



جامعة قسنطينة 1
UNIVERSITÉ CONSTANTINE 1

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



جامعة قسنطينة 1
UNIVERSITÉ CONSTANTINE 1

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم: الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département : de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la nature et de la vie

Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé :

Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de l'*Artemesia Campestris*

Présenté et soutenu par : *Melle ALLAL Nadjiba*

Le : 19 / 09 / 2021

Melle BENHAMIDA Manel

Jury d'évaluation:

Président du jury : MCB KITOUNI Rachid - Université des Frères Mentouri Constantine 1.

Rapporteur : MCB HAROUNI Sofiane - Université des Frères Mentouri Constantine 1.

Examineur : MCA BOUANIMBA Nour - Université des Frères Mentouri Constantine 1.

*Année universitaire
2020– 2021*

Remerciement

Nous commençons par remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la volonté, l'amour du savoir et surtout le courage et la patience pour effectuer ce modeste travail.

Nous souhaitons remercier dans un premier temps, toute l'équipe pédagogique de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Nous avons eu la chance et le plaisir d'effectuer ce travail de recherche à la Faculté des Sciences de la nature et de la vie à l'Université de Constantine 1.

Nos remerciements s'adressent en particulier à Mr : Harouni Sofiane, encadreur de notre mémoire de master, qu'il est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Nos remerciements vont également aux membres du jury qui nous ont donné de leur temps pour lire et évaluer ce modeste mémoire.

Merci à nos amis de promotion qui ont su nous accompagner dans notre projet d'étude en Biochimie Appliquée

Enfin, Nous tenons à remercier profondément et sincèrement tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci à tous ...

Dédicace



A mon père ♥

Qui m'a donnée toujours le courage, l'espoir et la chance d'atteindre mes buts et qui m'a été toujours un grand secours par son soutien et son encouragement pendant les moments difficiles.

Qu'Allah, le tout miséricordieux, te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

A ma mère ♥

Ma raison de réussite, l'exemple parfait de la femme idéale, le symbole de l'amour, la tendresse, la sympathie et le sacrifice, qui m'a toujours orienté pour acquérir le bonheur dans cette vie.

Qu'Allah, tout puissant, te donne santé, bonheur afin que je puisse te combler à mon tour.

♥♥♥ Je vous aime mes parents ♥♥♥

A mes très chères sœurs YASMINA, IMAN, NESRINE et à mes frères ADEL et AYOUB

*A ma moitié ALAA ma petite nièce RAZAN
En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte
pour vous, Fière d'être entourée par vous*

*A ma très chère tante SALIHA
grâce à ta compréhension, tes encouragements, ton soutien,
tes efforts et tes sacrifices, que j'aboutis à ça.*

A mon binôme Manel....♥

*En témoignage de l'amitié et des souvenirs que nous avons passés
ensemble, je te souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

.....ALLAL Nadjiba

Dédicace



Avec l'aide de Dieu le tout puissant clément et miséricordieux, j'ai pu accomplir ce travail que

je dédie :

*Le plus cher à mon cœur à **ma mère**, pour tous les sacrifices qu'elle me contente, toute la confiance qu'elle m'accorde et tout l'amour dont elle m'entoure, que Dieu la protège*

***A mon père**, en espérant que Dieu entoure lui par compassion, et lui fait une place au paradis.*

Et je souhaite qu'il puisse être fier de moi.

♥♥♥ Je vous aime mes parents ♥♥♥

*A mes adorables sœur AMIRA, ILHEM, ZINA et KHADIJA
A mes très chers oncles FAICEL*

En témoignage de mon amour éternel que dieu vous garde, vous protège et vous offre une vie pleine de joie et de réussite.

*A ma très chère tante SORIYA
Grâce à ta compréhension, tes encouragements, ton soutien,
tes efforts et tes sacrifices, que j'aboutis à ça.*

A mac cher binôme NADJIBA...♥

A tous mes professeurs qui nous ont enseigné.

A tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, m'ont soutenue ou aidé durant la réalisation de ce travail.

.....BENHAMIDA MANEL

Résumé

La famille des *Astéracées* contient des plantes aromatiques et médicinales qui possèdent une grande importance en médecine traditionnelle grâce à leur confinement de métabolites bioactifs secondaires (terpènes et huiles essentielles, polyphénol) ce qui en fait un sujet important de la recherche scientifique. Les composés de cette famille possèdent également des propriétés physico-chimiques très différentes, ce qui lui confère leur diverses activités biologiques (anti-tumorales, antivirales, antioxydantes, ...etc.), donc la valorisation de ces principes actifs d'origine naturelle revêt une importance économique.

En raison de l'importance biologique de cette famille, nous nous sommes intéressés par l'espèce d'*Artemisia Campestris*, qui est particulièrement répandue dans plusieurs pays. D'après le ressemblant et le résumé que nous avons réalisé sur l'essentiel des recherches bibliographiques réalisées sur ces plantes, nous avons constaté que la plante d'*Artemisia Campestris* possède une source importante des métabolites secondaires, et d'après les résultats obtenus dans ces travaux, on a trouvé que d'*Artemisia Campestris* contient essentiellement des huiles essentielles, des flavonoïdes, des tanins ...ect. L'étude de l'activité biologique d'*Artemisia Campestris* réalisée dans un nombre de travaux scientifiques a montré l'existence de plusieurs activités très significatives, tel que : l'activité antioxydante, activité antibactérienne, anti-inflammatoire et antiviralect

Mots clés : Asteraceae, *Artemisia campestris*, métabolite secondaire, activité antioxydante, activité antimicrobienne

Abstract

The Asteraceae family contains aromatic and medicinal plants which are of great importance in traditional medicine thanks to their confinement of secondary bioactive metabolites (terpenes and essential oils, polyphenol) which makes them an important subject of scientific research. The compounds of this family also have very different physicochemical properties, which gives it their various biological activities (anti-tumor, antiviral, antioxidant, etc.), therefore the enhancement of these active ingredients of natural origin takes on a economic importance.

Due to the biological importance of this family, we were interested in the species of *Artemisia Campestris*, which is particularly widespread in several countries. According to the resemblance and the summary that we carried out on the main part of the bibliographical research carried out on these plants, we noted that the plant of *Artemisia Campestris* has an important source of secondary metabolites, and according to the results obtained in this work, it was found that *Artemisia Campestris* essentially contains essential oils, flavonoids, tannins... ect. The study of the biological activity of *Artemisia Campestris* carried out in a number of scientific works has shown the existence of several very significant activities, such as: antioxidant activity, antibacterial, anti-inflammatory and antiviral activity ect.

Key words: Asteraceae, *Artemisia Campestris*, secondary metabolite, antioxidant activity, antimicrobial activity

الملخص.

تحتوي عائلة " إيستراز " على نباتات عطرية وطبية ذات أهمية كبيرة في الطب التقليدي بفضل حصرها في المستقلبات الثانوية النشطة بيولوجياً (التربينات والزيوت الأساسية ، البوليفينول) مما يجعلها موضوعاً مهماً للبحث العلمي. تحتوي مركبات هذه العائلة أيضاً على خواص فيزيائية كيميائية مختلفة جداً ، مما يمنحها أنشطة بيولوجية مختلفة (مضاد للأورام ، ومضاد للفيروسات ، ومضاد للأكسدة ، وما إلى ذلك) ، وبالتالي فإن تعزيز هذه المكونات النشطة ذات الأصل الطبيعي يكتسب أهمية اقتصادية

نظراً للأهمية البيولوجية لهذه العائلة ، فقد كنا مهتمين بأنواع *Artimisia Campestris*، والتي تنتشر بشكل خاص في العديد من البلدان. وفقاً للتشابه والملخص الذي أجريناه على الجزء الرئيسي من البحث البيليوغرافي الذي أجري على هذه النباتات ، لاحظنا أن نبات *Artimisia Campestris* له مصدر مهم للمستقلبات الثانوية ، ووفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها في هذا العمل، وجد أن *Artimisia Campestri* تحتوي بشكل أساسي على الزيوت الأساسية والفلافونويد والعفص ... إلخ. أظهرت دراسة النشاط البيولوجي لأرتيميسيا كاي مبستريس التي أجريت في عدد من الأعمال العلمية وجود العديد من الأنشطة الهامة للغاية ، مثل: نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا ، مضاد للالتهابات ومضاد للفيروسات إلخ.

كلمات مفاتيح : Asteracea ، *Artemisia Campestris* ، المستخلصات العضوية ، النشاطية المضادة للأكسدة ،

النشاطية المضادة للميكروبات .

Table de matière

Résumé	
Table de matière	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste d'abréviations	

Chapitre 1 : étude botanique de la plante

1. introduction généralité	(1)
1.1. Présentation de la plante	(3)
1.2. Noms vernaculaires	(3)
1.3. Nom scientifique	(3)
1.4. Description botanique	(3)
1.4.1. Caractère botanique	(3)
1.5. Systématique de la plante	(4)
1.6. Origine et répartition géographique	(5)
1.7. Compositions chimiques et huiles essentielles d' <i>Artemisia campestris</i>	(5)
1.8. L'utilisation traditionnelle d' <i>Artemisa campestris</i>	(7)
1.9. Activités biologiques	(7)
a- Activité antioxydante	(8)
b- Activité antibactérienne	(8)
c- Effet insecticide.....	(8)
d- Activité antiparasitaire	(8)
e- Activité antidiabétique.....	(8)
f- Activité antipoison.....	(9)
g- Propriétés allopathiques	(9)
1.10. Toxicité	(9)

Chapitre 2 : Métabolites secondaires.

2. 1. Définition	(10)
2. 2. Les composés polyphénoliques.....	(11)
2. 2.1. Les structures chimiques.....	(11)
2. 2.2. Classification des polyphénols.....	(12)
2. 3. Les flavonoïdes	(13)
2. 4. Les tanins	(14)
2. 5. Anthocyanes	(16)
2. 6. Huile essentielle	(17)
2. 6.1. Définition	(17)
2. 6.2. Localisation et répartition	(17)

2. 6.3. Composition chimique des huiles essentielles	(18)
2.6.4. Les procédés d'extraction.....	(19)
2. 6.5. Propriétés antioxydantes des huiles essentielles.....	(21)
2. 6.6. Mode d'action contre les bactéries	(22)

Chapitre 3 : Le stress oxydatif

3.1. Définition	(24)
3.2. Les radicaux libres	(24)
3.3. Les espèces réactives de l'oxygène	(25)
3.3.1. Le radical superoxyde	(25)
3.3.2. Le radical hydroxyle	(26)
3.3.3. Le peroxyde d'hydrogène	(26)
3.4. Origine de stress oxydant	(26)
3.5. Les conséquences du stress oxydant..... ;.....	(27)
3.5.1. L'oxydation de protéines	(27)
3.5.2. L'oxydation des l'ADN.....	(28)
3.5.3. L'oxydation des lipides	(28)
a- L'étape primaire.....	(28)
b- Phase de diffusion.....	(28)
c- L'étape finale	(28)
3.6. Les antioxydants	(28)
3.6.1. Les antioxydants endogènes	(29)
3.6.1.1. La superoxyde dismutase.....	(29)
3.6.1.2. La catalase	(30)
3.6.1-3. La glutathion peroxydase	(31)
3.6.1.4. Les chélateurs de métaux	(32)
3.6.2. Les antioxydants exogènes	(33)
3.6.2.1. Les vitamines	(33)
a- La vitamine E	(33)
b- La vitamine C..... ;.....	(34)
3.6.2.2. Les oligoéléments	(34)
3.6.2 3. Antioxydants d'origine végétale.....	(35)
3.7. Les maladies liées au stress oxydatif	(36)

Chapitre4 : Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur *l'Artemisia Campestris*

4. Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur <i>l'Artemisia Campestris</i>	(37)
4.1. Synthèse des travaux chimique d' <i>Artemisia Campestris</i>	(37)
4.1.1. Rendement d'extraction	(37)
4.1.2. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes.....	(38)

4.1.2.1. Teneurs en polyphénols.....	(38)
4.1.2.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux.....	(40)
4.1.2. 3. Détermination des tanins totaux	(40)
4.1.2. 4. Composition chimique d'Huile Essentielle d' <i>Artemisia Campestris</i> L	(41)
4.2. Synthèse des travaux biologiques d' <i>Artemisia Campestris</i>	(45)
4.2.1. L'activité antioxydants.....	(45)
4.2.1.1. Activité organo-protectrice.....	(53)
4.2.2. L'activité anti-inflammatoire.....	(54)
4.2.3. L'Activité antivenin.....	(55)
4.2.4. L'Activité antiulcéreux.....	(56)
4.2.5. Activité antibactérienne	(56)
4.2.6. Activité insecticide	(58)
4.2.7. Activité antidiabétique.....	(58)
4.2.7. Activité antitumoral	(58)
4.2.8. Activité antivirale.....	(59)
Conclusion.....	(62)

Liste des figures

- Figure 1** : Image et dessins d'*Artemisia campestris L*
- Figure 2** : Répartition géographique d'*Artemisia campestris L*
- Figure 3** : Classification des quelques métabolites secondaires
- Figure 4** : Quelques structures des composants phénoliques
- Figure 5** : Structure de base des flavonoïdes
- Figure 6** : Structure des différentes classes des flavonoïdes
- Figure 7** : Classification des tanins
- Figure 8** : Structure chimique des tanins hydrolysables
- Figure 9** : Structure chimique de tanins galliques
- Figure 10** : Structure chimique de tanins ellagiques
- Figure 11** : Structure chimique de tanins condensés
- Figure 12** : Structure de base des anthocyanidines
- Figure 13** : Schéma du principe de la technique d'hydro distillation
- Figure 14** : Schéma de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau
- Figure 15** : Montage d'extraction par micro- ondes
- Figure 16** : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne
- Figure 17** : Structure tridimensionnelle de La superoxyde dismutase
- Figure 18** : Structure tridimensionnelle de la catalase
- Figure 19** : Structure tridimensionnelle de la glutathion peroxydase
- Figure 20** : Réaction de dimérisation du glutathion
- Figure 21** : Cycle de détoxification par la glutathion peroxydase
- Figure 22** : Structure chimiques des vitamines E
- Figure 23** : Structure chimique de la vitamine C
- Figure 24** : Droite d'étalonnage des polyphénols totaux des extraits
- Figure 25** : Evaluation des polyphénols totaux des extraits résultats
- Figure 26** : Chromatogramme GC-MS de l'huile essentielle d'*A. CampestrisL.* (AcEO).
- Figure 27** : Structures chimiques des composés volatils de l'huile essentielle d'*A. CampestrisL.* (AcEO).

Liste des tableaux

Tableau1 : Teneur en polyphénols, de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* L. Plante
Phénols totaux à Flavonoïdes b Dérivés hydrox cinnamiques c Dérivés hydrox.

Tableau2 : Principaux flavonoïdes rencontrés chez *Artemisia campestris*.

Tableau3 : Composition chimique majoritaire de l'huile essentielle d'*Ariemisia campestris*.

Tableau4 : Les principales classes des composées phénoliques.

Liste des abréviations

ROS : Reactive oxygen species.

FRAP : Le pouvoir antioxydant réducteur ferrique.

ERV : Entérocoques résistants à la vancomycine.

SARM : Staphylocoques dorés résistants à la méthicilline.

RP : Puissance radicalaire.

ABTS : 2,2-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

Abs : Absorbance.

ACAE : Extrait aqueux d'*Artemisia campestris*

ADN : *Acide Désoxyribonucléique*.

ALP: *Phosphatase alcaline*

AOPP : Produits protéiques d'oxydation avancée

A. Campestris L. : *Artemisia campestris* L

AST : Aspartate aminotransférase

AST : Aspartate aminotransférase

BHT: Butylated hydroxytoluène

BHA : *Hydroxyanisole de butyle*.

Ca⁺⁺ : Calcium

CAT: Catalase capacité antioxydant totale (TAC)

CCl₄ : Tétrachlorure de carbone

CE : Catéchines

CG-MS : Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

CL 50 : Concentration létale qui provoque 50% de mortalité dans la population

CPF : Chlorpyrifos

DL50 : Dose létale qui tue 50% de la population

DPPH : 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyle

µgEAG/mg d'extrait : Microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait

mg EAC /mg Ps : Milligramme d'équivalent de l'acide caféique par milligramme de poids sec de l'extrait (mg EAC/mg Ps).

EAE : Extrait aqueux éthanolique

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion réduit

GST : Glutathion-s- transférase

HCl : Acide chlorhydrique

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HP-5MS :

IC50 : la concentration d'inhibition a 50%

K⁺ : potassium

LDH : lactate déshydrogénase

LDL: *Low Density Lipoprotein*.

LPO :

MD : La Méthidathion

MDA : La malondialdéhyde

MS : Spectre de masse

MTT : 3-(4,5- bromure diméthylthiazol-2-yl)-2 ,5- diphényltétrazolium)

Na⁺ : sodium

NDGA : acide nordihydroguaiarétique

mgQE /gextrait : mg d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg QE/g extrait).

RGO : reflux gastro- œsophagien

ACEO : Huiles essentielles d'*Artemisia campestris*

SH: sulfhydryle

SOD: superoxyde dismutase

TBARS: Thiobarbituric Acid Rective Substance

TROLOX : 6-hydroxy-2, 5, 7,8-tetramethylchromane-2-carboxylique

VIH : Virus de L'Immunodéficience Humaine.

VSV : virus de la stomatite vésiculaire

µM: Microgramme melle

µg/ml : Microgramme par millilitre.

HT-29 : Humaine Lignée cellulaire

NF-κB: Nuclear Factor-kappa B

US: National Library of Medicine

OH: Radical hydroxyle.

O₂ : Radical superoxide.

H: Hydrogène

Fe²⁺ : l'ion de ferreux

GSSG : Glutathion disulfid

GSH : Glutathion

ROOH:Hydroperoxyde

NADPH: Nicotinamide-Adenine -Dinucleotide- Phosphate

ROH: alcool éthylique

H₂O: l'eau

NADP: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

(Cu) : Cuivre

(Zn) : Zinc

(Se) : Sélénium

RO₂· : peroxydes

(Car) : caroténoïdes

α-T: α- tocopherol

AscH:Activating signal cointegrator-1homology

Asc: Human activating signal cointegrator

Vitamine C: acide ascorbique

Pk :Constante dissociation des électrolytes

Vitamine E : tocophérol

*Introduction
générale*

Introduction

La nature a été une source d'agents médicinaux pendant des milliers d'années et un nombre impressionnant de médicaments modernes ont été isolés à partir de plantes médicinales. Voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés : les métabolites secondaires. L'utilisation de plantes médicinales pour améliorer la santé est une ancienne pratique. Cependant, ces dernières années, il a été observé un intérêt croissant des chercheurs scientifiques pour étudier les activités.

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia*, ce dernier appartient à la famille des *Astéracées*, les espèces d'*Artemisia* sont largement utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques. Parmi les espèces les plus connues se trouve « *Artemisia campestris* ». Cette plante est largement utilisée dans la phytothérapie pour traiter les troubles digestives, les ulcères, les brûlures, la diarrhée (**Rauter et al., 1998 ; Akrouf et al., 2001**), et a constitué le sujet de plusieurs études qui font déterminer leurs compositions chimiques, ainsi que ses propriétés biologiques (**Memmi et al., 2007 ; Akrouf et al., 2011**).

Le monde scientifique est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant ». Il est défini comme l'incapacité, pour un organe ou des cellules, de se défendre contre l'agression des radicaux libres dérivés de l'oxygène (**Tessier et Marconnet, 1995**). Le stress oxydant entraîne dans plusieurs maladies telle que les maladies cardiovasculaire, neurodégénératives et le cancer (**Pincemail et al., 2002**).

L'objectif de notre travail vise à une étude théorique de la plante *Artemisia campestris* dans le but de démontrer la richesse de cette plante en principes actifs (Huiles essentielles, flavonoïdes) et à déterminer leurs propriétés biologiques. Pour cela notre étude est basée sur deux aspects, dont le premier s'intéresse à l'ordre phytochimique de la plante sélectionnée et le second est consacré à une évaluation théorique des activités biologiques de cette plante, en se basant sur des travaux de recherches antérieures.

Le présent travail est constitué donc de deux parties:

La première partie est répartie en trois chapitres : le premier chapitre, comprend une étude bibliographique concernant une description détaillée de la plante étudiée *Artemisia campestris* et de sa composition et classification chimique et aussi ses propriétés biologiques.

Introduction générale

Le deuxième chapitre est consacré aux métabolites secondaires, les composés phénoliques, flavonoïdes, tanins, les huiles essentielles leurs classifications, et leurs propriétés pharmacologiques.

Le troisième chapitre appréhende le stress oxydatif, les antioxydants, et les maladies liées au stress oxydant

Dans la deuxième partie, nous avons conçu un résumé des travaux de recherche antérieurs réalisés sur la plante sélectionnée *Artemisia campestris*.

Enfin nous avons terminé notre travail par une conclusion.

