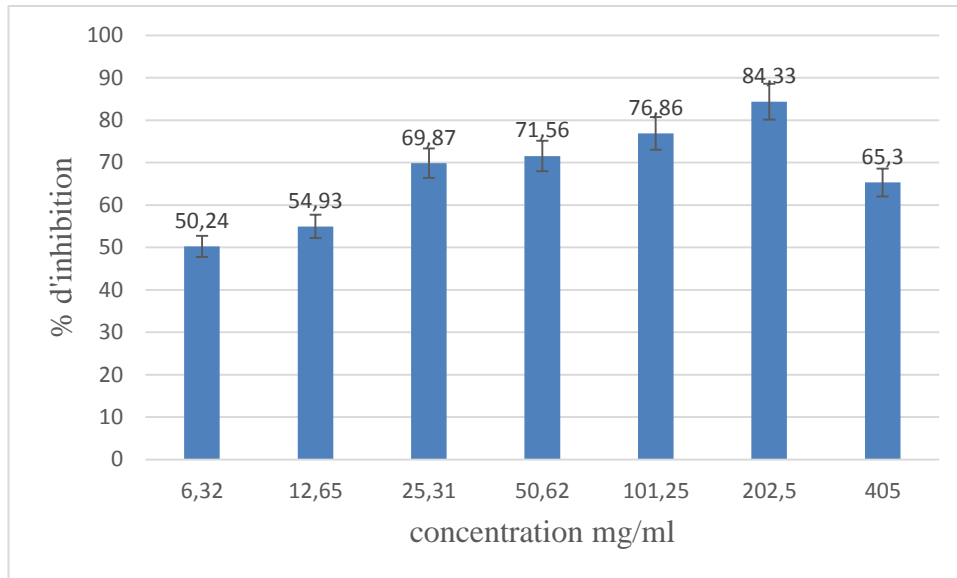


Figure 13 : pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA par l'huile essentielle
De *Ruta chalepensis*

D'après la figure 13 on remarque que le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine, par l'huile essentielle de *Ruta chalepensis*, est proportionnel à la concentration. La concentration 6,32 mg/ml donne 50,24 % d'inhibition et le maximum d'inhibition (84,33 %) est observé a une concentration 202,5 mg/ml.

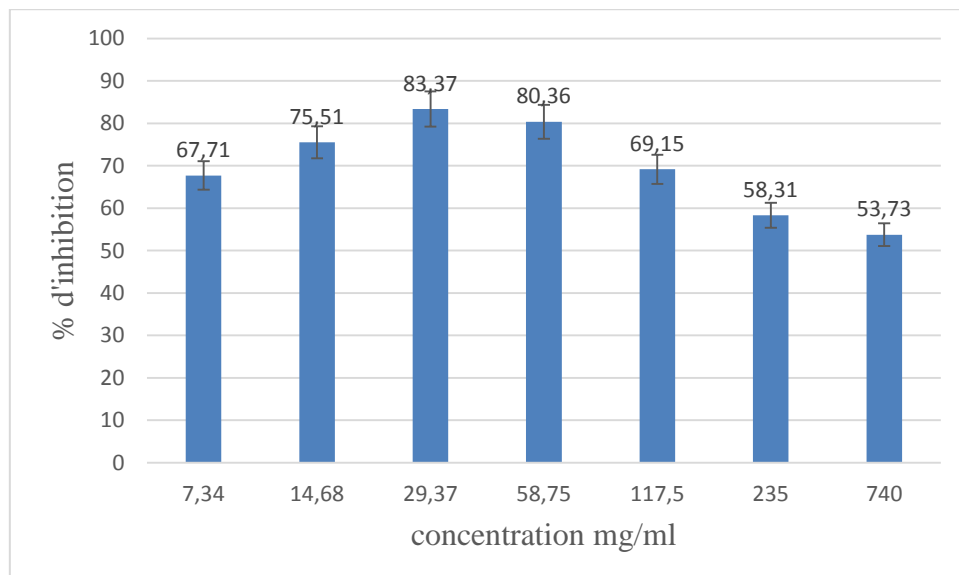


Figure 14 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA par
l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*

Les résultats obtenus avec l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* (figure 14) révèlent que l'inhibition de la dénaturation est concentration dépendante. La concentration de 29,37 mg/ml donne un maximum d'inhibition de 83,37 %.