Chapitre 1

Etude botanique de la plante

I. La plante *Artemisia campestris* L.

1. Généralité

1.1. Présentation de la plante

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées : c'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille ; il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces (Mucciarelli and Maffei., 2002).

Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides cafféoylquinic, les coumarines, les huiles essentielles, les stérols et les acétylènes (Kundan et Anupam., 2010).

Artemisia campestris L. a des propriétés allélochimiques inhibant la croissance et la germination de certaines plantes qui l'entourent (Neffati, 2002).

En l'Algérie, ce genre est représenté par 11 espèces parmi lesquelles se trouve l'*Artemisia campestris* L (Quezel et santa, 1963).

1.2. Noms vernaculaires

- **En Français** : Armoise champêtre, Aurogne-des-champs.
- **En Arabe (Algérie)** :
 - **Chaouia** : tguft
 - **Mazabite** : hellâla ou alâ
 - **Touaregs** : taga (Benchelah et al., 2004 ; Boudjelal et al., 2013).
- **En Anglais**: Field wormwood Name also Tall wormood.

1.3. Nom scientifique

Artemisia campestris L. (Quezel et Santa, 1963).

1.4. Description botanique

Ariemisia campestris L. est une plante des Hauts plateaux. Elle est d'origine méditerranéenne. Elle est fréquente au Hoggar, plus rare au tassili (Houmani, 2007).

1.4.1. Caractère botanique

Artemisia campestris L. est un arbuste aromatique herbacée vivace a tiges robustes d'une hauteur de 30 à 80 cm, possède très petits capitules étroits de 1 à 1.5 mm ovoïdes ou coniques, involucre sec et translucide et contient quelques fleurs jaunes bordées de rouge (maximum 8 fleurs) aux poils blanc a bruns. Les feuilles d'*Artemisia campestris* L sont glabres de couleur verte foncée, les inférieures dipinnatiséquées, les supérieures

pinnatiséquées, les basales pétiolées et auriculées, les tiges sont ligneuses à la base striée (David, Hervé., 1994 ; Ozenda 1985, Quezel et Santa 1963)



Figure1 : Image et dessins d'*Artemisia campestris* L.

1.5.Systématique de la plante

Selon Caratini (1971), la plante *Artemisia campestris* L. est classée dans :

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Embranchement : Spermatophyta

Sous embranchement : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Asteridae

Ordre : Asterales

Famille : *Asteraceae*

Sous famille : *Asteroideae*

Tribu : *Anthemideae*

Sous Tribu : *Artemisiinae*

Genre : *Artemisia*

Espèce : *Artemisia Campestris* L.

1.6. Origine et répartition géographique

Géographiquement, *Artemisia campestris* L prédomine dans les régions arides des pays d'Afrique du Nord (Noumi et al., 2010) comme Maroc (Fakchich et Elachouri, 2014), l'Algérie (Rebbas et Bounar, 2014), la Tunisie (Kawada et al, 2012 ; Saadaoui et al, 2014) et Libya (El-Mokasabi, 2014) .

Elle pousse dans les prairies sèches et riche en bases dans une grande partie de l'Europe centrale et méridionale (Pirini Chrisoula et al, 2014) ; elle est considérée comme une plante rudérale, dans les terres sèches et perturbées su sud de l'Espagne (Salinas et Guirado, 2002) Elle accompagne la végétation dominante des prairies xérophiles en République tchèque (Novák et Konvička, 2006) et pousse sur des sols graveleux près des rivières Tammaro et Calore en Italie , tandis qu'au Japon, elle pousse l'état sauvage le long des côtes des îles Ryukyu (Minami et al, 2010). Elle représente l'espèce indigène interdite qui persiste dans les sites de référence des dunes restaurées dans le Grand Lac en Amérique du Nord (Emery et rudgers, 2010).

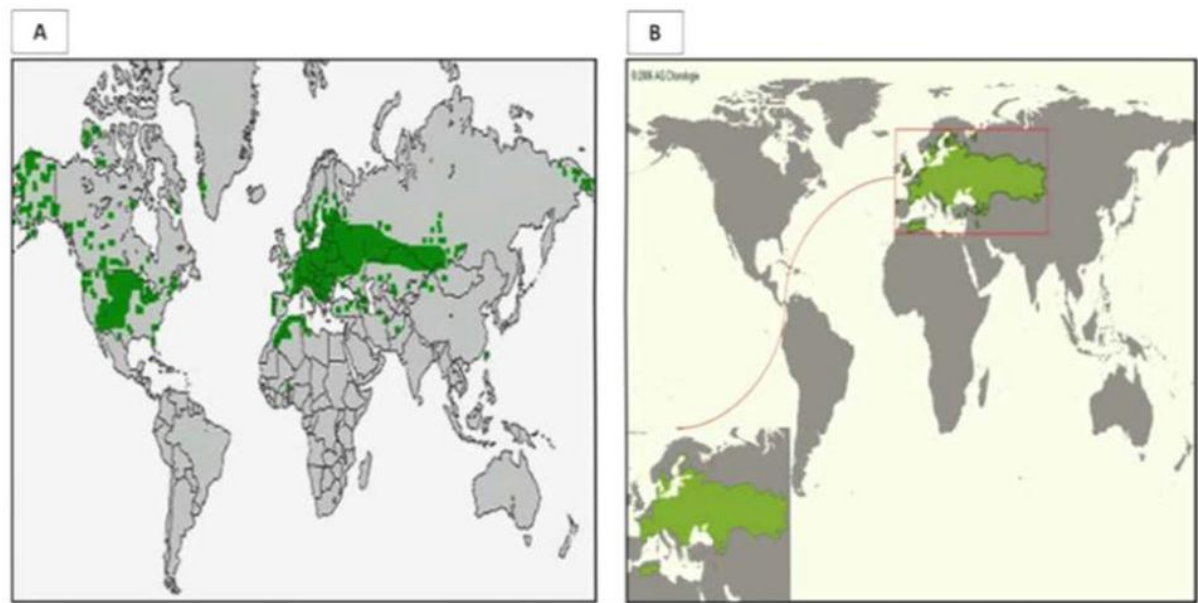


Figure 2 : Répartition géographique d'*Artemisia Campestris* L.(Dib et al., 2016).

1.7. Composition chimique et huiles essentielles d'*Artemisia Campestris*

L'utilisation des solvants à polarité différente, suivie par des étapes de fractionnements et l'emploi de différentes techniques de chromatographie permettent d'extraire, séparer et identifier les différents composés présents dans les extraits des plantes. De nombreuses études chimiques ont révélé que la partie aérienne d'*ArtemisiaCampestris* L. est riche en métabolites

secondaires (Joao et al., 1998 ; Juteau et al., 2002). La composition chimique de l'huile essentielle varie selon le chimiotype considéré (Bruneton, 1999), elle varie également selon les conditions géographiques et climatiques (température, altitude, précipitation, hauteur, direction du vent, heures de soleil, etc.), et selon la phase de développement de la plante (Jerkovic et al., 2003). Plusieurs études (Akrouit et al., 2001 ; Juteau et al., 2002) ont rapporté la composition des huiles essentielles d'*Artemisia Campestris* L, l'huile essentielle est analysée par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS), (Juteau et al (2002) ont identifié dans une espèce de Camargue (Marseille, France) 51 composés caractérisés, les plus abondants sont : γ -terpinène, capillène, 1-phenyl-2,4-pentadiyne, spathulenol, methyleugenol, p-cymène et β -pinène. D'après Akrouit et al (2001) les constituants les plus abondants d'une espèce de Tunisie sont : β -pinène (24,2-27,9 %), p-cymène (17.4–22.3%) et α -pinène (4.1–11.0%), ces constituants représentent plus de 45 % de l'huile totale. Le contenu phénolique total, les flavonoïdes, les dérivés hydroxycinnamiques, les dérivés hydrox benzoïques de l'extrait éthanolique (80%) de la partie aérienne d'*ArtemisiaCampestris* ont été déterminés par des méthodes spectrophotométriques (Tab. I). Les flavonoïdes identifiés chez *ArtemisiaCampestris* sont : flavone (apégénine), flavonol (kaempférol 7-méthyle), flavanone (naringénine), dihydroflavonols (taxifoline-7-méthyle) (Tab. II) (Valant et al., 2003). Les feuilles d'*ArtemisiaCampestris* contiennent aussi des alcaloïdes et des saponines (Naili et al., 2010).

Tableau1 : Teneur en polyphénols, de la partie aérienne d'*Artemisia Campestris* L. (Djeridane et al., 2007).

Plante	Phénols totaux (a)	Flavonoïdes(b)	Dérivés hydrox cinnamiques (c)	Dérivés hydrox benzoïques (d)
<i>ArtemisiaCampestris</i>	103,4	5	95	0

a: mg EAG/g ps, **b:** EQ(m/m), **c:** EAC (m/m), **d:** EAG (m/m).

Tableau 2 : Principaux flavonoïdes rencontrés chez *Artemisia Campestris*

Flavonoïdes	References
- Flavanone : 5, 8, 4'-trihydroxyflavanone.	- Rauter et al., 1989.
- Acétophénone : 3-acetyl-4-hydroxyacétophénone.	- Hurabielle et al.,1982.
- Flavones : 5, 7-dihydroxy-3, 4'-diméthoxyflavone.	- Ferchichi et al., 2006.
- Flavonol : Kaempférol-7méthyl	- Valant-V et al., 2003.
- Dihydroflavonol : 7-méthyl aromadendrin	- Hurabielle et al., 1982.

Tableau 3 : Composition chimique majoritaire de l'huile essentielle d'*Ariemisia Campestris*

Composés majoritaires	Références
- (Z.E) -farnésol (10,3%)	- (Dob et al. 2005)
- Cédrol (5,4%)	- (Belhattab et al. 2011)
- α -pinéne (18,4%)	- Bakhchiche et al.2013)
- β -pinéne (26,6%)	- Bakhchiche et
- β -pinéne (25,6%)	al.(2014)

1.8.L'utilisation traditionnelle de l'*Artemisia Campestris* L :

ArtemisiaCampestris possède de nombreuses utilisations traditionnelles, dont beaucoup ont été mis en évidence pharmacologiques comme l'antihypertenseur, antidiabétique, antihyperlipidémique, anti-venin, anti-inflammatoire, anti leishmaniose, cicatrisation, hépato protecteur et rénal effets (**Dib et El Alaoui, 2019**)

La partie aérienne est utilisée dans le traitement de brulures, de la diarrhée, les morsures de serpent, les piqures de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie, le rhumatisme, elle est également utilisée pour traites les infections urinaires, la fièvre, la toux et les problèmes menstruels (**Ben Sassi et al.,2007**).

Les fleurs d'*Artemisia Campestris* L ont été utilisées comme hypoglycémique, cholagogue, cholérétique, digistif, dépuratif, anti lithiasique, et pour le traitement de l'obésité et pour diminuer le cholestérol(**Al-Snafi.,2015**).

1.9.Activité biologique

Artemisia Campestris L. a de nombreuses activités biologiques, parmi lesquelles on cite :

1.9.1. Activités antioxydants

La partie aérienne d'*ArtemisiaCampestris* L. possède des activités antioxydants significative en effet cette plante est riche en composés dotés d'activité antioxydants tels que : les flavonoïdes, les polyphénols, et les tanins, ces différents constituants exercent ses actions antioxydants en inhibant la production de l'anion superoxyde, l'hydroxyde, comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes (Bruneton, 1999).

L'action antioxydants d'*ArtemisiaCampestris* L. a été examinée in vitro et in vivo. Un extrait aqueux d'*ArtemisiaCampestris* a montré une forte action de piégeage des radicaux anino1, 1-diphényle-2-picrylhydrazyl (DPPH), hydroxyle et superoxyde(Aniya et al. ,2000).

L'huile essentielle et les extraits éthanol-eau, hexane et eau d'*Artemisia Campestris* collectés dans le sud de la Tunisie ont été étudiés pour leurs antioxydants (méthodes DPPH, ABTS et béta-carotène (Akrouit et al .2011).

1.9.2. Activité antibactérienne

Artemisia Campestris L. est une plante médicinale utilisée dans le traitement de nombreuses infections telles que les infections urinaires (Naili et et al.,2010) ont testé l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Artemisia Campestris*, ils sont trouvés que l'activité de cet extrait a été plus efficace contre les bactéries gram positif (*Staphylococcus aureus*) que les bactéries gram négatif (*Escherichia coli*).

1.9.3. Effet insecticide

Extrait éthanolique d'*ArtemisiaCampestris* var *glutinosa* a montré une faible activité larvicide contre larves de moustique *Culex Linnaeus* (Diptera, Culicidae). (AL-Snafi. A.E.,2015).

1.9.4. Activité antiparasitaire

L'*ArtemisiaCampestris* a un effet antiparasitaire contre les insectes et spécialement contre *Culex linnaeu* (Al-snafi., 2016).

1.9.5. Activité antidiabétique

L'extrait aqueux obtenu à partir de racines et la décoction d'organes aériens d'*Artemisia. Campestris* L. subsp. *Maritima* a présenté une puissante inhibition d'a-glucosidase microbienne, tandis la teinture de racine a montré une inhibition significative de l'a-glucosidase de mammifère. (Dib et El-Alaoui. ,2019).

1.9.6. Activité antipoison

Les extraits d'acétate d'éthyle, d'éthanol, de méthanol et du dichlorométhane des feuilles d'*Artemisia Campestris* ont été testés pour leurs capacités de neutralisation du venin de scorpion et de vipère, les résultats obtenus ont montrés que l'extrait éthanolique inhibe l'activité de dégradation des globules rouges contre le venin du scorpion *Androctonus australis garzonii* .des résultats similaires ont été obtenus pour l'extrait au dichlorométhane pour la neutralisation de venin de la vipère *Macrovipera lebetina*.(Memmi et al .,2007).

1.9.7. Propriétés Allopathique

Les plantes du genre *Artemisia* possèdent des propriétés Allopathique par inhibition de la croissance et la germination de certaines plantes de l'entourage. Ces propriétés sont dues probablement à la présence d'acide phénolique et d'autres composants polaire. (Kyeong et al., 2007)

1.10. Toxicité

Les huiles essentiels β -pinène et le géraniol sont les principales substances de la toxicité chez *l'ArtemisiaCampestris* L.Elles sont présentées dans toute la plante mais a une concentration plus élevé dans les feuilles et les tiges .Plusieurs recherches montrent que l'effets toxique de l' β -pinène peut provoquer une grande irritation puissante de tous les tissus jusqu'au tractus intestinal et les reins et cette intoxication aura lieu lors de l'ingestion de grande quantités de la plante avec une dose supérieure à 15g de feuilles (Moussaoui,2010).

Le teste de l'activité toxique des huiles essentielles *d'ArtemisiaCampestris* indique que la létalité (CL50) des larves de crevettes saumâtres était de 15 à20 ug/ml. Cette toxicité est due à la présence du caryophyllène et du germacrène (Judzentiene et al.,2010).

Chapitre 2

Métabolites

secondaire

2.1. Définition

Le terme « métabolites secondaires », a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891. Les métabolites secondaires des plantes constituent un groupe diversifié de composés chimiques d'origine naturelle (fig. 3) qui n'ont généralement aucune fonction primaire évidente.

Ils sont synthétisés par des réactions de la plante avec des stimuli extérieurs et souvent ont une fonction régulatrice dans le cadre d'une série de réactions physiologiques et métaboliques qui finissent par la suite par un stress environnemental.

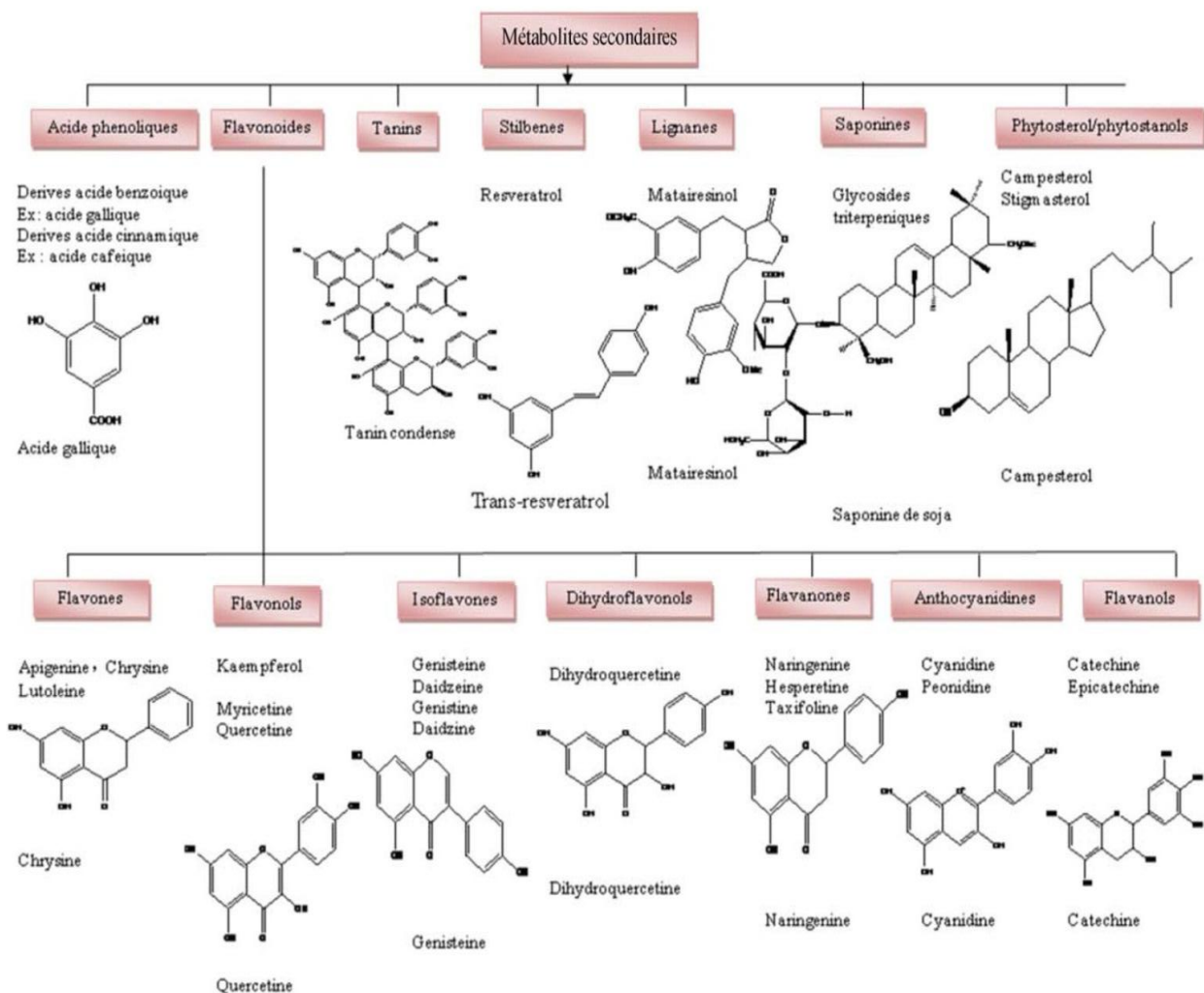


Figure 3 : Classification de quelques métabolites secondaires (Muanda, 2010).

On peut classer les métabolites secondaires en trois groupes : les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes. Chacun de ces groupes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (**Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006**).

2.2. Les composés polyphénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (**Lebham, 2005**). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) ; et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Ils regroupent un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisé en une dizaine de classes chimiques, qui présentent tous un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles OH (**Hennebelle et al., 2004**). Ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et acétate (**Lugasi et al., 2003**). Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et pro-anthocyanidines) forment le groupe des composés photochimiques le plus important des plantes (**Beta et al., 2005**).