Le standard utilisé (Diclofenac) a donné les pourcentages d'inhibition représentés en figure 15, avec un pourcentage d'inhibition d'environ 80% à des concentrations variant de 50 à 600 µg/ml et un pourcentage d'environ de 90% entre 900 et 1000 µg/ml.

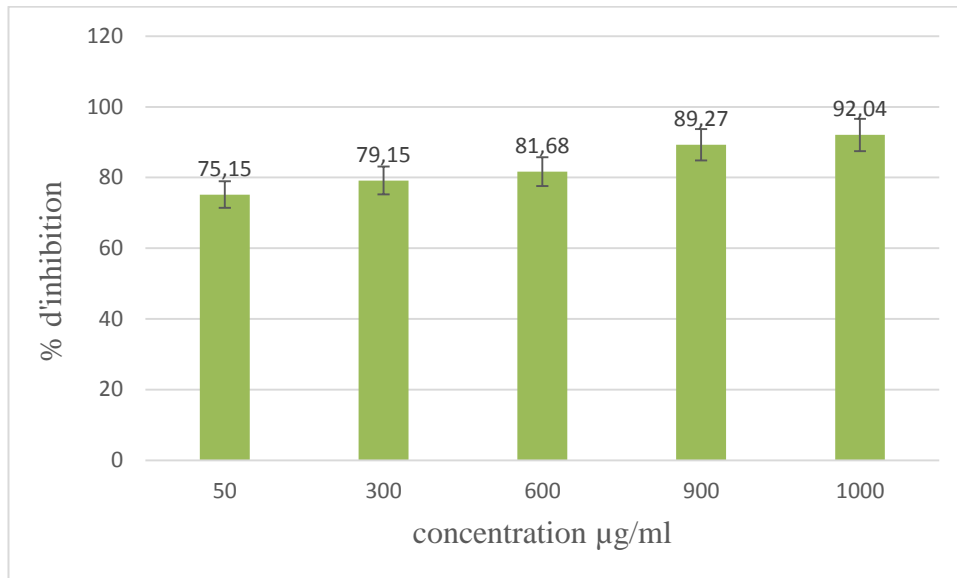


Figure 15 : pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA par le Diclofenac de sodium

La dénaturation protéique est un phénomène durant lequel la protéine perd sa structure tridimensionnelle, suite à son exposition à la chaleur, à un agent infectieux ou chimique (acide ou base forte) (Lanneau, 2010), induisant l'exposition de certains sites qui vont devenir des auto-antigènes (Jacquier-arlin et Polla, 1994).

La dénaturation protéique, *in vivo*, peut être la cause de l'apparition d'auto-antigènes dans certaines maladies arthritiques. Les agents possédant des propriétés protectives contre la dénaturation protéique, seraient de bons candidats pour le développement de nouvelles molécules anti-inflammatoires (Chandra et *al.*, 2012).

L'activité anti dénaturante des extraits pourrait être due à l'interaction de certains composants avec deux sites (présents au niveau de certaines protéines exp : albumine) de liaisons riches en Tyrosine, Thréonine et Lysine (Williams et *al.*, 2002 in Duganath et *al.*,

2010). Lu et ses collaborateurs ont rapportés que les composants des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle, exercent leurs effets pharmaceutiques grâce à leur capacité de se lier aux protéines plasmatiques (Lu et *al.*, 2008 in Duganath et *al.*, 2010).

En effet selon l'étude effectuée par Dufour et Dangles (2004) sur l'interaction des flavonoïdes avec l'albumine, cette dernière possède une forte affinité pour la quercétine, ce qui pourrait expliquer l'activité protectrice des polyphénols contre la dénaturation thermique de l'albumine.

La diminution de l'effet, de l'extrait éthanolique des pépins de pamplemousse avec l'augmentation de la concentration, pourrait impliquer un effet antagoniste des composés phénoliques minoritaires qu'il contient : parmi ses composants, certains exerceraient un effet opposé à d'autres se manifestant lorsque leur concentration est élevée, d'un autre elle pourrait être liée à la formation d'agrégats suite à la forte interaction entre l'albumine et certains composés (provoquent la précipitation de l'albumine).

Au-delà des concentrations de 29,37 mg/ ml et 202.5 mg/ml des huiles de *L. stoechas* et *R. chalepensis* respectivement, le pourcentage d'inhibition de la dénaturation diminue. Cette diminution pourrait s'expliquer par des réactions de toxicité. Selon l'enquête effectuée par Daoudi et ses collaborateurs les espèces du genre *Ruta* sont des plantes médicinales et toxiques et leur toxicité se traduit par des cas d'avortement (Daoudi et *al.*, 2016), en effet Mejri et ses collaborateurs ont rapporté qu'à des doses élevées l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* exerce une toxicité sur la germination des graines de blé.

Pour ce qui concerne *Lavandula stoechas*, Gilani et son équipe ont rapporté que son extrait aqueux exerce une génotoxicité (aberration chromosomique) (Gilani et *al.*, 2000 in Siddiqui et *al.*, 2016).

Elle peut également être due à un effet pro-oxydant de certaines molécules antioxydants constituant nos extraits : c'est-à-dire que ces molécules (au-delà de des concentrations citées) deviennent oxydantes et donc provoquent la dénaturation protéique suite à la production de radicaux libres.

De ce fait *R. chalepensis* et *L. stoechas* sont de remarquables plantes médicinales mais leur utilisation doit être faite avec prudence.

Conclusion et perspective

L'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles de *Lavandula stoechas*, *Ruta chalepensis* ainsi que de l'extrait éthanolique des pépins de *Citrus paradisi* (Pamplemousse) a été mise en évidence par l'évaluation de leur effet protecteur, contre la dénaturation thermique de l'albumine.

L'extraction des huiles essentielles des feuilles de *L. stoechas* et *R. chalepensis* a donné des rendements de 0.95 % et 1.5 % respectivement tandis que la poudre des pépins de pamplemousse a fourni un rendement de 8 %.

Nos différents extraits ont révélé une inhibition efficace de la dénaturation thermique de l'albumine sérique avec des pourcentages maximaux de 86.74%, 84.33% et 83.37% pour l'extrait éthanolique des pépins de *C. paradisi*, *R. chalepensis* et *L. stoechas* respectivement ils sont donc dotés d'une activité anti-inflammatoire. A Cet effet, ces résultats ouvrent de larges perspectives pour d'autres études afin de :

- Déterminer les molécules bioactives responsables de l'activité.
- Évaluer leur activité anti-inflammatoire *in vivo* en étudiant la toxicité.
- Déterminer leur mécanisme et leur mode d'action.
- Evaluer d'autres activités biologiques : antiulcéreuse, anticancéreuse,...etc.