2.2.1. Les structures chimiques

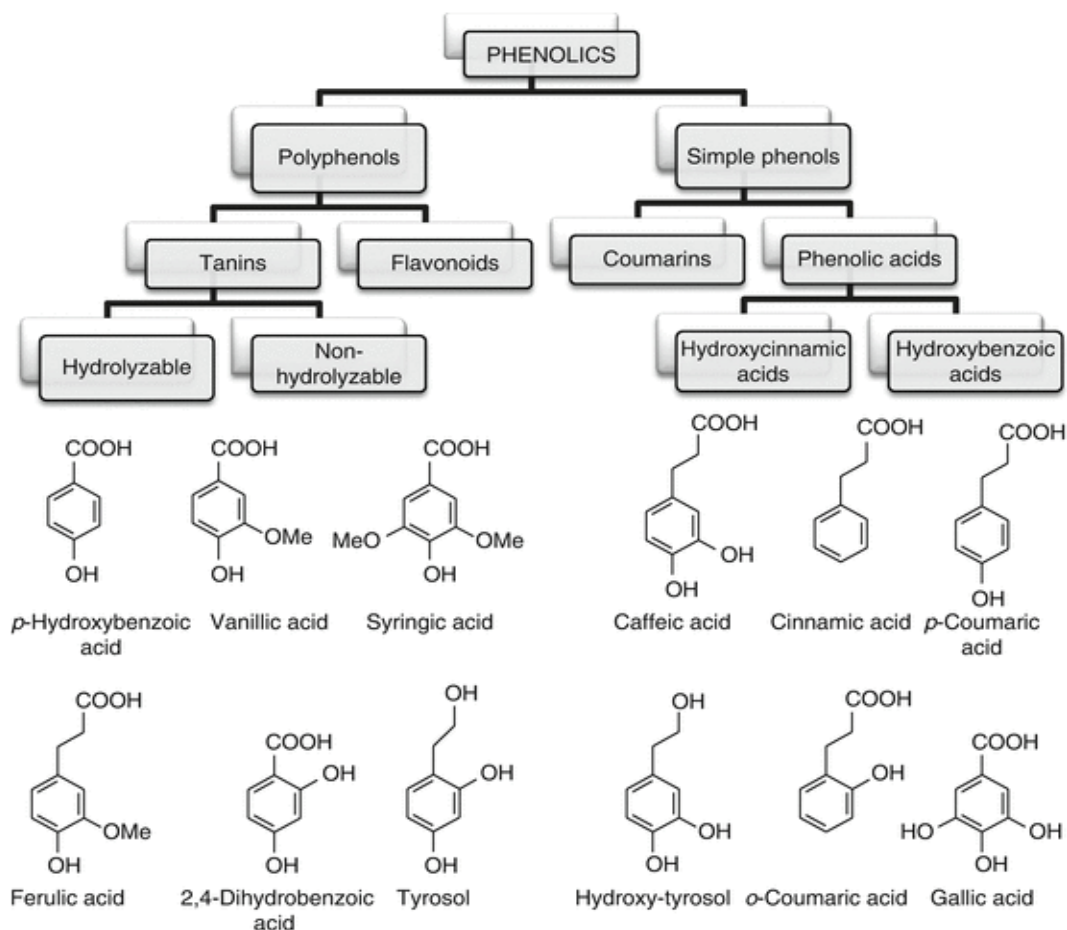


Figure 4 : Quelques structures des composants phénoliques (Gervaise, 2004)

2. 2.2. Classification des polyphénols

Les composés phénoliques peuvent être classés selon la complexité, le degré et les liaisons possibles du squelette de base avec d'autres molécules (Tableau 4) (Macheix et al., 2005).

Tableau 4 : Les principales classes des composés phénoliques (Macheix et al., 2005)

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ – C ₁	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> - Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ – C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acides caféique, férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines		Citrus
C ₆ – C ₄	Naphtoquinones	Scopolétine, esculétine	Noix
C ₆ – C ₂ – C ₆	Stilbènes	Juglone	Vigne

$C_6 - C_3 - C_8$	<p>Flavonoïdes</p> <ul style="list-style-type: none"> • Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • Flavanones <p>Isoglavonoïdes</p>	<p>Resvératrol</p> <p>Kaempférol, quercétine</p> <p>Cyanidine, pélargonidine</p> <p>Catéchine, épicatechine</p> <p>Naringénine</p>	<p>Fruits, légumes, fleurs</p> <p>Fleurs, fruits rouges</p> <p>Pomme, raisin</p> <p>Citrus</p> <p>Soja, pois</p>
$(C_6 - C_3)_2$	Lignanes	Daidzéine	Pin
$(C_6 - C_3)_n$	Mignines	Pinorésinol	Bois, noyau des fruits
$(C_{15})_n$	Tannins		Raisin rouge, kaki

2. 3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments naturels (**Causse, 2005**) responsables de la coloration des feuilles, des fleurs et les fruits. Ils sont très répandus chez les végétaux. (**Roux et Catier, 2007**). Ces pigments sont répartis en plusieurs familles dont les plus importantes sont les flavones et les isoflavones (**Causse, 2005**). Ils présentent plus que 9000 structures et ont comme structure de base deux noyaux aromatiques reliés par 3 carbones (**Bruneton, 2009**). Plusieurs études ont montré que les flavonoïdes permettent la réduction du taux du cholestérol (**Causse, 2005**).

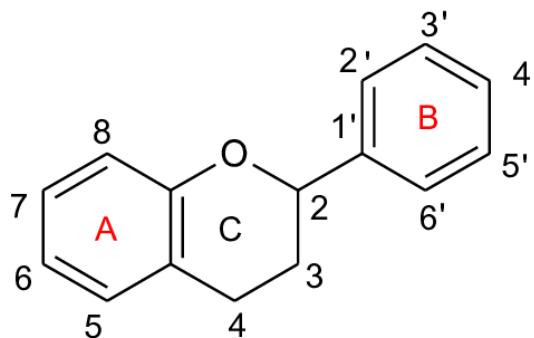


Figure 5 : Structure de base des flavonoïdes (**Di Carlo et al., 1999**).

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavones, flavanols, isoflavones, aurones, chalcones, anthocyanins.

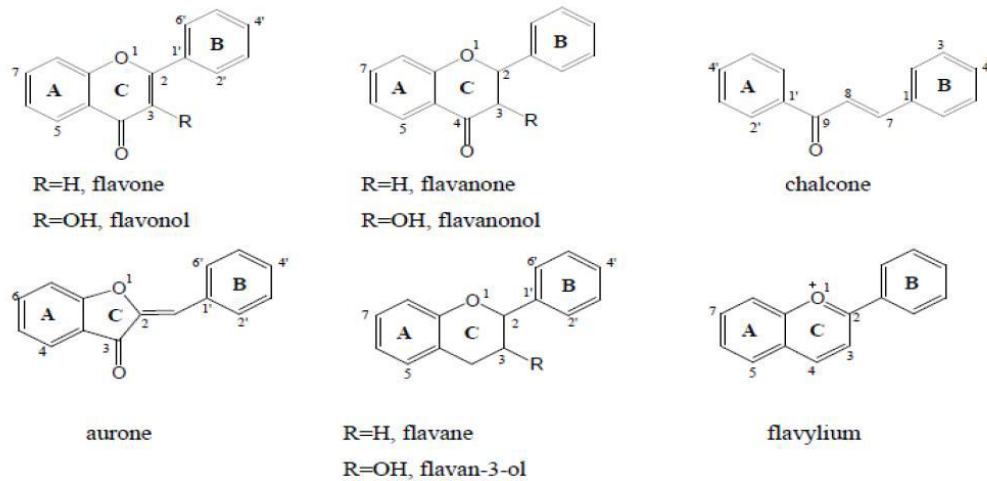


Figure 6 : Structure des différentes classes des flavonoïdes (Martinez et al., 2005).

2. 4. Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Da (Paris et Hurabielle., 1981).

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique : Les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Bruneton, 1999).

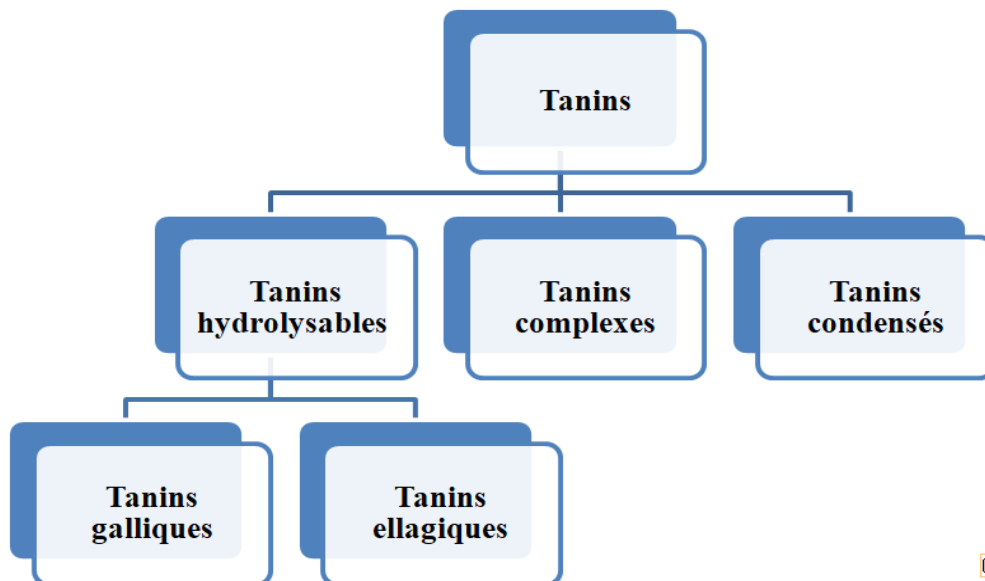


Figure 7 : Classification des tanins (Wilfred et Ralph., 2006).

a-Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue : les tanins galliques, et les tanins ellagiques (**Paris et Hurabielle, 1981**).

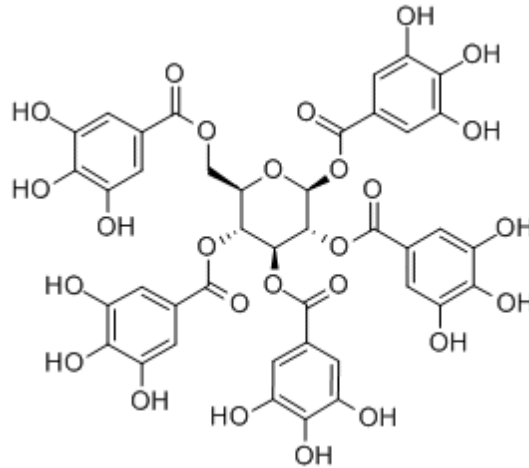


Figure 8 : Structure chimique des tanins hydrolysables (**Peronny, 2005**).

a-1-Tanins galliques

Ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique.

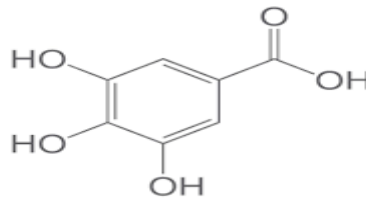


Figure 9 : Structure chimique de tanins galliques (**Peronny, 2005**)

a-2- Tanins ellagiques

Ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (**Paris et Hurabielle., 1981**).

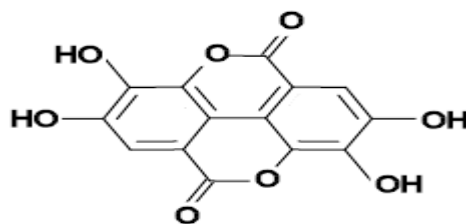


Figure 10 : Structure chimique de tanins ellagiques (Peronny, 2005)

b-Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine (Khanbabaeva et Ree., 2001). Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre (Paris et Hurabielle., 1981).

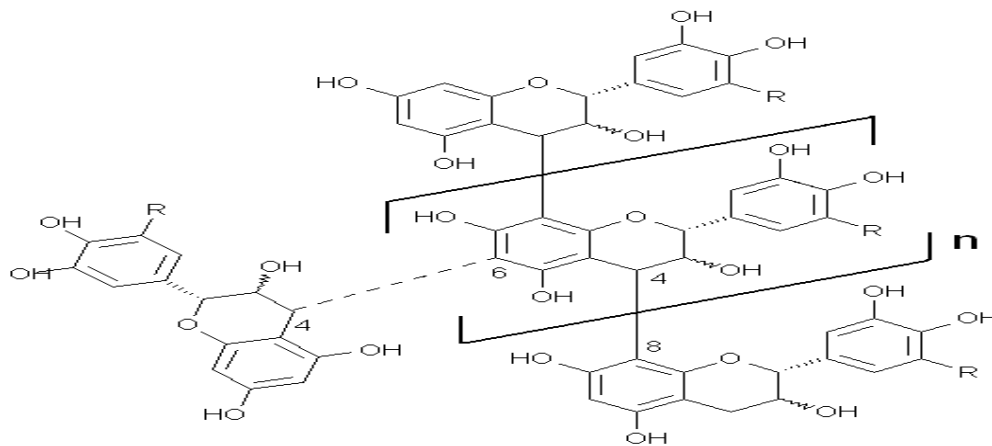


Figure 11 : Structure chimique de tanins condensés (Schofield et al., 2001).

2. 5. Les anthocyanidines

Les anthocyanidines sont toujours hydroxylées en position 3, elles se caractérisent par l'absence du groupe hydroxyle à la position 4.

Les anthocyanidines les plus abondants sont : la pélagonidine, la cyanidine et la péonidine (Bruneton, 1999).

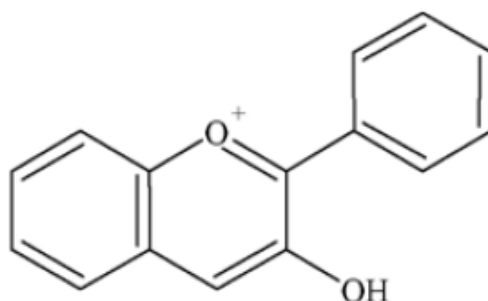


Figure 12 : Structure de base des anthocyanidines (Giulia et al., 1999)

	3'	5'
Pélargonidine	H	H
Cuanidine	OH	H
Péonidine	OCH ₃	H

2. 6. Les Huile essentielle

2. 6.1. Définition

Huile : ce terme provient du fait que les substances volatiles sont visqueuses.

Essentielle : reflète le caractère des odeurs que dégage les plantes.

On les appelle couramment : essences, essences végétales, huiles ou essences aromatiques, parfums, huiles volatiles (**Bruneton, J, 1999**).

Selon la norme AFNOR ISO 9235, l'huile essentielle est définie comme un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par l'entraînement, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche (**Duval. L, 2012**). Les huiles essentielles sont des mélanges naturels très complexes qui peuvent contenir plusieurs composés à des concentrations différentes. Elles sont caractérisées par 2 à 3 composants principaux à des concentrations assez élevées (20 – 70%) (**Abad et al., 2012**).

2. 6.2. Localisation et répartition

Localisation

Elles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante. Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules ou se rassemblent sous formes de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles (**Gonzalez-Trujano et al., 2007**). La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologique spécialisés, souvent localisée sur ou à proximité de la surface de la plante qui sont : cellules à huiles essentielles de Lauraceae, les poils sécréteurs des laminaceae, poches sécrétrices des Myrtaceae, des Rutaceae, et les canaux sécréteurs qui existent dans des nombreuses familles. Il est intéressant de remarquer que les organes d'une même espèce peuvent renfermer des huiles essentielles de composition différente selon la localisation dans la plante (**Degryse et al., 2008**).

Répartition

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal et surtout chez les végétaux supérieurs, il y a 17500 espèces aromatiques. Les familles botaniques capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont réparties dans un nombre limité des familles, Zingiberaceae (Gingembre).....etc.(**Bellakhdar, 1997**). Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes de la plante, par exemples : dans les sommités fleuries (Menthe, Lavande) les feuilles (Eucalyptus, Laurier) les rhizomes (Gingembre) les fruits (agrumes, badiane, anis), les racines (Vétiver), les graines (Muscades), bien que cela soit moins habituel dans des écorces (Cannelier) (**Bellakhdar, 1997**).

2.6.3. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes :

- Les terpénoïdes.
- Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

• Les terpénoïdes

Ils représentent le groupe le plus diversifié des métabolites secondaires, végétaux, plus de 15.000 composés différents sont décrits dans la littérature. Ils dérivent d'une structure de base à cinq carbones (C_5H_8), communément appelée isoprène (**Calsamiglia et al.,2007**). Selon le nombre répétitif de cette unité, les terpénoïdes sont classés en : monoterpénoïdes (C_{10}), sesquiterpénoïdes (C_{15}) et diterpénoïdes (C_{20}). Dans la composition de la plupart des huiles essentielles les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie (**Combrinck et al., 2007 ; Karray-Bouraoni et al., 2009**)

• Les phénylpropanoïdes

Ils sont moins fréquents par rapport aux terpénoïdes. Néanmoins, certaines plantes possèdent ces composés avec des proportions significatives. Les phénylpropanoïdes dérivent majoritairement de la phénylalanine (**Khenaka ,2011**). Ils sont constitués d'une chaîne carbonée liée à un noyau aromatique à six carbones (**Calsamiglia et al., 2007 ; Khenaka, 2011**).

D'après **Guenter (1975)** La structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés.

Selon **Bruneton (1999)** cette structure varie en fonction du nombre d'atomes de carbone qui les constitue.

2.6.4. Les procédés d'extraction

2.6.4.1. Hydrodistillation

La méthode par hydrodistillation est traditionnellement la plus couramment utilisée (environ 80% des cas) car elle est la plus économique (*Kaloustian, 2012*).

Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (*Fekih.,2015*).

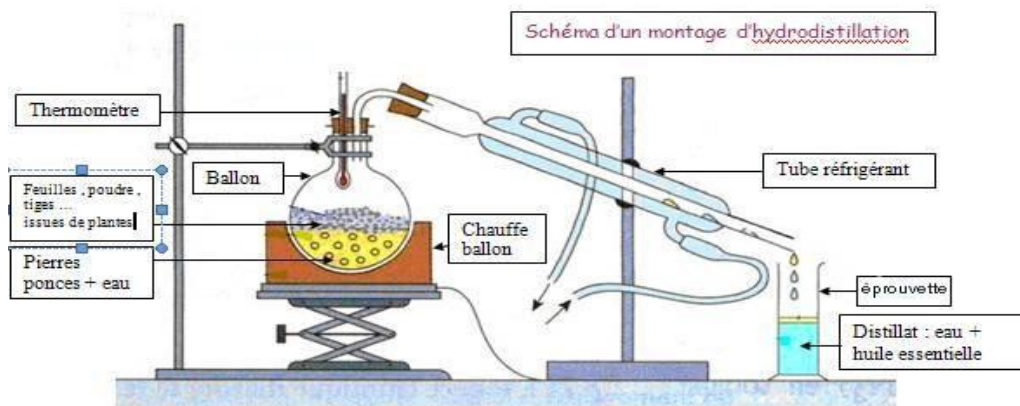


Figure 13 : Schéma du principe de la technique d'hydro distillation

2.6.4. 2- Entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce type de distillation, la plante est traversée par un courant de vapeurs d'eau qui va tirer les substances volatiles hydrophobes. Après condensation, la séparation se fait par décantation. Cette méthode apporte une amélioration à la qualité de l'HEs en minimisant les altérations hydrolytiques (*Neffati, 2010*).

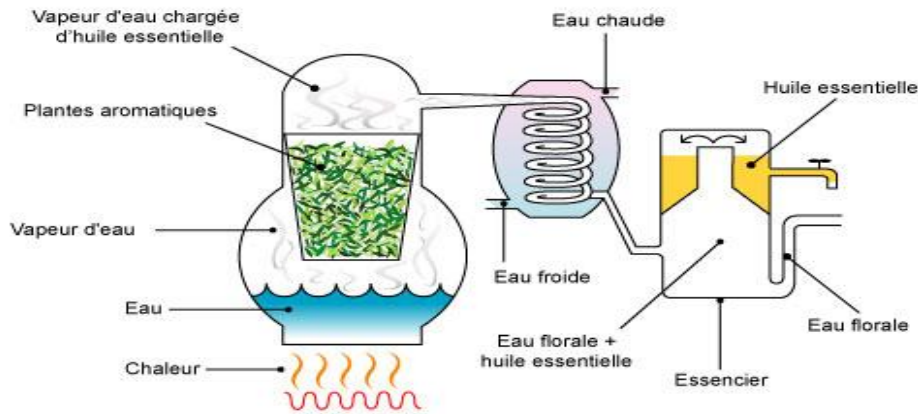


Figure 14 : Schéma de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau.

2.6.4.3 Extraction par solvants Extraction par solvants

Est une technique qui utilise des solvants comme l'hexane, le toluène ou les dérivés colorés. Le solvant est ensuite éliminé par distillation. Elle ne doit pas être employée si l'huile essentielle préparée est destinée à l'usage thérapeutique, car il pourrait y rester des traces de solvant. Elle est parfois utilisée dans l'industrie des parfumeries (**Bruneton, 1999**).

2.6.4. 4- Extraction par micro-onde

Extraction par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques : condensation, refroidissement, et décantation. Des études démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tels que le gain de temps d'extraction, utilisation de petites quantités de solvant, et un rendement d'extraction élevé (**Ranitha et al., 2014**).