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie

- Al-Said, M.S., Tariq, M., Al-Yahya, M.A., Rafatullah, S., Ginnawi, O.T et Ageel, A.M. (1990). Studies On *Ruta Chalepensis*, An Ancient Medicinal Herb Still Used In Traditional Medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 28: 305-312.
- Amra, S, (1991) in Merghache, S., Hamza, M et Tabti, B. (2009). Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie. *Afrique science*, 05 (1): 67-81.
- 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.
- Barone, G., Giancola, C et Verdoliva, A. (1992). DSC studies of the denaturation and aggregation of serum albumin. *Thermochim Acta*, 199: 197-205.
- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Colombatto, D., McAllister, T.A., et Beauchemin, K.A. (2008). A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, 145:209-228.
- Beniston, N.T, (1984) in Merghache, S., Hamza, M et Tabti, B. (2009). Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie. *Afrique science*, 05 (1): 67-81.
- Boizot, N et Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'Inra Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques*, p : 79-82.
- Bouhlali, E.D.T., Sellam, K., Bammou, M., Alem, C et Filali-zehzouti, Y. (2016). In vitro Antioxidant and anti-inflammatory properties of selected Moroccan medicinal plants. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6 (05) : 156-162.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. W., Castillejos, L et Ferret, A. (2007). Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90 (6): 2580-2595.
- Chabosseau, S et Derbré, S. (2015). *Cancer du sein : recommandations sur l'usage de la phytothérapie*. Elsevier Masson SAS. 45-49 p.

- Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P et Bhattacharya, S. (2012). Evaluation of in vitro anti inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 178-180.
- Chauvet, M. (1980). Pamplemousse ou pomelo : un cas exemplaire de conflit entre usage et norme. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 1: 55-81.
- Clos, J. (2012). *L'immunité chez les animaux et les végétaux*. Paris : Ed Elodie Lecoquerre. 296 p.
- Cordonnier, C. (2015). Extrait de pépins de pamplemousse : on l'utilise comment ?. *Top Santé*.
- Daoudi, A., Hrouk, H., Belaidi, R., Slimani, I., Ibjibjen, J et Nassiri, L. (2016). Valorization of *Ruta montana* and *Ruta chalepensis*: Ethnobotanical study, phytochemical screening and Antibacterial activity. *J. Mater. Environ. Sci*, 7 (3) : 926-935.
- Dufour, C et Dangles, O. (2004). Flavonoid-serum albumin complexation: determination of binding constants and binding sites by fluorescence spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1721 : 164– 173.
- Ellis, R.J et al, (1991) in Jacquier-sarlin, M.R et Polla, B.S. (1994). Protéines de stress : soi, non-soi et réponse Immune. *Médecine/sciences*, 10 (1): 31-41.
- 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.
- falleh, H et al, (2008) in Mahmoudi, S., Khali, M et Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L). *Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, (9) : 35-40.
- Gbohaïda, V., Mèdoatinsa, S. E., Nonviho, G., Bogninou-Agbidinokoun, G. S. R., Agbangnan, D. C. P et Sohounhloué, C. K. D.(2015). Etude chimique et évaluation de l'Influence de la granulométrie sur la cinétique d'extraction des polyphénols naturels de *Pterocarpus erinaceus* acclimaté au Bénin. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 12 (2): 325-333.

- Gilani, A.H., Aziz, N., Khan, M.N., Shaheen, F., Jabeen, Q., Siddiqui, B.S et Herzig J.W. (2000). Ethnopharmacological evaluation of the anticonvulsant, sedative and antispasmodic activities of *Lavandula stoechas* L. *J. Ethnopharmacol*, 71: 161-167.
- Gonzalez-Trujano, M. E et al, (2006) in Abbas, A., Demirci, B., Kiyan, H. T., Bernier, U. R., Tsikolia, M., Wedge, D.E., Khan, I. A., Baser, K. H.C et Tabanca, N. (2013). Biting Deterrence, Repellency, and Larvicidal Activity of *Ruta chalepensis* (Sapindales: Rutaceae) Essential Oil and Its Major Individual Constituents Against Mosquitoes., *Journal Of Medical Entomology*, 50 (6): 1267-1274.
- Gonzalez-Trujano, M.E et al, in Tounsi, M. S., Wannan, W. A., Ouerghemmi, I., Msaada, K., Smaoui, A et Marzouk, B. (2011). Variation in essential oil and fatty acid composition in different organs of cultivated and growing wild *Ruta chalepensis* L. *Industrial Crops and Products*. (33): 617-623.
- Herrera, J. (1997). The role of colored accessory bracts in the reproductive biology of *Lavandula stoechas*. *Ecological Society of America*, 78 (2): 494-504.
- http://fr.m.wikipedia.org/wiki/Ruta_chalepensis (anonyme 1).
- https://fr.wikipedia.org/wiki/Citrus_paradisi (anonyme 2)
- Iauk, L et al, (2004) in Tounsi, M. S., Wannan, W. A., Ouerghemmi, I., Msaada, K., Smaoui, A et Marzouk, B. (2011). Variation in essential oil and fatty acid composition in different organs of cultivated and growing wild *Ruta chalepensis* L. *Industrial Crops and Products*. (33): 617-623.
- Jacquier-sarlin, M.R et Polla, B.S. (1994). Protéines de stress : soi, non-soi et réponse Immune. *Médecine/sciences*, 10 (1): 31-41.
- Kalemba, D et Kunicka, A. (2003). Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*, (10): 813-829.
- Knobloch, K et al, (1989) in Giordani, R et Kaloustian, J. (2006). Action anticandidosique des huiles essentielles : leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques. *Phytothérapie*, (3):121-124.

- Lanneau, D. (2010). Rôle des protéines de choc thermique HSP90 et HSP70 dans la différenciation macrophagique. *Sciences agricoles. Université de Bourgogne.*
- Leelaprakash, G et Mohan Dass, S. (2011). Invitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *enicostemma axillare*. *International Journal of Drug Development & Research*, 3 (3): 189-196.
- Lu et al, (2008) in Duganath, N., Rubesh Kumar, S., Kumanan, R et Jayaveera, K.N. (2010). Evaluation Of Anti-Denaturation Property And Anti-Oxidant Activity Of Traditionally Used Medicinal Plants. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(2) : 1-7.
- Macheix, J.J. (1996). Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle ? *Acta Botanica Gallica*, 143 (6) : 473-479.
- Majdoub, O., Dhen, N., Souguir, S., Haouas, D., Baouandi, M., Laarif, A et Chaieb, I. (2014). Chemical composition of *Ruta chalepensis* essential oils and their insecticidal activity against *Tribolium castaneum*. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 9 (1): 83-90.
- Melpomeni, S., Chedly, A et Eugene, K. (1996). Essential Oil Variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *Stoechas* Growing Wild in Crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*, 24 (3): 255-260.
- Merghache, S., Hamza, M et Tabti, B. (2009). Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie. *Afrique science*, 05 (1): 67-81.
- Mira, J.P. (2008). L'albumine endogène : un pouvoir anti-oxydant majeur. *Réanimation*, 3: 7-9.
- Mohammedi, Z et Atik, F. (2012). Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Revue « Nature & Technologie »*, (06) : 34-39.
- Mahmoudi, S., Khali, M et Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L). *Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, (9) : 35-40.
- Morton, J.F. (1987). *Fruits of warm climates*. Ed Echo point Books & Media. 152–158 p.
- Ndoye Foe, F.M.C., Tchingang, T.F.K., Nyegue, A.M., Abdou, J.P., Yaya, A.J.G., Tchinda, A.T., Essame, J.L.O et Etoa, F.X. (2016). Chemical composition, in vitro antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oils of four dietary and medicinal plants from Cameroon. *BMC complimentary & Alternative Medicine*, 16 : 117.