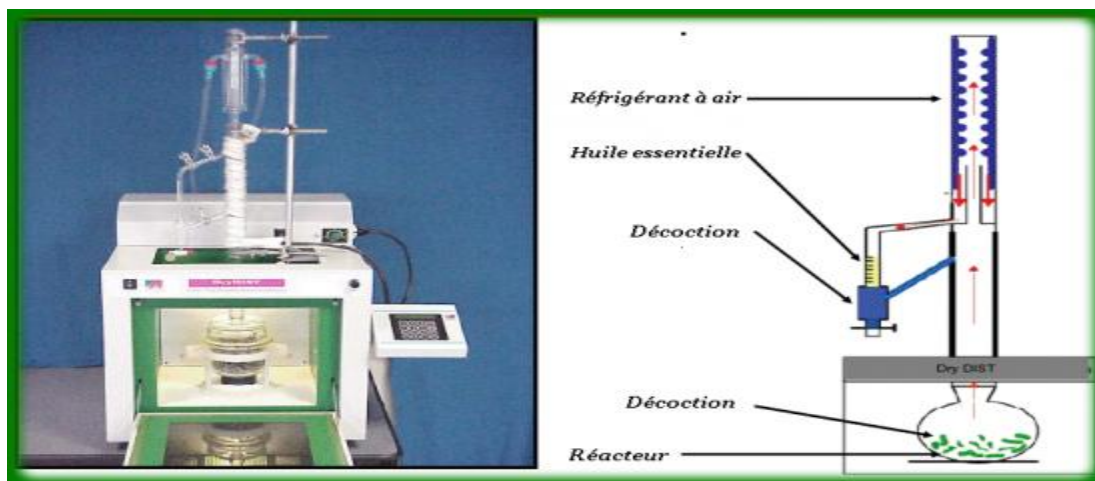


Figure 15 : Montage d'extraction par micro- ondes

2.6.4.5. Extraction par fluide supercritiques

Extraction par fluides supercritiques a pris ces dernières années, beaucoup d'essor concernant l'extraction des extraits végétaux. Le principal avantage de cette technique est celui de combiner les caractéristiques des gaz et des liquides pendant le processus d'extraction. En outre tous les processus de dégradation possibles tels que l'oxydation ou isomérisation sont réduits au minimum du fait que le temps d'extraction y'est réduit. Toutefois, cette technique d'extraction présente un inconvénient la basse polarité du dioxyde de carbone supercritique qui le solvant d'extraction le plus employé. Au-delà du point critique ($P=73,8$ bars, $T^{\circ}=31,1^{\circ}\text{C}$), le CO_2 possède les propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz, ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction (Piochon,2008).

2.6.5. Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles

Le rôle physiologique des huiles pour le rôle végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et propriétés biologiques. Les huiles essentielles sont employées pour :

- Leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums.
- Des propriétés antiseptiques pour les poumons et les reins ou comme bain de bouche.
- Dépuratives, cicatrisantes, analgésiques et anti-inflammatoires.
- Des activités antimicrobiennes, antifongiques, antiparasitaires et antihelminthiques et aussi des propriétés antioxydants.
- Un effet anesthésiant pour soigner les douleurs rhumatismales.
- Action stimulante sur l'utérus, effet abortif en cas d'intoxication.

- Action sur le système nerveux central, en exerçant des effets sédatifs, relaxant et déstressant.
- Effet anticancéreux, en stimulant l'apoptose des cellules tumorales (**Daniel, 2006 ; Hüsnü et Buchbauer, 2010**)

2. 6.5. Mode d'action contre les bactéries

La première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (**Boyle, 1955**). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (**Burt, 2004**).

Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Kalemba et Kunicka, 2003**). Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries Gram positives que sur les bactéries Gram négatives. Toutefois, les bactéries Gram négatives paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire (**Burt, 2004**). Il existe cependant quelques exceptions. Les bactéries Gram négatives *Aeromonas hydrophila* (**Wan et al., 1998**) et *Campylobacter jejuni* (**Wannissorn et al., 2005**) ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles. La bactérie reconnue comme la moins sensible à leurs effets reste néanmoins la bactérie Gram négative *P. aeruginosa* (**Dorman et Deans, 2000**).

La croissance des bactéries, résistantes et multi-résistantes aux antibiotiques, peut être inhibée par certaines huiles essentielles. Les huiles d'agrumes, de lavande, de menthe, de genévrier, de l'arbre à thé, de thym et d'eucalyptus se révèlent particulièrement efficaces contre les staphylocoques dorés résistants à la méthicilline (SARM) (**May et al., 2000 ; Tohidpour et al., 2010**) et les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) (**Fisher et Phillips, 2009**). Les huiles essentielles, isolées de deux espèces de thym de Corée, *Thymus magnus* et *Thymus quinquecostatus*, sont également capables d'inhiber la croissance de bactéries résistantes comme *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis* et *S. aureus* (**Shin et Kim 2005**).

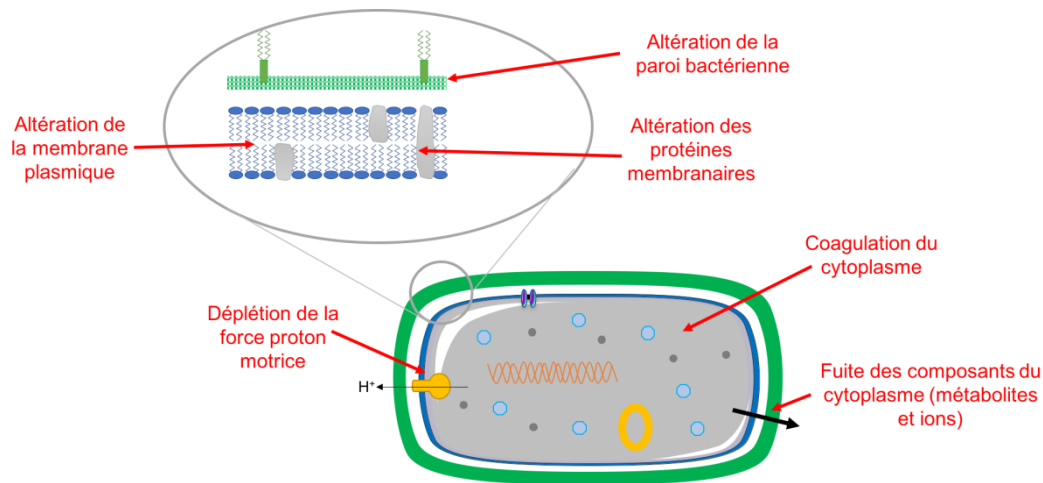


Figure 16 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Burt, 2004)

2. 6.6. Propriétés antioxydants des huiles essentielles

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (Richard F, 1992).

Les huiles essentielles de cannelle, muscade, clou de girofle, basilic, persil, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants (Edris, 2007). Le thymol et le carvacrol sont encore une fois les composés les plus actifs. Leur activité est en relation avec leur structure phénolique car les composés de ce type ont des propriétés oxydo-réductrices et jouent ainsi un rôle important en neutralisant les radicaux libres et en décomposant les peroxydes (Braga et al., 2006). L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribuable à certains alcools, éthers, cétones, aldéhydes monoterpéniques (le tinalool, le 1,8-cinéole, le géraniol/nérol, le citronellal, l'isomenthone, la menthone) et quelques monoterpènes : α -terpinène, γ -terpinène et α -terpinolène (Edris, 2007).

D'après plusieurs travaux récemment publiés dans des revues scientifiques au sujet de l'activité antioxydant des huiles essentielles, il est possible d'enregistrer une telle diversité sur l'évaluation de l'activité antioxydant des huiles essentielles. La tendance des HE à inhiber l'oxydation d'acide linoléique est due principalement à la présence ou l'absence des composés phénoliques et ce résultat a été approuvé par plusieurs travaux (Mighri et al., 2010 ; Aidi Wannas et al., 2010). De même, certain auteur a utilisé les méthodes de DPPH, FRAP et RP pour déterminer le pouvoir antioxydant (Mothana et al., 2010 ; Saleh et al., 2010).

Chapitre 3

Stress

oxydant

3.1. Le Stress oxydatif :

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et le réseau antioxydant, en faveur du premier. Notre style de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais également notre alimentation inadéquate, contribue à augmenter considérablement la production de ROS dans notre organisme. C'est potentiellement associé à un risque accru de développer des pathologies telles que les maladies cardiovasculaires et le cancer. Comme une question de prévention, il faut avoir entre les mains une haute technologie permettant de mettre en évidence correctement le stress oxydatif statut d'un individu afin de rendre optimal nos antioxydants dans les défenses et de diminuer les dommages oxydatifs dans l'ADN, protéines et lipides. (Haleng et al., 2007).

3.2. Les radicaux libres :

Les radicaux libres sont des espèces chimiques réactives qui diffèrent des autres composés en ce qu'ils ont des électrons non appariés dans leurs orbitales externes. Ils sont capables d'endommager les composants cellulaires et l'accumulation de preuves suggère qu'ils peuvent contribuer à diverses entités pathologiques. Les systèmes biologiques sont exposés à des radicaux libres qui se sont formés de manière endogène ou qui résultent d'influences externes telles que les rayonnements ionisants. Des radicaux libres d'oxygène sont continuellement produits par voie intracellulaire par des réactions d'oxydoréduction. La réduction univalente séquentielle de l'oxygène moléculaire forme initialement le radical anion superoxyde, qui à son tour est converti, en présence d'ions de métaux de transition, en le radical hydroxyle hautement réactif. Les radicaux libres sont détectés par spectroscopie de résonance de spin électronique, mais souvent cette procédure est difficile à utiliser pour l'étude de l'implication des radicaux libres dans les systèmes biologiques, et les chercheurs ont eu recours à la déduction de leur présence en identifiant les produits des réactions des radicaux libres. Tous les organismes aérobies possèdent des substances qui aident à prévenir les blessures causées par les radicaux libres. Ceux-ci comprennent des antioxydants tels que la vitamine E et les enzymes superoxyde dismutase et glutathion peroxydase. Une deuxième partie de cette revue décrira le rôle des radicaux libres dans des entités pathologiques spécifiques. Ceux-ci comprennent des antioxydants tels que la vitamine E et les enzymes superoxyde dismutase et glutathion peroxydase. Une deuxième partie de cette revue décrira le rôle des radicaux libres dans des entités pathologiques spécifiques. Ceux-ci comprennent des antioxydants tels que la vitamine E et les enzymes superoxyde dismutase et glutathion peroxydase. Une deuxième

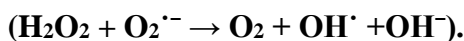
partie de cette revue décrira le rôle des radicaux libres dans des entités pathologiques spécifiques (Peter et al., 1988).

3.3. Les espèces réactives de l'oxygène :

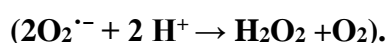
Le terme espèce réactive de l'oxygène, ROS, est défini par la US National Library of Medicine (NIH 2006) comme suit : « Molécules ou ions formés par la réduction incomplète d'un électron de l'oxygène. Ces intermédiaires réactifs de l'oxygène comprennent l'oxygène singulet ; les superoxydes ; les peroxydes ; radical hydroxyle ; et acide hypochloreux. Ils contribuent à l'activité microbicide des phagocytes, à la régulation de la transduction du signal et de l'expression des gènes, et aux dommages oxydatifs aux acides nucléiques, aux protéines et aux lipides. (Martin et al., 2006).

3.3.1. Le radical superoxyde :

Le superoxyde est le principal précurseur de la plupart des ROS en biologie. Il se forme lorsqu'un seul électron est ajouté à la molécule d'oxygène diatomique. Il est considéré comme le ROS principal et peut interagir avec d'autres molécules pour générer des ROS secondaires. Le superoxyde est produit principalement dans les mitochondries, causé par l'électron fuite de la chaîne respiratoire. C'est aussi un produit de réactions d'oxydation. Malgré son "super" nom, super-l'oxyde semble relativement peu réactif par rapport à de nombreuses autres espèces de radicaux libres. Mais, indépendamment de sa faible réactivité, le superoxyde est capable d'endommager certaines enzymes importantes du métabolisme énergétique (c.-à-d. Cycle de Krebs) et la biosynthèse des acides aminés. L'oxydation des enzymes doit être réparée pour maintenir leur activité. Le superoxyde n'attaque pas directement l'ADN. Le superoxyde génère d'autres espèces de radicaux secondaires en participant au soi-disant Haber-Weiss Réaction



Dans la réaction de Haber-Weiss, le superoxyde agit avec le peroxyde d'hydrogène formant un radical (OH^{\bullet}) et anion hydroxyde (OH^-). Superoxyde se dismute spontanément en peroxyde d'hydrogène (Santo, Zhu, Robert., 2016)



III.3.2. Le radical hydroxyle :

L'oxydant le plus puissant et le plus agressif principalement responsable des dommages oxydatifs des bases d'ADN est le radical hydroxyle, qui a une demi-vie relativement courte. $\cdot\text{OH}$ peut être généré par divers mécanismes. Il est bien connu que $\cdot\text{OH}$ est généré à partir de H_2O_2 et $\text{O}_2^{\cdot-}$ qui est catalysé par des ions de fer par la réaction de Haber-Weiss avec un cas spécifique de décomposition de H_2O_2 médiée par Fe^{2+} la réaction de Fenton, Les rayonnements ionisants provoquent la décomposition de H_2O , ce qui entraîne également la formation d'atomes de $\cdot\text{OH}$ et d'hydrogène. $\cdot\text{OH}$ pourrait également être généré par décomposition photolytique d'alkyl hydroperoxydes. (Zrov, Juhaszova, Sollott,2014).

La réaction de Haber-Weiss : $\text{O}_2^{\cdot-} + \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{OH}^{\cdot} + \text{H}_2\text{O} + \text{Fe}^{2+}$

La réaction de fenton : $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + \text{H}^+ \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O} + \text{OH}^{\cdot}$

3.3.2. Le radical peroxyde d'hydrogène :

Le peroxyde d'hydrogène est un ROS biologique majeur, ex-dont peut causer des dommages aux cellules et aux tissus. C'est un sous-produit de la respiration et un produit final d'un certain nombre de réactions métaboliques, en particulier voies d'oxydation du roxysomal. Dismutation de superoxyde formé sous forme de chaîne de transport d'électrons peroxyde d'hydrogène. Les peroxisomes sont une autre organelle connue pour produire du peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène est produit en permanence dans tous les tissus Et peut être détecté dans le souffle expiré ainsi que l'urine. Le peroxyde d'hydrogène est un ROS relativement faible par ce, mais donne lieu à des ROS plus dommageables. (Santo, Zhu, Robert., 2016).

3.4. Origine de stress oxydant :

La découverte d'espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques. Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable ; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants. Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par

des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé «stress oxydant». Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines. L'organisme peut avoir à faire face à une production beaucoup trop forte pour être maîtrisée, qui sera observée dans les intoxications aux métaux lourds, dans l'irradiation, dans les ischémies/reperfusions suivant des thromboses. La rupture d'équilibre peut provenir d'une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition comme les vitamines ou les oligo-éléments, présents en quantité limitée dans l'alimentation française. Enfin, la mauvaise adaptation peut résulter d'anomalies génétiques responsables d'un mauvais codage d'une protéine soit enzymatiquement antioxydante, soit synthétisant un antioxydant (comme la gamma glutamyl synthétase produisant le glutathion), soit régénérant un antioxydant, soit couplant la défense à l'énergie (comme la G6PD), soit d'un promoteur de ces mêmes gènes que la mutation rendra incapable de réagir à un excès de radicaux. Généralement, le stress oxydant sera la résultante de plusieurs de ces facteurs et se produira dans un tissu et un type cellulaire bien précis, objet de la défaillance et non pas dans tout l'organisme (**Favier, 2003**).

3.5. Conséquences de stress oxydant :

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (**Favier,2003**).

3.5.1.L'oxydation des protéines :

L'action des radicaux libres a lieu sur les chaînes latérales de certains acides aminés comme le thiol des cystéines. A proximité des sites de liaison d'ions métalliques peuvent se dérouler des réactions d'oxydation qui produisent des acides aminés anormaux. Les radicaux libres sont également responsables de la formation de ponts disulfures qui modifient la conformation des protéines et nuisent à leur activité biologique (activité enzymatique, transduction d'un signal ou système de transport) (**Jacques et André., 2004**).

3.5.2.L'oxydation de l'ADN :

Le radical hydroxyle est connu pour réagir avec tous les composants de la molécule d'ADN, d'endommager les bases puriques et pyrimidiques et aussi le désoxyribose. La lésion de l'ADN la plus étudiée est la formation de 8-OH-G. Les modifications permanentes du matériel génétique résultant de ces dommages oxydatifs représente la première étape impliquée dans la mutagenèse, la carcinogenèse et le vieillissement.

III.5.3.L'oxydation des lipides :

Les composés lipidiques, qui ont de nombreuses liaisons insaturées, sont fortement affectés par l'oxygène .En sa présence les lipides s'effritent et prennent une odeur Gênant ; ce mécanisme est appelé superoxydation lipidique .cette réaction est divisée en trois étapes :

a- L'étape primaire:

Cette étape se produit avec une stimulation radicale de la liaison C-H de la chaîne d'acides gras, et des radicaux très efficaces se forment en présence d'oxygène, qui sont les radicaux peroxylés.

b- Phase de diffusion:

Dans le prolongement de la première étape, la racine peroxylique prend l'hydrogène d'une autre molécule d'acide gras, créant ainsi une nouvelle racine qui convertit l'acide gras en hydroperoxyde.

c- Etape finale:

Les hydroperoxydes résultants subissent plusieurs transformations, soit en étant renvoyés par l'enzyme GPx, soit ils continuent d'être oxydés et dégradés en aldéhydes toxiques. Ces réactions successives sont arrêtées soit par l'intervention d'un composé antioxydant qui agit comme un briseur de chaîne, soit par l'interaction de deux radicaux entre eux pour produire une molécule stable (**Hannebelle et al, 2004**).

3.6. Les antioxydants

Un antioxydant est par définition une espèce chimique plus ou moins complexe diminuant le stress oxydant au sein de l'organisme. Un antioxydant peut donc : (i) prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles décrites ci-dessus ou (ii) désactiver directement les ROS. Les antioxydants peuvent être classés selon leurs modes

d'actions : systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydantes, chélateurs de métaux et piègeurs de radicaux libres.

L'organisme possède des systèmes endogènes dédiés à cette action protectrice. Cependant, cette ligne de défense est facilement saturée. De nombreux antioxydants exogènes sont également présents dans l'alimentation apportant un soutien significatif dans la lutte antioxydant. Nous les trouvons dans les fruits (pommes, poires, fruits rouges...), les légumes (brocoli, oignon...), les boissons (café, thé, vin...) ainsi que dans les épices, le cacao ou encore les céréales. Ces antioxydants sont surtout connus pour leur capacité à réagir directement réagir avec les radicaux libres en les « neutralisant » par réaction de réduction.

Les antioxydants sont un groupe hétérogène composé de systèmes antioxydants endogènes, enzymatiques ou non, de vitamines, d'oligo-éléments ou encore de polyphénols. **(Thomas Desmier. 2016).**

3.6.1. Les antioxydants endogènes :

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) **(Avissar et al., 1989).**

Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire **(Marfak, 2003).**

3.6.1.1. La superoxyde dismutase

Le superoxyde dismutase (SOD) est une protéine métallique possédant une activité enzymatique lui permettant de catalyser la dismutation de l'anion superoxyde O_2^- .

Il existe plusieurs SOD, elles diffèrent par le ou les métaux présent(s) dans sa structure qui va (vont) permettre la liaison enzyme-ligand. Il est important de noter qu'il existe des SOD avec deux types de métaux qui pourront être du Cuivre, du Zinc, du Manganèse et/ou du Fer. **(Russo-Marie F.,1998).**

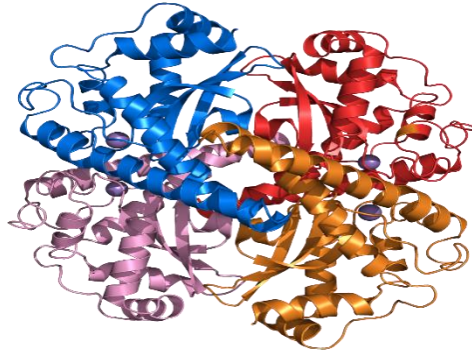
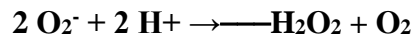


Figure 17 : Structure tridimensionnelle de La superoxyde dismutase

La réaction chimique catalysée par la SOD nécessite un milieu acide et va permettre d'agir simultanément avec 2 anions superoxydes aboutissant à la formation de dioxygène et de peroxyde d'hydrogène.



La dismutation du radical superoxyde est spontanée, mais l'action de la SOD permet de l'accélérer 10 000 fois. (McCord JM, Fridovich I.1988).

3.6.1.2. La catalase

La catalase ou CAT est une enzyme tétramérique contenant un groupe hème qui catalyse, d'où son nom, c'est une enzyme que l'on retrouve principalement au sein des peroxysomes, dans les hépatocytes, les érythrocytes. Son action a été découverte au début du 19ème siècle par un français (Thénard, 1818).

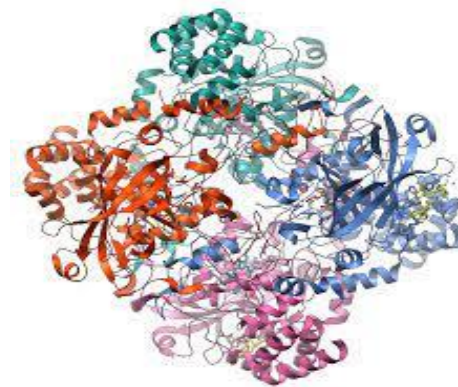
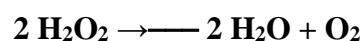


Figure 18 : Structure tridimensionnelle de la catalase

Elle catalyse la dismutation de peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau.