- Nguyen, V.T et al, (1989) in Lanneau, D. (2010). Rôle des protéines de choc thermique HSP90 et HSP70 dans la différenciation macrophagique. *Sciences agricoles. Université de Bourgogne*.
- Ntalli, N.G., Manconi, F., Leonti, M., Maxia, A et Caboni, P. (2011). Aliphatic Ketones from *Ruta chalepensis* (Rutaceae) Induce Paralysis on Root Knot Nematodes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 :7098-7103.
- Oboh, G et Ademosun, A.O. (2006). Comparative Studies on the Ability of Crude Polyphenols from some Nigerian Citrus Peels to Prevent Lipid Peroxidation in vitro. *Asian Journal of Biochemistry*, 1(2): 169-177.
- Ouhaddad, Malik. 31/10/2016. Lexique Des Plante /Français- Kabyle.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C et Pouységu, L. (2011). Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. *Angewandte Chemie*, 50 : 586-621.
- Rao, V.S.N et al, (1979) in Siddiqui, M.A., Khalid, M., Akhtar, J., Siddiqui, H.H., Badruddeen., Ahmad, U., Ahsan, F., Khan, M. M., Ahamd, M et Ali, A. (2016). *Lavandula Stoechas* (Ustukhuddus): A miracle plant. *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences*, 3 (1): 96-102.
- Rathisre, P. R., Mohan, R et Murugesan, K. (2013). In-vitro Anti-Inflammatory Activity of Methanolic Root Extract of *Erythrina Indica* Lam. *International Journal of Research in Chemistry and Environment*, 3(4): 48-51.
- Ribéreau-Gayon, P, (1968) in Boizot, N et Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'Inra Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques*, p : 79-82.
- Sandur, S. K et al, (2007) in Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C et Pouységu, L. (2011). Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. *Angewandte Chemie*, 50 : 586-621.
- Siddiqui, M.A., Khalid, M., Akhtar, J., Siddiqui, H.H., Badruddeen., Ahmad, U., Ahsan, F., Khan, M. M., Ahamd, M et Ali, A. (2016). *Lavandula Stoechas* (Ustukhuddus): A

miracle plant. *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences*, 3 (1): 96-102.

- Sierra, M.J., Millán, R et Esteban, E. (2009). Mercury uptake and distribution in *Lavandula stoechas* plants grown in soil from Almadén mining district (Spain). *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2761-2767.

- Smallfield, B, (2001) in Bachiri, L., Echchegadda, G., Ibibijeni, J et Nassiri, L. (2016). Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc : «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.». *European Journal of Scientific Research*, 12(30) : 313-333.

- Tounsi, M. S., Wannes, W. A., Ouerghemmi, I., Msaada, K., Smaoui, A et Marzouk, B. (2011). Variation in essential oil and fatty acid composition in different organs of cultivated and growing wild *Ruta chalepensis* L. *Industrial Crops and Products*. (33): 617-623.

- Van de Braak, S.A.A.J et al, (1999) in Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223-253.

- Williams, L.A.D et al, (2002) in Duganath, N., Rubesh Kumar, S., Kumanan, R et Jayaveera, K.N. (2010). Evaluation Of Anti-Denaturation Property And Anti-Oxidant Activity Of Traditionally Used Medicinal Plants. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(2) : 1-7.

- 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*, 57 (4): 327- 331.

- Zhu, M et al, (1997) in Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C et Pouységu, L. (2011). Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. *Angewandte Chemie*, 50: 586-621.