L'activité catalase est réduite par certaines conditions notamment lors de stress thermiques ou osmotiques (**Hertwig et al., 1992**). De hauts niveaux de H_2O_2 intracellulaires entraînent une activation préférentielle de la catalase tandis que de plus faibles niveaux seraient préférentiellement pris en charge par la GPX. Ces mécanismes redondants deviennent ainsi complémentaires (**Pamplona and Costantini, 2011**).

III.6.1 .3. La glutathion peroxydase

La glutathion peroxydase ou GPX est une enzyme tétramérique elle est constituée de 4 sous unités contenant chacune un atome de sélénium. Elle se retrouve dans les liquides extracellulaires ainsi que dans les cellules, au sein du cytosol et des mitochondries (**Thomas Desmier. 2016**).

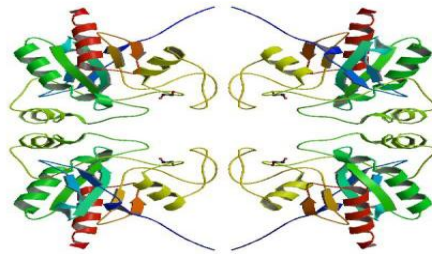


Figure 19 : Structure tridimensionnelle de la glutathion peroxydase

Cette enzyme permettant également la décomposition du H_2O_2 . Elle agit plus lentement que la catalase mais elle a une meilleure affinité pour le H_2O_2 que cette dernière. La GPX est donc essentielle à la décomposition du H_2O_2 produit de manière continue et à des niveaux physiologiques dans la cellule. Cette fonction antioxydante est d'autant plus importante qu'elle joue un rôle essentiel avec les superoxydes dismutases et la vitamine E. Elle va donc assurer l'équilibre intra et extracellulaire de la balance pro-/antioxydants. (**Thomas Desmier. 2016**).

Son activité principale est de permettre l'oxydation du glutathion par réaction de dimérisation avec la formation d'un pont disulfure. Cette réaction conduit à la génération de H_2 pouvant réduire les espèces environnantes.

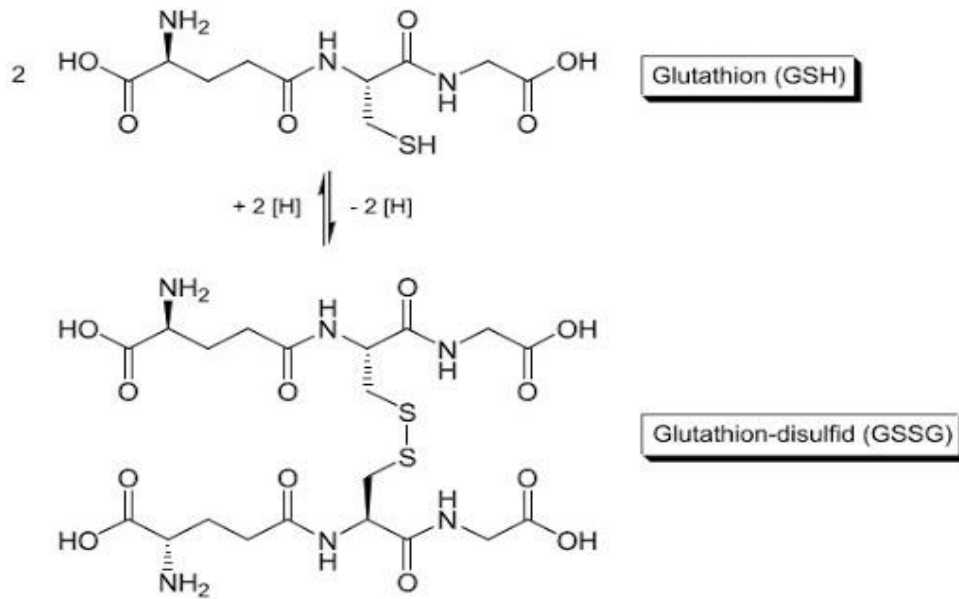
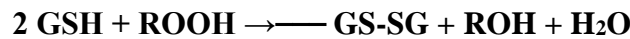


Figure 20 : Réaction de dimérisation du glutathion

En présence de substrat de type ROOH, la réaction se traduit de la manière suivante avec la formation d'une molécule d'eau et d'une molécule d'alcool.



Le gros avantage de ce système est sa capacité à se régénérer. En effet, sous la dépendance du NADPH via le métabolisme des glucides, le glutathion réduit est capable d'être reformé et ainsi pouvoir être de nouveau disponible. (Thomas Desmier. 2016).

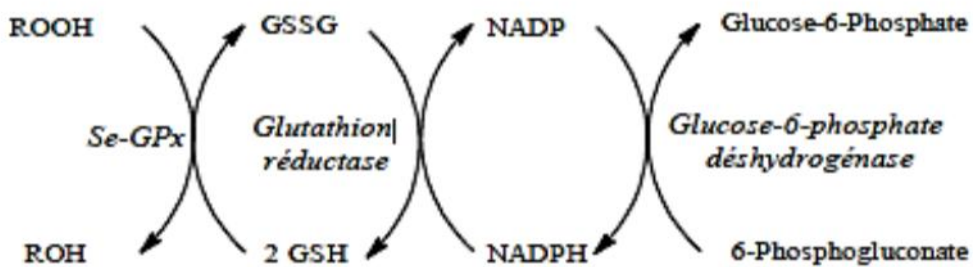


Figure 21 : Cycle de détoxification par la glutathion peroxydase

3.6.1.4. Les chélateurs de métaux

La transferrine, la ferritine et la céruléoplasmine jouent un rôle antioxydant par

Chélation des ions (Curtay et Robin, 2000 ; Pincemail et al., 2002).

Ces chélateurs forment des complexes ou des composés de coordination avec les métaux. Ils inhibent ainsi le cycle redox du métal ont construisent des complexes métalliques insolubles (Cillard et Cillard,2006).

3.6.2. Les antioxydants exogènes

Les antioxydants chimiques exogènes, eux, comprennent majoritairement les vitamines C et E, les caroténoïdes et des composés phénoliques (McCall et Frei, 1999).

3.6.2.1. Les vitamines

a- La vitamine E

La vitamine E est une vitamine liposoluble présente en grande quantité dans les huiles végétales (e.g., l'huile de palme, d'olive et de tournesol). La vitamine E est en réalité formée de huit composés chimiques différents regroupés en deux sous-ensembles en fonction de la présence de groupements de substitution et de doubles liaisons. Nous trouvons donc le sous-ensemble des tocopherols (α -, β -, γ -, ou δ -tocopherol) et des tocotrienols (α -, β -, γ -, ou δ -tocotrienol).

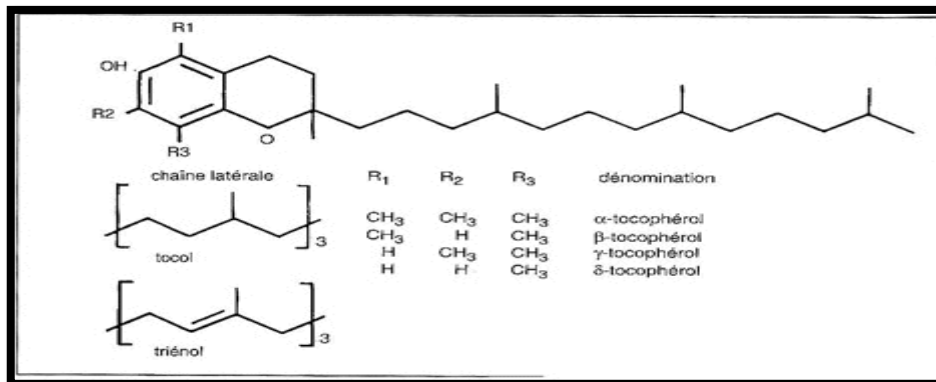


Figure 22 : Structure chimiques des vitamines E

Elle va agir comme antioxydant contre les ROS (en parallèle de la vitamine C et du glutathion) et plus particulièrement dans l'inhibition de la peroxydation lipidique. La chaîne carbonée augmente en effet le caractère lipophile de la molécule et ainsi facilite la pénétration dans les bicouches lipidiques, et permet une action directe intracellulaire.

L' α -tocopherol est considéré comme un antioxydant de référence servant d'étalon pour les nouvelles molécules que l'on souhaite évaluer comme antioxydants. (Thomas Desmier, 2016).



b- La vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes (non synthétisée par l'Homme). Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation membranaire (**Retsky et al., 1999**). Son caractère antioxydant provient de sa forme ionisée abondante (AscH^-) qui peut aisément réagir avec des radicaux et produire le radical ascorbate tricarbonyle (AscH^\cdot), stabilisé par résonance. Du fait de son très faible pK, la forme non protonée radicalaire faiblement réactive est privilégiée (Asc^\cdot) (**Valko et al., 2006**).

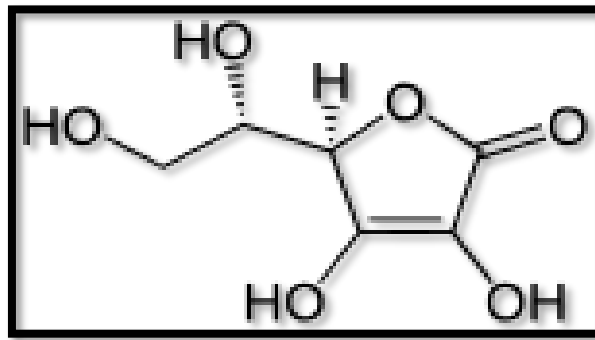


Figure 23 : Structure chimique de la vitamine C

Paradoxalement, les études in vivo de la supplémentation en vitamine C montrent, pour la plupart, une réduction de l'oxydation de l'ADN, des protéines et de la lipoperoxydation, alors que certains auteurs relatent l'effet pro-oxydant in vitro de cette molécule dans des milieux tamponnés contenant du fer en accélérant la réaction de Fenton (**Kang et al., 1998 ; Seon Hwa et al., 2001; Valko et al., 2006**).



3.6.2.2. Les oligoéléments

Les oligo-éléments se définissent comme une classe de nutriments nécessaires, en quantité très faible, à la vie d'un organisme. L'apport par l'alimentation, en quantité raisonnable, est crucial. En effet, ils n'agissent pas directement contre les ROS, mais ils sont nécessaires aux

enzymes décrites précédemment. Un apport excessif en oligo-éléments peut entraîner de sérieux dysfonctionnements, le cuivre (Cu), le zinc (Zn) et le sélénium (Se) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant.(**Thomas Desmier. 2016**).

a- Le cuivre

Le cuivre est un des cofacteurs essentiels de la SOD étant donné sa facilité à passer de l'état réduit à l'état oxydé. (**Jomova K, Valko M.2011**).On retrouve le cuivre surtout dans le foie, les huitres et le chocolat noir.

Néanmoins, il joue également un rôle important dans l'initiation des réactions produisant des ROS de par ses propriétés de métal de transition, tout comme le fer. (**Laliberté J, Labbé S. 2008**). Une concentration importante en cuivre pourra être le révélateur d'un stress oxydant. Au cours du processus de vieillissement, la concentration sérique en cuivre est amenée à augmenter (**Del Corso L, Pastine F et al ,2000**). En d'autres termes, cet élément peut jouer à la fois le rôle de protecteur ou d'initiateur.

b- Le zinc

Le zinc est un cofacteur de la SOD. On retrouve le zinc dans les huitres, le foie de veau et la viande de boeuf. Le zinc a également comme fonction de protéger le groupement thiol des protéines. De plus, il peut lutter contre la formation des ROS induite par le fer ou le cuivre. Ainsi l'analyse du rapport des taux sanguins Cuivre/ Zinc permet d'évaluer le stress oxydant d'un individu donné. Il semblerait que les personnes atteintes de maladies dégénératives aient un rapport Cuivre/Zinc plus élevé que la moyenne (**Mezzetti A, Pierdomenico SD et al.,1998**) De plus, unecarence en zinc est souvent liée à (i) un stress oxydant plus important et à (ii) l'apparition de pathologies chroniques(**Jomova K, Valko M.2011**)

c- Le sélénium

Le sélénium est un oligo-élément constituant des sélénoprotéines dont fait partie le principal antioxydant intracellulaire, la glutathion peroxydase. On le retrouve notamment dans le porc, le boeuf et le poisson. Il joue également le rôle de détoxification des métaux lourds comme le cadmium (**Thomas Desmier. 2016**).

3.6.2 3. Antioxydants d'origine végétale

Lescaroténoïdes et les polyphénols sont généralement de bons capteurs de radicaux hydroxyles $\cdot\text{OH}$ et peroxydes $\text{RO}_2\cdot$

a- Les caroténoïdes

Les caroténoïdes (Car) sont des pigments issus des plantes et microorganismes, et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles. On en dénombre environ 600 présents dans la nature. L'activité antioxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux ROO•, HO•, O₂⁻, R• par simple addition électrophile et transfert d'électron (Figure 24). Ils permettent, en particulier, de neutraliser l'oxygène singulet (**Valko et al., 2006**).

b- Les polyphénols

Les composés phénoliques (Ph), et en particulier les flavonoïdes, sont des métabolites secondaires des plantes caractérisées par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane. Leur capacité antioxydante réside dans leur faculté à « terminer » les chaînes radicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique. (**Schroeter et al., 2002 ; Leopoldini et al., 2011**).

3.7. Les maladies liées au stress oxydatif

Comme l'inflammation, le stress oxydant est un phénomène impliqué dans maintes maladies. La variété des conséquences médicales ne doit pas surprendre, car ce stress sera, selon les cas, localisé à un tissu et à un type cellulaire particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et s'associera avec d'autres facteurs pathogènes ou des anomalies génétiques spécifiques et individuelles. Par contre, à un stade plus avancé d'évolution de la carcinogenèse, les radicaux libres serviront inversement pour les NK lymphocytes à tuer les cellules tumorales. Le stress oxydant sera aussi un des facteurs potentialisant la genèse de maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. (**Montagnier L, Olivier R, Pasquier C.1998**).

Chapitre4

Les travaux antérieurs sur l'espèce sélectionnée

4. Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

L'espèce végétale sélectionnée appartient à la famille des Astéracées, cette famille est très riche que ce soit en genre ou en espèce telle que le genre *d'Artémisia Campestris* L. C'est la famille la plus étudiée grâce à sa richesse et sa variété en métabolites secondaires et leurs propriétés biologiques qui sont très nombreux tels que les propriétés antimicrobienne, antivirale, antifongique, antiinflammatoire, antioxydant qui joue un rôle très important dans la phytothérapie pour traiter plusieurs maladies ce qui a intéressé les chercheurs de plusieurs laboratoires phytochimique et pharmacologique.

4.1. Synthèse des travaux chimiques de la plante étudiée

4.1.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage des métabolites secondaires dissouts dans un solvant organique et/ou aqueux utilisé pour l'extraction. Il est calculé à partir du poids de l'extrait sec par rapport au poids de la matière végétale sèche réduit en poudre. (Abe et al., 2010).

- ✓ Le rendement d'extraction est calculé selon la formule suivante : (Falleh et al.,2008)

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

- R est le rendement en %.
- M_{ext} est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg
- $M_{\text{éch}}$ est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

L'extraction par macération est basée sur l'utilisation de deux types de solvants : solvant méthanolique et de l'eau distillée, de polarité différente respectives de 6,6 et 9,0 expérimentales (Bourgou et al, 2016).

Le rendement est utile pour comparer la capacité des solvants à extraire les molécules suite à la formule de (Kumar et al., 2017).

L'utilisation du solvant hydro-alcoolique permet une bonne récupération des composés polaires, ainsi que les composées de moyenne et de faible polarité, principalement les composés phénoliques (Xia et al., 2010).

La méthode de macération sous agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bio-activité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

l'épuisement du solvant à pression réduite permet d'obtenir le maximum de composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction (**Seidel, 2005**).

La valeur du rendement dépend de plusieurs facteurs tels que : structure et pH du sol, salinité du lieu de récolte, température, air, altitude...etc. Comme elle peut être liée aux conditions expérimentales (**Bouras Hind et Deneche lina nourhan .2020**).

De nombreuses études chimiques ont révélé que la partie aérienne d'*Artemisia Campestris* L est riche en métabolites secondaires tels que les acides phénolique les flavonoïdes, les tanins, les huiles essentielles (**Akrout et al., 2003**).

4.1.2. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

4.1.2.1. Teneurs en polyphénols

La teneur en polyphénols totaux a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes et les plus employées conçues pour déterminer la teneur en polyphénols des plantes médicinales et les nourritures (**Abdel-Hameed., 2009**)

Les concentrations de polyphénols totaux contenus dans les extraits ont été calculés en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al., 1999**). Avec une légère modification. L'acide gallique est l'étalon utilisé pour établir la courbe d'étalonnage. La solution diluée des extraits (200 µl) a été mélangée avec 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10 %) pendant 5 min ; et 800 µl d'une solution de bicarbonate de sodium (7,5 %) a été ajoutée. Le mélange a été laissé réagir pendant 2 heures à température ambiante et l'absorbance de chaque mélange a été lue à 765 nm. La quantité des extraits indifférents des polyphénols totaux a été exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mgGAE/g extrait) (**Boudjouref et al 2018**).

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage (Annexe) établie avec l'acide gallique et est exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

Selon les résultats (**Boudjouref .2011**) la quantité des polyphénols a été rapportée en milligramme d'équivalent de l'acide caféique par milligramme de poids sec de l'extrait (mg EAC/mg Ps).

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des polyphénols totaux est : 178- 91–102 mg EAC/g Ps, pour les extraits de chloroforme, acétate d'éthyle, éthanol respectivement.

Les extraits métaboliques ont montré la teneur la plus élevée en les polyphénols et les extraits aqueux ont montré la quantité la plus faible.

La quantité de composés phénoliques totaux dans l'extraits de *A. Campestris* était plus élevée par rapport à ce qui a été trouvée par (Djeridane et al,2006)

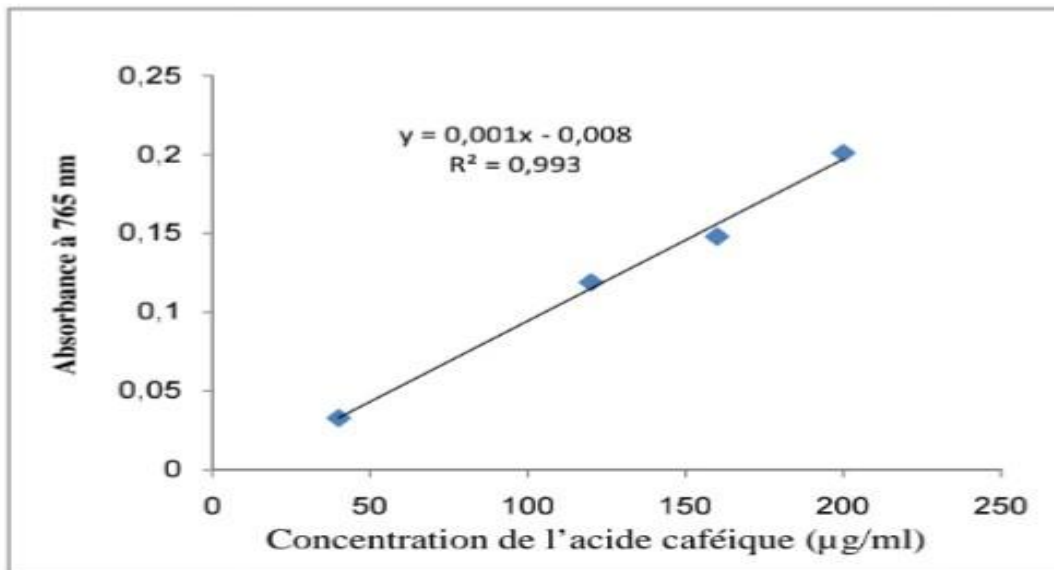


Figure 24: Droite d'étalonnage des polyphénols totaux des extraits (Boudjouref .2011)

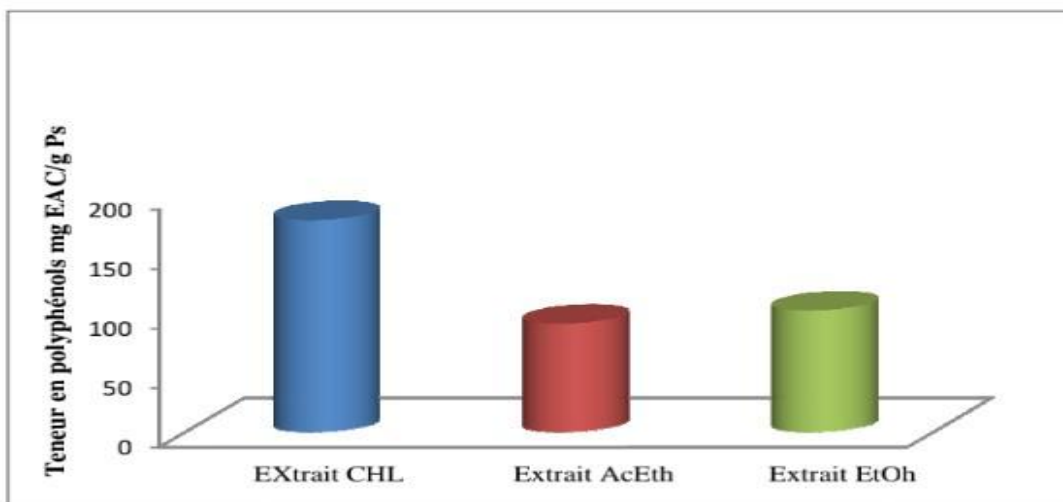


Figure 25: Evaluation des polyphénols totaux des extraits résultats (Boudjouref .2011)

4.1.2.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

D'après la bibliographie, les flavonoïdes renferment plus de molécules bioactives que les polyphénols (**Gomez et al., 2006**) et (**Tapas et al., 2008**)

La raison principale pour laquelle on a choisi cette classe de polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 2000 publications annuelles contenant « flavonoïdes » comme mot clé (**Havsteen., 2002 et Middleton., 2000**).