Annexe

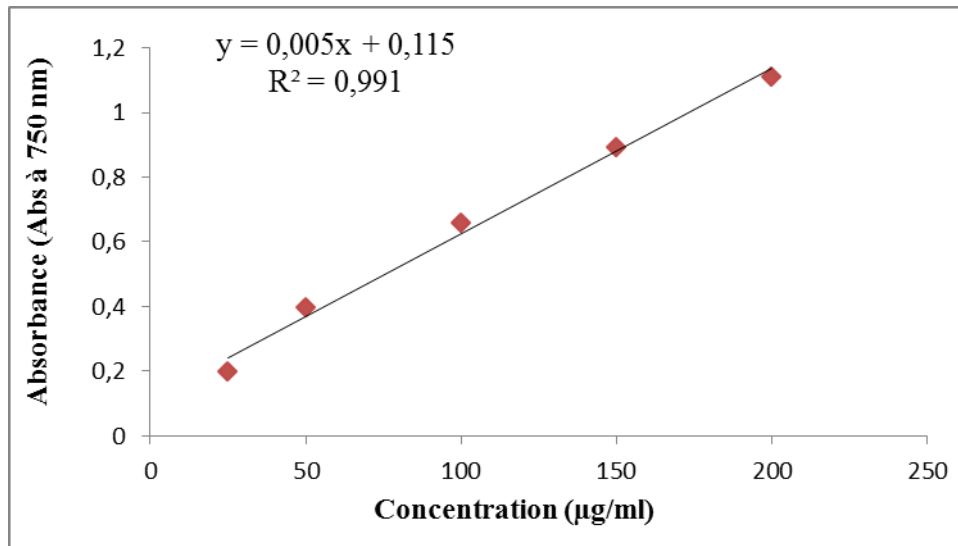


Figure : courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Résumé

L'inflammation est un moyen de défense de l'organisme vis-à-vis des agressions étrangères, mais dans certains cas, elle est à l'origine de plusieurs maladies. Dans ce travail nous nous sommes intéressés à l'activité anti inflammatoire, *in vitro*, des huiles essentielles de *Ruta chalepensis* et *Lavandula stoechas* ainsi que de l'extrait éthanolique des pépins de *Citrus paradisi* (Pamplemousse), ceci par l'évaluation de leurs propriétés protectives contre la dénaturation thermique de l'albumine (BSA). Les résultats obtenus ont révélé la présence de propriétés anti dénaturantes chez les trois plantes testées, avec des pourcentages d'inhibitions de 86.74% pour l'extrait de pépins de Pamplemousse à une concentration de 0.5 mg/ml, 83.37% pour *L. stoechas* à une concentration de 29.37 mg/ml et 84.33 % pour *R. chalepensis* à une concentration de 202.5 mg/ml.

Motsclés : *Lavandula soeckas*, *Ruta chalepensis*, *Citrus paradisi*, activité anti-inflammatoire, albumine, dénaturation.

Abstract

The inflammation is a means of defending the organism against foreign aggression. However, in some cases it causes several diseases. In this work we were interested in the anti-inflammatory activity *in vitro*, of the essential oils of *Ruta chalepensis* and *Lavandula stoechas* as well as of the ethanolic extract of the seeds of *Citrus paradisi* (Grapefruit), this by the evaluation of their protective properties against Thermal denaturation of albumin (BSA). The results obtained revealed the presence of anti-denaturing properties in the three plants tested, with percentages of inhibitions of 86.74% for grapefruit seed extract at a concentration of 0.5 mg / ml, 83.37% for *L. stoechas* at a concentration of 29.37 mg / ml and 84.33% for *R. chalepensis* at a concentration of 202.5 mg/ml.

Keywords: *Lavandula soeckas*, *Ruta chalepensis*, *Citrus paradisi*, anti-inflammatory activity, albumin, denaturation.

المخلص

الالتهاب هو وسيلة دفاع للجسم ضد الأجسام الغريبة، لكن في بعض الأحيان هو مصدر الكثير من الأمراض. في هذا العمل اهتمنا بالنشاط المضاد للالتهابات، في المختبر، للزيوت الأساسية للسداب الحلبي، الضرم المكور و أيضا المستخلص الاثانولي لمسحوق بذور جريب فروت، هذا عن طريق تقييم خاصيتهم الوقائية ضد التمسخ الحراري للألبومين.

النتائج المتحصلة عليها أظهرت وجود خاصية ضد التمسخية عند النباتات الثلاث المدروسة، مع نسب تثبيط التمسخ المقدرة ب 86.74 بالمئة لمستخلص بذور جريب فروت للتركيز 0.5 مغ/مل، 83.37 بالمئة للضرم المكور للتركيز 29.37 مغ/مل و 84.33 بالمئة للسداب الحلبي مع تركيز 202.5 مغ/مل.

الكلمات المفتاحية: الضرم المكور، السداب الحلبي، جريب فروت، النشاط المضاد للالتهابات، بروتين الألبومين، مسخ.