Les feuilles et les fleurs *d'Artemisia Campestris* riche en alcaloïdes, saponines, terpènes surtout les flavonoïdes, selon l'étude de (**Al-Snafi, 2015**), quatre flavanones (pinostrobin, pinocembrine, sakuranetin, genéine), un dihydroflavonol (7-méthyl aromadendrine) et un flavone (hispiduline) ont été isolés.

Par mesure colorimétrique du chlorure d'aluminium par la méthode de Bahorun et al. (1996). La quantité de flavonoïdes présents dans l'extrait est mesurée. La courbe d'étalonnage était fabriquée en utilisant la quercétine. 1 millilitre d'aluminium une solution trichloridéméthanolique (2%) a été ajoutée à 1 millilitre de la solution échantillon. Le mélange a été laissé à réagir pendant 10 min à température ambiante, et l'absorbance de chacun mélange a été lu à 430 nm, les flavonoïdes totaux ont été exprimés en mg d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg QE/g extrait). (**Boudjouref et al 2018**).

le resultat obtenu dans l'étude de (**boudjouref et al 2018**) est trouvé que l'extrait méthanolique contenait la plus grande quantité de flavonoïdes et les flavonols, cela peut s'expliquer par la faible solubilité de ces composés dans l'eau (**Khettaf et al., 2016**).

4.1.2. 3. Détermination des tanins totaux

Ce sont des composés phénoliques complexes, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 en plus des réactions classiques des phénols, et ils ont l'appropriés de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et de rendre la peau imputrescible en se fixant sur les protéines.

D'après (**Sun, B., conceiçao et al 1995**) les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide. Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensées en présence d'acide pour produire un complexe coloré dont l'absorbance est mesurée à 500 nm.

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

En fait le dosage des tanins par la méthode de Julkunen-Tiitto¹⁹ a été suivi dans cet essai. Une aliquote (50 l) d'échantillon dilué ou d'étalon solution a été mélangée avec 3 ml de vanilline à 4 % (préparée avec du méthanol), puis 100 µl d'HCl ont été ajoutés. Bien mélanger la solution et l'incuber dans l'obscurité à température ambiante pendant 20 minutes. L'absorbance a été lu à 500 nm. La catéchine a été utilisée pour tracer la courbe standard (0,05–0,5 mg/ml, $y=0,002x+0,006$, $R^2=0,98$, où y est l'absorbance et x est la concentration). Les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalents catéchines (CE/g extrait). (**Barkat et al 2015**).

L'étude faite par **Boudjouref Mouradet al. 2018**) montre que la teneur de tanins est de $36,88\pm 0,01$ dans l'extrait méthanolique de Boussaâda.

4.1.2.4. Composition chimique d'Huile Essentielle d'*Artemisia Campestris L*

Selon **Dib** et ses collaborateurs, où ils ont étudié la partie aérienne de la plante d'*A.Campestris* Collecté à la région désertique de Figuig (au Sud-Est du Maroc dans la zone frontalière avec Algérie). Au stade de floraison en septembre 2012 (**Dib et al, 2017**).

Les analyses chimiques (GC et GC/MS) de l'AcEO ont permis d'identification de 42 composés. La chromatographie le profil de l'huile essentielle est montrée dans la Fig. 14. L'huile a le spathuléol (10,19 %) comme composant principal, suivi par β -eudesmol (4,05%), p-cymène (3,83 %), cad-cadinène (3,67 %), β -pinène (2,82 %), oxyde de caryophyllène (2,30%) et salvia-4(14)-en-1-one (2,51 %). Les composés mentionnés de la figure 1 ont été systématiquement retrouvés dans tous les échantillons. Les structures chimiques des principaux composants chimiques trouvés dans AcEO sont présentées dans la Fig. 15.

L'analyse GC de l'AcEO a été réalisée sur un Agilent GC-MS 5973 N couplée à un chromatographe en phase gazeuse Agilent 6890 équipé d'un injecteur à 250°C (mode Splitless) et équipé d'une colonne capillaire HP-5MS revêtue de 5% de phényl-méthyl siloxane (longueur 30 m \times 0,25 mm interne diamètre \times 0,25 m d'épaisseur de film, Agilent 19091S-433). La pression de la colonne a été réglée à $51,6 \times 10^3$ Pa. La température du four a été maintenue à 40°C pendant 2 min, puis programmée à 250°C à raison de 8°C/min. L'hélium était utilisé comme gaz porteur à un débit de 1,1 ml/min. Dilué l'échantillon dans l'éther diéthylique a été injecté manuellement.

L'analyse GC-MS de l'AcEO a été réalisée sur un Agilent 5973 N GC-MS couplé à un gaz Agilent 6890 chromatographe équipé d'un injecteur à 250°C (Splitless mode) et équipé d'une

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

colonne capillaire HP-5MS recouvert de 5% de phényl-méthylsiloxane (longueur 30 m × 0,25 mm de diamètre interne × 0,25 m d'épaisseur de film, Agilent 19091S-433). La pression de la colonne a été réglée à $51,6 \times 10^3$ Pa. La température du four a été maintenue à 40°C pendant 2 min, puis programmé à 250°C à une vitesse de 8°C/min. De l'hélium a été utilisé comme gaz porteur à un débit de 1,1 ml/min. Les spectres de masse (MS) ont été exploités en mode impact électronique (70 eV) avec l'électron multiplicateur réglé à 1823,5 V, et les données MS ont été acquises en mode balayage. Les pics ont été quantifiés en calculant le pourcentage de l'aire de pic de chaque composante par rapport à la somme des pics d'autres composés. L'identification des composants a été réalisée sur la base d'une comparaison chromatographique du temps de rétention enregistré avec bibliothèques de données à spectre de masse (Pal 600K et Wiley 275).

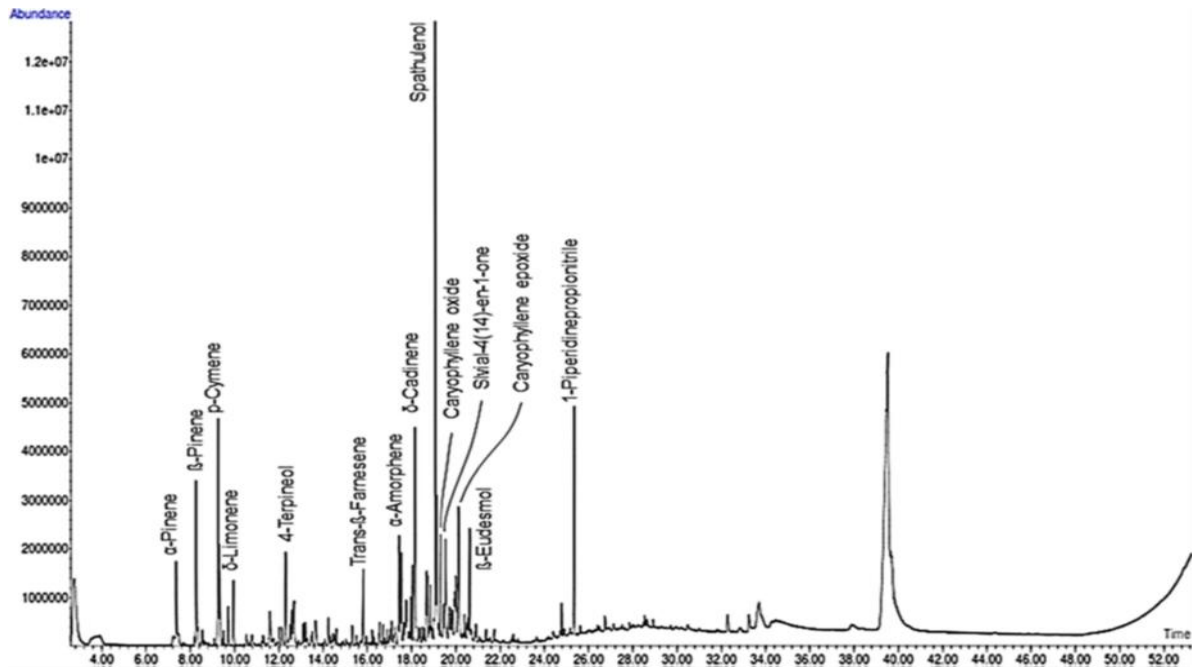


Figure 26 : Chromatogramme GC-MS de l'huile essentielle *d'A. Campestris* L. (AcEO).

(Dib et al.2017).

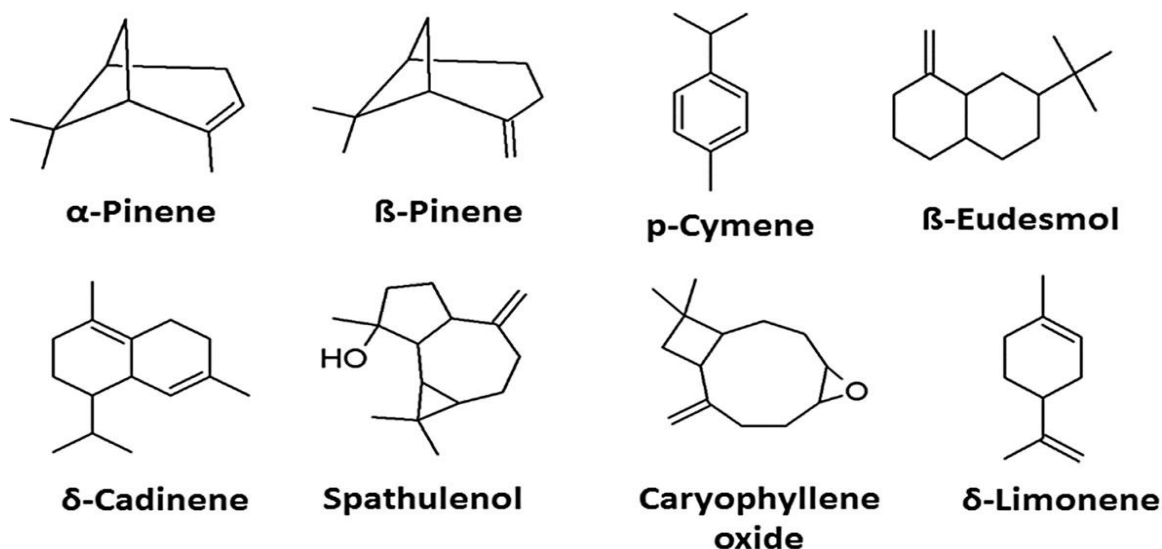


Figure 27 : Structures chimiques des composés volatils de l'huile essentielle d'*A. Campestris* L. (AcEO). (Dib et al.2017).

De nombreuses études ont rapporté la composition chimique d'huile essentielle d'*A. Campestris* L. poussant dans différents des pays. Cependant, la recherche de Dib et son collaborateur représente le premier rapport sur l'huile essentielle d'*A. Campestris* L. (AcEO) existante au Maroc. Comme le montre la Fig. 14, analyse GC/MS de l'huile essentielle d'*A. Campestris* L. a abouti à la détermination de spathuléol (10,19 %) comme le plus important composé, suivi de β -eudesmol (4,05 %), p-cymène (3,83 %), -cadinène (3,67 %) et β -pinène (2,82 %). Ces résultats sont cohérents avec de nouvelles publications, qui ont confirmé le profil chimique similaire d'huile essentielle d'*A. Campestris* L. récoltée à la floraison (Dib et al,2017). Par rapport à la littérature donnée, nos conclusions sont en partie conformes à une étude menée en Iran par Kazemi et al. (Kazemi et al 2009) dans lequel les composants prédominants de l'huile essentielle obtenue à partir des fleurs, des feuilles et des tiges d'*A. Campestris* L. étaient α -pinène (23-29,2%) et spathuléol (15,8-29,2%). Un autre travail a révélé l'existence du spathuléol et le β -pinène dans l'huile essentielle d'*A. Campestris* L. de Serbie (Chalchat et al 2003). Des études antérieures ont rapporté l'existence de deux chémotypes d'huile essentielle d'*A. Campestris* L, se produisant dans différentes localités ; le plus pertinent chémotype consiste principalement en β -pinène seul ou ensemble avec le α -pinène présent principalement en Tunisi (Akrouit et al.2011,2010,2003), l'Algérie (Belhattab et al. 2011, Houicher et al. 2015, Boulanouar et al.2013) et le sud de l'Oural (Khalilov et al.2001). Tandis que l'autre chémotype était caractérisé par les volatiles : tremetone et capillen, détectés dans l'huile essentielle d'*A. Campestris* L poussant en Turquie (Baykan Erel Ş et al. 2012). De plus, c'est connu que l'espèce *A. Campestris* L présente de grandes

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

variabilité dans sa composition en huiles essentielles due à l'existence de différentes sous-espèces de différentes localités. L'*A. Campestris* subsp. *Glutinosa* de France possède les principaux terpènes : γ -terpinène et capillène (Masotti et al.2012, Juteau et al.2002), tandis que la même sous-espèce d'Italie présente les principaux composés : β -pinène, germacrène D et bicyclgermacrène (Bellomaria et al.2001).

D'autres études faites par de nombreux chercheurs sur la composition chimique des huiles essentielles d'*Artemisia Campestris*, mais les résultats étaient proches avec des différences dans la proportion des composants de l'huile.

Bakchiche et al., 2014 ont analysé les huiles essentielles d'*Artemisia Campestris* de Djebel Amour (Algérie), et ils ont trouvé 31 composés représentant 91,8 % des composés totaux. β -pinène et sabinène (25,6% et 17% respectivement) sont les composés majoritaires suivis par α -pinène (9,9%), limonène (6,6 %) et p-cymène (4,1%).

L'analyse de la composition chimique des HEs de la plante *A. Campestris* par les méthodes chromatographiques CPG/SM a permis d'identifier 28 composés dont les majoritaires sont : Spathulenol, β -caryophyllène, α -copaène, Guaiène, caryophyllène oxyde et p-menth-1-en-8-ol (Saihi, 2011).

Dans le travail de (Dob et al., 2005) sur l'huile essentielle d'*A. Campestris*, 71 composés ont été identifiés. Ceux-ci représentaient 57,0 % du total des composés détectés., l'huile est riche en composants oxygénés (43,7%). L'huile essentielle est principalement composée de monoterpènes oxygénés (23,5%) étant le constituant prédominant, la verbénone (3,8 %). Les hydrocarbures sesquiterpéniques représentaient pour 7,8% de l'huile, le composant principal était le transcalamène (3,0 %). Les hydrocarbures monoterpéniques s'élevaient à 5,5%, le composant principal étant le myrcène (3,3 %). Les principaux composants sont le (Z, E) -farnésol (10,3%) suivi du cédrol (5,4%). Seulement des traces de β -pinène, l'alcool de yomogi, l' α -terpinène et le germacrène D ont été trouvés dans l'huile entière.

Donc en conclue que ces composés ne partagent pas le même chemin de biosynthèse. L'initiation de la floraison semble privilégier la voie des acides gras, ce qui explique la composition chimique différente des huiles essentielles d'*Artemisia Campestris* d'une région à l'autre, en raison de l'influence des conditions environnementales et climatiques sur sa formation.

IV-2- Synthèse des activités biologiques de la plante étudiée

La plante étudiée est largement utilisée en médecine traditionnelle en raison de la diversité de ses propriétés biologiques : antioxydantes, antivenins, anti-inflammatoires, antirhumatismales et antimicrobiennes...etc (Akrouf et al., 2003).

IV.2.1. L'activité antioxydants

L'activité antioxydante est l'un des sujets les plus abordés dans la recherche sur les huiles essentielles ; suite aux dommages engendrés par les réactions d'oxydation sur l'ensemble des substances biologiques, et qui par conséquent, peut provoquer plusieurs maladies telles que : le cancer, maladie du foie, l'Alzheimer, les arthrites, l'inflammation, le diabète, la maladie de Parkinson, l'athérosclérose et le SIDA (Shaaban et al., 2012). Depuis, il a été largement rapporté que les huiles essentielles extraites à partir de plantes naturelles, présentent des propriétés antioxydantes et antiradicalaires (Lou et al 2017). Un exemple est celui de l'huile essentielle d'*Artemisia Campestris* L qui a montré une importante activité antioxydante. En effet cette plante est riche en composés doués d'activité antioxydante tels que : les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, ces différents constituants exercent leurs actions antioxydantes. (Bruneton, 1999).

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, plusieurs méthodes in vitro sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante. Le plus souvent il faut combiner, les résultats de différents tests complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante (Popovici et al., 2009). Parmi ces méthodes, nous avons : le test de DDPH, la méthode de la β carotène, le test ABTS.

- **Le test de DDPH**

DDPH est un radical libre centré sur l'azote ayant un électron impair ce qui donne une forte absorption à 517 nm, le changement de couleur du violet au jaune est due à la réduction du radical DPPH en présence d'un piègeur de radicaux (Cai et al., 2003).

Selon (Soares et al., 1997). le DPPH est un radical libre et accepte un électron ou un radical hydrogène pour devenir une molécule diamagnétique stable.

La capacité de réduction du radical DPPH a été déterminée par la diminution de l'absorbance induite par les antioxydants végétaux. Il a été découvert que des molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, le tocophérol, les flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

DPPH en raison de leur capacité de donner de l'hydrogène (**Kumaran et Karunakaran, 2007**).

Ces activités antioxydantes des fractions *d'A.Campestris* ont été mesurées en termes de don d'hydrogène ou de piégeage des radicaux en utilisant la méthode DPPH (**Hatano et al., 1988**). L'échantillon a été dilué dans du méthanol à différentes concentrations (5, 10, 20 et 50g/ml). 1ml de chaque extrait ou fraction diluée a été ajouté à 250 l d'une solution méthanolique de DPPH 0,2 mmol. Le mélange de différentes concentrations d'échantillon et de DPPH a été placé dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance de la solution résultante a ensuite été lue à 517 nm dans un appareil de spectrophotomètre type LABOMED, INC. L'activité antiradicalaire a été exprimée en IC₅₀ (g/ml). L'inhibition des radicaux libres DPPH en pourcentage a été calculée comme suit :

$$\text{Effet de balayage DPPH (\%)} = (A_0 - A_1 / A_0) \times 100$$

A₀ : l'absorbance du contrôle à 30 min

A₁ : l'absorbance de l'échantillon à 30 min.

Tous les échantillons ont été analysés en triplicata.

Selon **Dib 2016** et ses collaborateurs en Tunisie, les études ont montré que l'effet antioxydant de l'extrait méthanolique des pousses possède la concentration inhibitrice semi-maximale (CI₅₀) d'environ 730µg/ml (**Tlili et al., 2013**) tandis que l'extrait méthanolique des feuilles et celui des pousses ont exprimé les valeurs respectives de 22µg/ml et 6µg/ml, par rapport à la norme BHT (Hydroxytoluène butylé) (IC₅₀=72µg/ml). L'antioxydant provoqué par l'extrait méthanolique de pousses semble être plus efficace (**El Abed et al., 2014 ; Megdiche-Ksouri et al., 2015**). L'extrait aqueux de feuilles possédait une CI₅₀ équivalent à 160µg/ml, cependant, cette activité de piégeage radical est inférieure à celle d'acide ascorbique (IC₅₀=72µg/ml) (**Sebai et al., 2014**). Sinon, l'extrait de feuille a montré un faible effet antioxydant (IC₅₀>62µg/ml), si comparé à celui de l'acide ascorbique qui possède une IC₅₀ allant de 2 à 3,5µg/ml (**Sefi et al., 2013**). Un autre rapport trouvé que la fraction aqueuse de la partie aérienne exprimait une activité antioxydante, correspondant à l'IC₅₀ : 27,5µg/ml ; cette valeur était deux fois supérieure à celle de la BHT standard (IC₅₀=11,5µg/ml) (**Megdiche-Ksouri et al., 2015**). Cependant, la CI₅₀ de la fraction d'acétate d'éthyle était de 10µg/ml, ce qui était comparable à celle affichée par BHT (IC₅₀=11,5µg/ml) (**Megdiche-Ksouri et al., 2015**). En ce qui concerne l'huile essentielle de feuilles, la CI₅₀ était d'environ 1874µg/ml,

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

comparativement à celle de l'acide ascorbique ($IC_{50}=2,5\mu\text{g/ml}$), l'activité observée est trop faible (**Akrout et al., 2010**) ; la même observation a été faite avec l'effet antioxydant de l'huile essentielle de la partie aérienne, qui a un $IC_{50}=94500\mu\text{g/ml}$, ce qui est jugé très faible par rapport aux standards : acide ascorbique ($IC_{50}=240\mu\text{g/ml}$), quercétine ($IC_{50}=280\mu\text{g/ml}$) et BHT ($IC_{50}=840\mu\text{g/ml}$) (**Akrout et al., 2011**). En Algérie, l'huile essentielle et les extraits phénoliques obtenus à partir des feuilles et des fruits d'*A. Campestris* L, ont montré une activité de piégeage contre le radical DPPH, et l' IC_{50} s'est avéré être égale à $39\mu\text{g/ml}$; cette activité semble être plus efficace en se référant à la norme BHT ($IC_{50}=89\mu\text{g/ml}$) (**Bakchiche et Gherib, 2014**). De plus, l'extrait d'acétate d'éthyle de la partie aérienne a montré une activité de piégeage radicalaire estimée par une $CI_{50}=58\mu\text{g/ml}$; pourtant, cet effet est plus faible par rapport à la rutine standard. **Djidel et Khennouf, (2014) et Karabegović et al. (2011)** ont testé l'effet antioxydant de trois extraits méthanoliques récupérés par différentes techniques d'extraction des parties aériennes d'*A. Campestris* L. collecté en Bulgarie ; en conséquence, il a été affirmé que les extraits ont relativement le même potentiel de piégeage vers le radical DPPH, avec une IC_{50} allant de $19,8$ à 23g/ml .

- **La méthode de la β carotène**

Cette méthode est basée sur la perte de la couleur orangée du B-carotène en raison de sa réaction avec les radicaux qui se forment par oxydation à l'acide linoléique dans une émulsion. La capacité des extraits à inhiber la peroxydation lipidique et à être évaluée par le test de blanchiment au B-carotène a montré que la peroxydation des lipides était efficacement inhibée par les extraits d'*A. Campestris*. Les résultats montrent l'activité antioxydante des extraits et du BHT telle que mesurée par le blanchiment du système b-carotène/acide linoléique. Dans ce système, CE et EAE ont présenté une activité d'inhibition la plus élevée avec des valeurs de 82 et 79 % ($P<.001$). Cette activité peut être attribuée principalement à la teneur élevée en composants phénoliques de l'*A. Campestris* (**Djidel et Khannouf.2014**).

L'activité antioxydante des extraits de plantes a également été évaluée en utilisant un système modèle β -carotène-linoléate selon la méthode de **Shon et al., (2007)**. Une solution de mélange β -carotène/acide linoléique a été préparée en dissolvant 2,0 mg de β -carotène dans 1ml de chloroforme, cette solution a ensuite été pipetée dans un ballon et 25 μl d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40 ont été ajoutés. Le chloroforme a été évaporé sous vide à 40°C , puis le mélange a été additionné de 100 ml d'eau distillée saturée d'oxygène, et le mélange résultant a été vigoureusement agité. Des aliquotes (2,5 ml) d'émulsion β -carotène/acide linoléique ont

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

été transférées dans des tubes contenant 350 l de chaque extrait. Les échantillons ont ensuite été incubés dans un bain-marie à 50°C pendant deux heures, l'absorbance de chaque échantillon a été lue à 490 nm.

Pour les antioxydants synthétiques, la même procédure a été appliquée et l'hydroxyanisole butylé (BHA) a été considéré comme un contrôle positif. Tous les échantillons ont été analysés en triple (**Boudjrouf 2014**).

L'activité antioxydante dans le modèle de blanchiment au β -carotène en pourcentage a été évaluée par l'équation suivante (**Bougatf et al., 2009**) :

$$\text{Activité antioxydant\%} = 1 - ((A_0 - A_t) \text{ teste} / (A_0 - A_t) \text{ controle}) \times 100$$

A₀ : Absorbance au temps t = 0.

A_t : Absorbance au temps t = 120min (**Boudjrouf 2014**)

- **ABTS⁺ (acide 2,2-azino-bis (3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique) radical libre activité de récupération**

L'activité de piégeage des radicaux libres des huiles essentielles examinées a été déterminée par la méthode du test de décoloration des cations radicalaires ABTS décrite par **Pellegrini et al. (1999)** avec des modifications mineures. L'ABTS a été dissous dans l'eau à une concentration de 7 mM. Le cation radical ABTS a été produit en faisant réagir ABTS en réagissant solution avec 2,45 mM de persulfate de potassium (concentration finale) et laissé reposer le mélange dans l'obscurité à température ambiante pendant 12 à 16 h avant utilisation. La solution de cations radicalaires ABTS a été diluée avec du méthanol jusqu'à une absorbance de 0,70 ($\pm 0,02$) à 734 nm et équilibré à 23 ± 2 C. La lecture du réactif blanc a été prise (A₀). Après ajout de 1 ml de solution diluée d'ABTS^{*+} (A_{734 nm} = 0,70 \pm 0,02) à 20 mg d'huile essentielle, la lecture de l'absorbance a été prise 7 min après le mélange initial (À). Des blancs de solvant appropriés ont été exécutés dans chaque essai. Toutes les déterminations ont été effectuées au moins trois fois. Le PI de l'absorbance à 734 nm a été calculé en utilisant la formule ci-dessus et la diminution de l'absorbance entre A₀ et A_t. (**Akrout et al 2011**).

L'extrait phénolique de la partie aérienne d'*A. Campestris* L. présent en Algérie, s'est avéré posséder une CI₅₀ = 25 mmol équivalent Trolox/g de poids sec d'extrait, ce qui correspond à la valeur 573 μ g/g de la matière sèche (**2006 ; Djeridane et al., 2007**). Sinon, l'extrait phénolique des feuilles et des fruits a donné un effet antioxydant, qui correspond à

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

l'IC₅₀=15µg/ml. Le BHT, utilisé comme référence standard, a montré plus d'effet antioxydant, concernant l'IC₅₀=4µg/ml) (**Bakchiche et Gherib, 2014**). Une autre étude a montré que le potentiel de piégeage de ce radical par l'extrait aqueux était bien une activité plus faible et antioxydante a été estimée par une CI₅₀=26000µg/ml (**Barkat et al., 2014**). Selon d'autres rapports, il a été démontré que le balayage de l'ABTS 22 a montré une activité estimée équivalente à 1737, 1000 et 77 µmol d'équivalent Trolox/g d'extrait, successivement pour l'extrait hydro-éthanolique, l'infusion et l'essentielle huile. Ces activités sont considérées comme intéressantes par rapport aux BHT standard qui affichait IC₅₀=6513µmol équivalent Trolox/g d'extrait (**Akrout et al., 2011**), alors que la valeur 16mg Trolox équivalent/g de poids sec d'extrait correspondait au pouvoir de piégeage radicalaire rapporté pour l'extrait méthanolique des pousses (**Tlili et al., 2013**).

Plusieurs chercheurs ont fait des études sur l'activité antioxydante d'huiles essentielles d'*Artemisia Campestris* et ont trouvé des résultats intéressants, et parmi ces recherches on a :

L'étude faite par **Mongi Saoudi et al 2021** qui a visée à élucider les effets antioxydants et protecteurs possibles des Huiles essentielles d'*Artemisia Campestris* (ACEO) contre les effets délétères du chlorpyrifos(CPF) chez le rat. L'étude in vivo a révélé des augmentations de l'aspartate aminotransférase (AST), alanine aminotransférase (ALT), lactate déshydrogénase (LDH) et phosphatase alcaline (ALP) et les teneurs sériques en créatinine, urée, acide urique, cholestérol, triglycérides, lipoprotéines de basse densité (LDL) et glucose chez les rats traités par CPF comme par rapport aux témoins. Pendant ce temps, les activités hépatiques et rénales de la superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT) et glutathion peroxydase (GPx) dans le foie et les reins diminuaient et la teneur en malondialdéhyde (MDA) a augmenté, et on observe aussi des modifications histologiques dans le foie et les reins a révélé des dégénérescents épithéliales tubulaires, une nécrose et des dommages à divers composants membranaires des tissus hépatique et rénaux du groupe CPF. Fait intéressant, ACEO a atténué les perturbations biochimiques et réduit ces changements morphologiques hépato-rénaux. ACEO a également été signalé pour lutter contre les effets de nombreuses toxines, y compris les pesticides et les métaux lourds (**Badraoui et al., 2012 ; Houicher et al., 2016 ; Saoudi et al., 2017a**). Dans notre expérience, la pré-administration d'ACEO ou de vitamine C contre le CPF a entraîné à une augmentation des activités de la SOD, de la catalase et du GPx dans les tissus du foie et des reins des rats. Le traitement préventif avec ACEO a également restauré le niveau de MDA suggérant une diminution des lipides peroxydation. Ces propriétés pourraient être attribuées au niveaux haît d'antioxydants tels que la phyocyanine, les caroténoïdes, les

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

vitamines, minéraux, lipides, protéines et glucides, qui ont été signalé chez *A. Campestris* (**Dib et al., 2017**). Par conséquent, l'ACEO pourrait être utilisé pour prévenir les maladies hépatiques et rénales en particulier celles induites par les dommages oxydatifs (**Saoudi et al., 2017a**). La co-administration d'ACEO améliore l'analyse histologique altérations induites par le CPF, suggérant une efficacité antiradicalaire/antioxydante de l'ACEO. De plus, ces résultats sont conformes à des études antérieures qui postulaient le rôle bénéfice de l'ACEO sur le plan histopathologique et biochimique changements chez les rats (**Saoudi et al., 2017a**). Nous pouvons conclure que le CPF a induit des dommages oxydatifs au foie et aux reins chez les rats mâles. L'administration d'huile essentielle d'*A. Campestris* a fourni une protection significative contre l'oxydation induite par le chlorpyrifos stress, perturbations biochimiques et altérations histopathologique.

Une autre étude : Le méthidathion (MD) est un insecticide et acaricide organophosphoré utilisé dans les zones agricoles et urbaines du monde entier. dont l'Algérie. L'objectif de cette étude qui est faite par **Barkat** et ses collaborateurs en **2015** était d'évaluer l'effet protecteur de l'extrait aqueux de feuille d'*Artemisia Campestris* (Ac) sur les dommages oxydatifs subaigus de quatre semaines induits par la MD sur le système hématologique et l'intégrité rénale des rats. Les animaux ont été répartis au hasard en quatre groupes de sept chacun : le groupe I a servi de contrôle et a reçu un régime standard ; le groupe II n'a reçu que Ac (5 g/l) tandis que le troisième groupe n'a reçu que du MD (5 mg/kg de poids corporel par gavage en utilisant de l'huile de maïs comme véhicule). Rats du quatrième groupe (MD+Ac) ont été traités avec de l'extrait de MD et d'Ac. Les résultats ont montré que la peroxydation lipidique a augmenté de manière significative chez les rats traités par MD, comme en témoignent par des taux rénaux élevés de malondialdéhyde (MDA). Ainsi que les activités de la glutathion peroxydase (GPx), de la superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion-s-transférase (GST), la catalase (CAT), et le niveau de teneur réduite en glutathion (GSH) dans le tissu rénal a diminué de MARYLAND. D'autre part, une augmentation significative des taux plasmatiques de protéines totales, d'urée et de créatinine a été observée chez les patients traités par MD. grouper. Cependant, le traitement de l'extrait d'Ac avec des rats traités par MD a maintenu les paramètres biochimiques cités ci-dessus. Les modifications des paramètres hématologiques et biochimiques ont été corroborées par des données histologiques l'extrait d'Ac induit son activité néphroprotectrice contre les dommages oxydatifs de méthidathion, est basé sur la composition phytochimique de cet extrait (huile essentielle, tanins, polyphénol, flavonoïdes, saponosides) qui ont la capacité de détoxifier les radicaux libres H, OH, O₂, et à sa capacité à

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

inhiber les lipides peroxydation dans le tissu rénal. Par ailleurs, la récente étude précédente sur les Saoudi 2010 a montré après des tests photochimiques sur l'infusion d'extrait d'Ac (5mg/ml) que l'extrait a une source potentielle d'antioxydant. De plus, il pourrait avoir lieu sous forme d'activité de piégeage de radical oxyde et/ou piégeage des superoxydes, ainsi, cette découverte a prouvé et soutient l'activité antioxydant de l'extrait d'Ac. En conclusion, ces résultats ont indiqué un mécanisme possible de néphrotoxicité induite par la MD et les biomarqueurs plasmatiques ont été perturbés. Feuille d'armoise *Campestris* extrait aqueux a amélioré les effets toxiques de ce pesticide dans le tissu rénal suggérant leur rôle en tant qu'antioxydants potentiels.

Les parties aériennes *d'Artemisia Campestris* sont souvent utilisées dans les cas d'empoisonnement tunisiens et sont connues de posséder des activités antioxydantes importantes. Une étude qui est fait par **Saoudi et al 2010** consiste à évaluer les effets protecteurs d'extrait aqueux (5g/l) de feuilles et de tiges *d'A.Campestris* (AE), sur les dommages oxydants induits par l'extrait de foie (LT) de poisson toxique *Lagocephalus* chez des rats wistar. AE a été trouvé contenant de grandes quantités de K^+ , Na^+ , Ca^{++} et des capacités antioxydantes significatives mises en évidence par un niveau élevé des polyphénols et les activités de piégeage du DPPH et de l'anion superoxyde. Les rats injectés par LT (1 ml/100 g de poids corporel) pendant 10 jours ont montré (1) une diminution de l'appétit et de la diarrhée résultant en un taux de croissance inférieur à celui des témoins,(2) une diminution des activités ALT et AST dans le sérum suggérant des troubles fonctionnels hépatiques,(3) une augmentation de l'urée et de la créatinine sériques et une diminution du sodium sérique et des concentrations en potassiumse mettant en évidence une insuffisance rénale et(4) un stress oxydatif comme en témoignent l'augmentation des TBARS et l'inhibition des activités SOD, CAT et GSH-Px dans le foie, les reins et le cerveau L'absorption d'AE comme boisson, pendant 20 jours (10 jours de pré-traitement + 10 jours d'expérimentation) n'a pas conduit à des modification significative des paramètres étudiés mais a permis d'éviter tous les troubles induits par LT. Cet effet s'est traduit par l'inhibition de la peroxydation lipidique et l'inhibition de l'acide thiobarbiturique de la substance réactive (TBARS), suivie d'une amélioration de l'antioxydant activités enzymatiques comme la catalase (CAT), la superoxyde dismutase (SOD), et la glutathion peroxydase (GSH-Px), dans les reins, le foie, et le cerveau, ces résultats montrent qu'AE est une source potentielle d'antioxydants (avec actions directes ou indirectes) capables de minimiser les effets indésirables du stress oxydant induit par

lagocephalus extracti.e.lipid peroxidation, protein in denaturation et effets génotoxiques possibles

Une étude complémentaire qui fait par **Sebal et al en 2014** a confirmé l'effet antioxydant d'*A. Campestris* L, l'administration orale de l'extrait aqueux d'*Artemisia Campestris* L, aux deux doses 100 et 400 mg/kg pour les rats souffrant de stress oxydatif gastrique induit par la captation d'aspirine, réduit la lipoperoxydation gastrique et le taux d'hydrogène peroxydase, outre la goutte de fer libre dans l'estomac, éventuellement par moyen de l'amélioration de l'activité antioxydante. Cette étude montrée que l'administration d'aspirine a été accompagné d'un état de stress oxydatif évalué par une augmentation du taux de malondialdéhyde (MDA), une diminution de la teneur en groupes sulfhydryle $-(SH)$ et épuisement des activités enzymatiques antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). L'extrait aqueux d'*A. Campestris* L riche en molécules bioactif comme les polyphénol elle a identifié 11 phénol parmi la acide chlorogénique, acide caféique, isorhamnétine hexoside, acide 3,4-dicaffeoylquinique, acide 3,5 dicaffeoylquinique, Acide 4,5-dicaffeoylquinique, quercétine-3-O-glucuronide, apigénine-7-O-hexoside, apigénine-6-C-glucuronide-8-C-pentoside, kaempférol et apigénine. Ces molécules ont déjà été signalées dans de nombreux extraits de plantes et sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et propriétés gastroprotectrices. Ces molécules sont la source principale de la capacité antioxydante de cette plante en piégeant les radicaux libres, tels sous forme de radical hydroxyle (OH \cdot), qui est la principale cause de lipides peroxydation. En raison de leur capacité antioxydante, *A. Campestris* Il a été démontré que les extraits ont de nombreux effets bénéfiques sur la santé dans vivo et in vitro. Cependant, le kaempférol, l'apigénine ou ses les dérivés identifié dans l'ACAE étaient auparavant présentés comme ayant à la fois des propriétés antiulcéreuses et antioxydantes. Meilleur de notre connaissance, notre rapport est le premier à traiter de l'effet protecteur de l'extrait aqueux d'*A. Campestris* sur lésions induites par l'aspirine dans la muqueuse gastrique du rat a cet égard, il a également été démontré que l'ACAE protège contre la diminution des taux de groupes thiols induite par le traitement à l'aspirine. Plus intéressant encore, dans le présent travail, nous avons montré que *A. Campestris* pré-traitement *Campestris* abolit aigu induit par l'aspirine augmente les taux de H₂O₂, de fer libre et de calcium dans le plasma et muqueuse gastrique, et L'ACAE a exercé des effets opposés sur le fer libre et l'hydrogène peroxyde conduisant à l'homéostasie du calcium. En conclusion, nous suggérons qu'*Artemisia* l'extrait aqueux de *Campestris* possède de puissantes propriétés antioxydantes. Cette gastroprotection offerte par l'ACAE pourrait être liée en partie à la

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

sécurité du groupe sulfhydryle ainsi qu'à son effet opposé sur certains médiateurs intracellulaires tels que le peroxyde d'hydrogène, le fer libre et le calcium.

IV.2.1.1. Activité organo-protectrice

- **Activité hépatoprotectrice**

Les administrations d'extrait aqueux à 5 ml/kg ont permis la récupération de la lésion hépatique induite par le traitement de souris par le tétrachlorure de carbone (CCl₄). Cet effet a été révélé par la diminution dans l'alanine aminotransférase sérique (ALAT) et l'aspartate aminotransférase (AST), en plus de l'élévation de l'activité aniline- OH (**Aniya, et al.,2000**). La même action hépato-protectrice a été observée chez les rats et leur descendance exprimant le stress oxydatif induit par le fenthion, une fois nourri le régime supplémenté avec 5 % *d'A.Campestris L.* pendant 21 jours ; cet effet positif s'explique par la diminution dans les biomarqueurs hépatiques lactate déshydrogénase (LDH), AST et ALT. (**Sefi, et al .,2011**) Ces résultats sont en accord avec une autre étude, qui a rapporté l'effet atténuant sur les enzymes hépatiques LDH, AST, ALT, dans l'addition à la phosphatase alcaline (ALP) après le co-traitement des rats avec du méthidathion et l'extrait aqueux de feuilles *d'A.Campestris L.* Le traitement à l'huile essentielle *d'A.Campestris L.* a inversé l'activité des marqueurs sériques hépatiques : AST, ALT et phosphatase alcaline (ALP), et réduit les lésions des tissus hépatiques, et amélioré significativement les restaurations du tissu hépatique et de l'ADN fragmenté de delta méthrine du rats traité (**Saoudi, et al.,2017**)

- **Activité néphroprotectrice**

Le traitement des rats avec l'extrait de la gocephalus (poisson-globe), pendant dix jours, a provoqué un effet néphrotoxique, qui a été caractérisé par l'élévation de la créatinine sérique et l'urée. Ces paramètres ont été normalisés après administration de l'extrait aqueux de la partie aérienne à 5 mg/ml (**Saoudi, et al., 2010**). De même, l'administration intrapéritonéale de l'extrait aqueux de feuilles à 200 mg/kg, pendant 21 jours aux rats diabétiques induits par l'alloxane, a réussi à abaisser les niveaux élevés de créatinine, d'urée et d'acide urique dans le sérum, et d'augmenter la clairance de la créatinine (**Sefi, et al .,2012**) . La consommation d'un régime alimentaire complété par de la poudre de feuilles fines *d'A.Campestris L.* à 5% (w/w), par des rates gravides traitées avec le pesticide fenthion pendant 14 jours, permettent une récupération du niveau des biomarqueurs rénaux : créatinine et l'urée, perturbée avec le pesticide en fin de traitement. (**Sef, et al.2013**). Une étude similaire menée par Barkat et al. (2015), ont montré que la

coadministration du pesticide méthidathion et de l'extrait aqueux de *A. Campestris* L. à 5 g/l, chez le rat pendant quatre semaines, protège la fonction rénale (**Barkat, et al.,2015**). Ceci s'expliquait par la prévention de l'augmentation du taux rénal biomarqueur, l'urée sans aucun effet sur la créatinine. Les rats co-traités avec de l'huile essentielle d'*A. Campestris* L., par voie intrapéritonéale, à 200 mg/kg p.c. pendant deux semaines, puis recevant de la deltaméthrine pendant la semaine suivante ont montré une réduction significative de la créatinine sérique, de l'urée et de l'acide urique. De plus, l'altération du tissu rénal a été restaurée et l'augmentation de la moyenne du volume glomérulaire, en plus de l'indice de fibrose interstitielle ont été atténués lors de l'administration concomitante de l'huile essentielle et deltaméthrine (**Saoudi, et al., 2017**).

- **Activité neuroprotectrice**

L'administration concomitante quotidienne d'huile essentielle d'*A. Campestris* L (200 mg/kg p.c.) et la deltaméthrine, pendant deux semaines, ont entraîné une diminution du produit de peroxydation lipidique, expliquée par une baisse des niveaux cérébraux de MDA. Sinon, le prétraitement de la deltaméthrine avec l'huile essentielle d'*A. Campestris* L. a favorisé l'effet protecteur sur l'histologie cérébrale, ainsi que l'inverse de la vacuolisation sévère et nécrose neuronale résultant du traitement par deltaméthrine (**Saoudi, et al.,2017**). Le co-traitement avec l'huile essentielle d'*A. Campestris* L. et la deltaméthrine pour les rats pendant deux semaines, a provoqué une augmentation de l'acétylcholinestérase sérique (**Saoudi, et al.,2017**), ce qui peut être considéré comme une propriété neuroprotectrice de l'huile essentielle contre l'effet toxique induit par l'inhibition de la synthèse de l'AChE, principalement causée par la deltaméthrine (**Szegletes, et al .,1995**). Paradoxalement, une autre étude a rapporté l'efficacité de l'huile essentielle d'*A. Campestris* comme inhibiteur de cette enzyme. En effet, l'inhibition de L'AChE peut être explorée pharmacologiquement pour traiter certaines maladies neurodégénératives, principalement, comme la maladie d'Alzheimer et la démence. (**Colovic, et al., 2013**).

IV.2.2. L'activité anti-inflammatoire

L'extrait aqueux d'*A. Campestris* L. a été largement étudié pour son effet anti-inflammatoire in vivo. Par conséquent, il a été démontré que l'administration de l'huile essentielle d'*A. Campestris* L à souris injectées par voie sous-cutanée avec le venin d'ophidian cerastes sur la patte droite, neutralise l'effet inflammatoire dû à l'envenimation, et donc la réduction de l'effet oedémateux sur la patte. (**Jaouadi,et al.,2016**) L'extrait aqueux d'*A. Campestris* L.

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

administré aux rats à la dose 200 mg/kg, a inversé l'effet inflammatoire provoqué par injection sous-cutané de l'additif alimentaire carraghénane, cette action antinflammatoire a été exprimée en réduisant le volume de l'œdème, en diminuant le nombre de cellules inflammatoires, et restaurer les tissus endommagés par œdème (Ghissi, et al.,2016). L'extrait éthanolique de feuilles d'*A. Campestris* L à 150 et 300 mg/kg, atténué l'œdème local produit dès la deuxième heure après l'injection sous-plantaire de formaldéhyde dans la patte arrière droite des rats. Pourtant, la dose de 300 mg/kg de l'extrait a exprimé un anti-œdème plus élevé par rapport à l'acide acétylsalicylique standard (Medila, et al.,2017). Considérant que l'extrait aqueux d'*A. Campestris* L seul et en combinaison avec l'extrait aqueux d'*A. herba alba*, a déclenché une baisse significative de l'œdème de la patte de souris induit par l'injection intraplantaire de formol. Le pourcentage maximal de l'effet anti-oedématisé était en moyenne de 30,34% et 39,34 %, respectivement pour l'unique (à 400 mg/kg) et combiné administration orale (à 200 mg/kg) de l'extrait aqueux d'*A. Campestris* L. (Kadi, et al.,2017) . De plus, les flavones 2',4',5,7-tétrahydroxy-5',6-diméthoxyflavone et le cirsiolol extrait des feuilles d'*A. Campestris* L exprimait la plus forte activité anti-inflammatoire, révélée par des activité anti-lipoxygénase de 46,85 et 48,51 %, qui sont considérées de moindre importance comparées à l'acide nordihydroguaiarétique (NDGA) (Metoui, et al.,2017).

IV.2.3. L'Activité antivenin

Un modèle expérimental d'envenimation a été établi par l'injection sous-cutanée sur les rats, du venin de scorpion *Buthus occitanus tunetanus*. Ensuite, une injection intrapéritonéale de la solution aqueuse extrait de feuilles d'*A. Campestris* L à 200 mg/ml ayant précédé l'induction d'envenimation, a produit une diminution de la pression moyenne artérielle, estimée à 30 % chez les rates gravides et à 10 % chez les rates non gravides et ceux accompagnés d'une baisse de l'hypertrophie pulmonaire. De plus, la co-administration de l'extrait et du venin a été marqué par l'absence de toute montée hypertensive chez les femelles enceintes et les rats non gravides (Ben-Nasr, et al.,2014). D'autre part, l'envenimation induite par le venin d'*Androctonus australis garzonii* du scorpion a été neutralisé en réponse au traitement à l'extrait éthanolique, tandis que le traitement avec l'extrait chloroformique de feuilles a empêché l'envenimation provoquée par *Macrovipera lebetina viper* sur des souris.] (Memmi, et al., 2007). L'effet antivenin de l'huile essentielle d'*A. Campestris* L. a été davantage étudié contre le venin de deux espèces de serpents : *Cerastes* et *Macrovipera lebetina*. Cet effet antivenin de l'huile essentielle a été mis en évidence par sa capacité à déclencher une action

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

anticytotoxique, outre sa capacité pour inhiber la protéolyse et engendrer un effet anti-hémolytique indirect, via l'inhibition de l'activité de la phospholipase A2 résultant du processus d'envenimation. De plus, l'effet antivenimeux de cette huile a été mis en évidence in vivo, par la réduction de la létalité des souris après traitement avec les venins, et l'atténuation de l'effet inflammatoire suite à la réduction de la réaction œdémateuse au niveau des membres postérieurs des souris subissant l'injection sous-cutanée des deux venins. De plus, la préincubation des cellules épithéliales capillaires humaines (HMEC-1) avec l'huile essentielle d'*A.campestris* L. a empêché l'action cytotoxique du venin ophidien *Cerastes* et a donné lieu à un effet protecteur anticytotoxique, avec un pourcentage de 99% contre leur mortalité à une dose de 2,5 μ M (Jaouadi, et al.,2016).

IV.2.4. L'Activité antiulcéreuse

Artemisia campestris L. a été largement utilisée en médecine alternative pour traiter les maladies du système digestif, en particulier les troubles gastro-œsophagiens. Dans le travail réalisé par Mohamed-Amine Jabri et ses collègues, l'effet protecteur putatif de l'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* (ACAE) contre l'œsophagite induite par le reflux gastro-œsophagien (RGO) chez le rat a été étudié. L'œsophagite expérimentale a été induite par la ligature du pylore ainsi que la jonction entre le préestomac et le corps. Les résultats tout d'abord ont trouvé que l'administration d'ACAE à 100, 200 et 400 mg/kg, p.c., p.o. a considérablement protégé les lésions macroscopiques et histologiques induites par le RGO dans le tissu de l'œsophage. L'extrait a également contrecarré la lipoperoxydation de l'œsophage induite par le RGO, restauré l'épuisement des activités enzymatiques antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) ainsi que les niveaux de groupes thiol. De plus, les résultats ont montré que le RGO aigu provoquait une augmentation des taux de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), de fer libre et de calcium dans la muqueuse de l'œsophage, tandis que le traitement par ACAE inversait toutes les perturbations des médiateurs intracellulaires induites par le RGO. En conclusion, nous avons suggéré que l'ACAE avait de puissants effets protecteurs contre l'œsophagite en raison, en partie, de ses propriétés antiulcéreuses ainsi que de son effet opposé sur certains médiateurs intracellulaires (Jabria et al ; 2018).

IV.2.5. Activité antibactérienne

Récemment, de nombreuses études ont été menées dans le but de mettre en évidence la capacité des nombreux extraits d'*A.Campestris* pour empêcher la croissance de souches

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

bactériennes. L'extrait méthanolique semble exercer un effet antibactérien remarquable sur de nombreuses souches bactériennes et avec diverses zones d'inhibition. **El Abed et al. (2014) et Naili et al. (2010)** ont montré un effet antibactérien significatif de l'extrait méthanolique de feuilles d'*A. Campestris* contre une large gamme de bactéries telles que *Escherichia coli* (17 et 10 mm), *Bacillus cereus* (25 mm), *Bacillus subtilis* (21 à 32 mm), *Staphylococcus aureus* (20 et 27 mm), *Salmonella enteritidis* et *Salmonella typhi* (13 et 8 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (9 mm) par rapport aux effets du chloramphénicol (20 -33 mm), de la streptomycine (12- 22 mm) et ceftazidime (12-27 mm). De même, l'effet examiné de deux types des extraits méthanoliques de la partie aérienne contre sept souches de bactéries ; la meilleure action était obtenue contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec des zones d'inhibition allant de 18 à 21 mm ; ces effets semblent être supérieurs à ceux obtenus avec l'érythromycine (20-20,5 mm) et tylosine Tartarat (17-18mm). Au contraire, d'autres auteurs ont rapporté peu ou pas d'effet antibactérien de l'extrait méthanolique ou des composés isolés de l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*A.campestris* (**Baykan Erel et al., 2012 ; Megdiche-Ksouri et al.,2015 ; Tharib et al. , 1983**) par rapport aux antibiotiques standards. De plus, la fraction d'acétate d'éthyle de la partie aérienne présentait des niveaux significatifs d'inhibition contre *Bacillus thuringiensis* (18,3 mm), *Listeria monocytogene* (13,5 mm), *Escherichia coli* (13 mm), *Aeromonas hydrophila* (12 mm), *Vibrio parahaemolyticus* (9 mm), *Staphylococcus aureus* (9 mm), *Vibrio alginolyticus* (10 mm), *Vibrio cholérac* (11 mm) et *Vibrio vulnificus* (10,5 mm), mais cet effet est considéré comme faible par rapport aux étalons examinés : gentamicine (15-46 mm) et chloramphénicol (8-30 mm) (Megdiche-Ksouri et al., 2015). De plus, l'huile essentielle présentait des variations des modèles d'inhibition avec *Escherichia coli* (18-20 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (18 mm) et *Staphylococcus aureus* (10,5-14 mm), les résultats semblent être proches de celles retrouvées avec les antibiotiques testés : ceftazidine et gentamicine (14-22 mm) (**Akrout et al., 2010 ; 2007 ; Baykan Erel et al., 2012 ; Ghorab et al. , 2013**). Cependant, le l'acétone et les extraits aqueux possédaient une activité relativement faible vis-à-vis de la micro-organismes : *Staphylococcus aureus* (7,7-13 mm), *Vibrio parahaemolyticus* (10 mm),*Staphylococcus epidermidis* (10 mm), *Staphylococcus saprophiticus* (10 mm), *Listeria monocytogene* (8,5 mm), *Escherichia coli* (7 mm) et *Salmonella typhimirium* (7 mm),par rapport aux antibiotiques : oxacilline, tétracycline, chloramphénicol, streptomycine,et la gentamicine (**Ben Sassi et al., 2007 ; El Abed et al., 2014**).

IV.2.6. Activité insecticide

Dib et al, 2016 ont découvert dans leur étude de recherche que de nos jours, la recherche de pesticides botaniques suscite un grand intérêt, en raison de leurs faibles effets toxiques sur l'environnement et l'homme. À cet égard, d'autres recherches sur l'activité insecticide d'*A. Campestris* L a été entreprise. Il a été constaté que l'extrait méthanolique de sa tige a montré l'activité larvicide la plus élevée, avec 100% mortalité de *Culex quinquefasciatus* (larves de moustiques) et la valeur estimative de la DL50 était d'environ 23 parties par million (**Pavela, 2009**). Cependant, la mortalité de larves induite par l'extrait éthanolique était assez faible, et n'a tué que 33,6% des Larves de moustiques *Culex pipiens* L (**Masotti et al., 2012**). Cependant, la durée de vie des insectes *Spodoptera littoralis* et *Bruchus obtectus* a modérément répondu au traitement à l'huile essentielle, avec une inhibition moyenne de 50% (**Akrout et al., 2007**). Une autre étude de recherche a indiqué une efficacité larvicide différente, représenté principalement par l'effet répulsif sur les larves de *Tribolium castaneum* après 2-24 heures d'exposition aux extraits d'hexane et d'acétone de la partie aérienne de la plante (**Pascual-Villalobos et Robledo, 1998**).

IV.2.7. Activité antidiabétique

Les effets des extraits aqueux de feuilles d'*A. Campestris* ont été examinés sur l'état glycémique, le profil lipidique, la peroxydation lipidique (MDA), la teneur en carbonyle des protéines (PCO), les produits protéiques d'oxydation avancée (AOPP), les activités des antioxydants enzymatiques chez les rats diabétiques induits par l'alloxane. L'administration d'*A. Campestris* à des rats diabétiques à une dose de 200 mg/kg pc a entraîné une réduction significative des activités de glycémie, de TC, TG, LDL, pancréas LPO, PCO et AOPP, CAT et GPx associée à une élévation du GSH contenu et activité SOD en comparaison avec le groupe diabétique (**SEFI et al ; 2010**).

IV.2.7. Activité antitumorale

Les effets anti-mutagénicité sont potentiellement utiles comme traitement antitumoral ; Le potentiel antimutagène de l'huile essentielle de la partie aérienne d'*A. Campestris* a été évalué sur deux souches de *Salmonella typhimurium* après induction de la mutagénicité provoquée par l'incorporation du cancérigène benzo-[a]-pyrène. En conséquence, l'inhibition des pourcentages 87,3 % et 73,2 % ont été notés, respectivement en présence du Systèmes de dosage *S. typhimurium* TA97 et *S. typhimurium* TA98 à une dose de 100 µg d'huile/plaque (**Aicha et al., 2008**). Malgré toutes les études avancées de la recherche sur le cancer, les

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

espèces végétales sont considérées comme sources prometteuses de nouveaux agents anticancéreux à faible toxicité contre les cellules non tumorales. De nombreuses recherches ont rapporté l'effet cytotoxique d'extraits d'*A. campestris* L. contre plusieurs types de cellules cancéreuses en utilisant le test colorimétrique MTT (3-(4,5-bromure de méthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium), pour évaluer la viabilité cellulaire.²⁸ Comparée à une croissance témoin négative, l'huile essentielle de la partie aérienne d'*A. campestris* L à 100 g/ml présentait 80 % d'inhibition de la HT-29 humaine lignée cellulaire d'adénocarcinome, suivie de l'infusion et de l'extrait hydro-éthanolique qui ont montré respectivement 87 % et 43 % de la croissance témoin des cellules HT-29 (Akrouf et al., 2011), tandis que les extraits hexaniques et chloroformiques ont démontré un faible pouvoir anticancéreux contre l'adénocarcinome du col de l'utérus (cellules Hela) avec le correspondant pourcentage d'inhibition 26% et 28%. L'extrait de chloroforme a montré moins d'effet antiprolifératif prononcé contre les cellules A431 (carcinome épidermoïde cutané) avec 19% d'inhibition, de même, l'extrait méthanolique, inhibé seul, 15% du MCF7 cellules de carcinome mammaire (Réthy et al., 2007). Un important cytotoxique dose-réponse effet a été détecté avec les doses allant de 25 à 3200 µg/ml de l'extrait éthanolique sur les cellules Hep-2 (carcinome hépatocytaire du Caucase humain) et HepG-2 (carcinome du larynx du Caucase humain) (Vahdati-Mashhadian et al., 2009). Néanmoins, la gamme de concentration de 25 à 1000 µg/ml de l'extrait méthanolique testé sur MCF7 et les lignées cellulaires cancéreuses A549 et sur les lignées cellulaires normales A7R5 et 293T ont exprimé un effet cytotoxique très faible (Erel et al., 2011).

IV.2.8. Activité antivirale

Le genre *Artemisia* spp. est bien connu pour ses propriétés anti-infectieuses et sa haute teneur en composés anti-infectieux, comme l'absinthe douce bien connue (*Artemisia annua* L.). Une autre espèce d'*Artemisia*, *Artemisia campestris* subsp. *glutinosa* (Besser) Batt., absinthe des champs, a été traditionnellement utilisée comme plante médicinale dans la région méditerranéenne. L'objectif de cette étude faite par L. Apaza Ticona en 2020 est d'étudier l'activité anti-VIH de l'absinthe des champs, d'identifier les composés responsables de cette activité et leur structure et mécanisme d'action. L'activité antivirale de composés et d'extraits isolés a été évaluée dans les infections à VIH-1 de cellules lymphoblastoïdes. Nous avons également évalué le mécanisme d'action de composés isolés. L'entrée virale a été étudiée comparant l'effet inhibiteur de composés isolés sur le VIH-1 de type sauvage et le VSV pseudotypé VIH-1. À évaluer l'effet transcriptionnel viral, des plasmides codant pour les

Les travaux antérieurs de quelques auteurs sur l'espèce sélectionnée

gènes rapporteurs de la luciférase sous le contrôle de l'ensemble génome des facteurs de transcription VIH-1 ou NF- κ B ou Sp1 ont été transfectés en présence des composés sous-évaluation. Enfin, l'activité antioxydante a été évaluée par quantification du glutathion réduit et total dans les cultures cellulaires. Les extraits éthanoliques et aqueux d'*Artemisia campestris* subsp. *glutinosa* (Besser) Batt. subsp. *Glutineux* présentait une activité anti-VIH in vitro, bien que l'extrait éthanolique soit plus puissant (IC₅₀ 14,62 g/mL). Le fractionnement guidé d'extrait éthanolique conduit à l'isolement et à la caractérisation de deux terpènes, la dansine et canrénone, et quatre flavonoïdes, 6, 2', 4'-triméthoxyflavone, acérosine, cardamonine et xanthomicrol. Tous les composés isolés ont inhibé la réplication du VIH-1 in vitro avec des valeurs IC₅₀ comprises entre la nanomolaire moyenne et la faible plage micromolaire. Leur mécanisme d'action anti-VIH est dû au blocage de l'entrée et/ou à l'inhibition de la transcription virale sans corrélation avec l'activité antioxydante, par interférence avec les facteurs de transcription NF- κ B et Sp1, qui sont des cibles actuellement non atteintes par la thérapie antirétrovirale. Nous décrivons ici l'activité anti-VIH de l'absinthe des champs, *Artemisia campestris* subsp. *Glutineux* (Besser) Batt., et l'isolement et l'étude du mécanisme d'action de deux terpènes et quatre flavonoïdes, responsable, au moins en partie, de son activité, par l'inhibition de deux cibles cellulaires différentes affectant le Cycle de réplication du VIH. L'activité de ces composés dans des cibles cellulaires pourrait expliquer pourquoi les extraits de plantes peuvent être utilisés dans le traitement de différentes maladies. Par ailleurs, la présence de plusieurs composés à double et différent mécanismes d'action pourrait s'avérer utiles dans le traitement de l'infection par le VIH-1, car il pourrait aider à surmonter les résistances et simplifier le traitement médicamenteux. Ce travail est une étape supplémentaire dans la compréhension de l'activité anti-infectieuse d'espèces d'absinthe et leur utilisation dans le traitement des maladies infectieuses.

Conclusion générale

Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

L'espèce végétale sélectionnée appartient à la famille des Astéracées, cette famille est très riche que ce soit en genre ou en espèce telle que le genre *d'Artemisia Campestris* L. C'est la famille la plus étudiée grâce à sa richesse et sa variété en métabolites secondaires et leurs propriétés biologiques qui sont très nombreux tels que les propriétés antimicrobienne, antivirale, antifongique, antiinflammatoire, antioxydant qui joue un rôle très important dans la phytothérapie pour traiter plusieurs maladies ce qui a intéressé les chercheurs de plusieurs laboratoires phytochimique et pharmacologique

L'ensemble des travaux réalisés sur le screening phytochimique de la plante *A. campestris* a révélé que la partie aérienne *d'ArtemisiaCampestris* L. est riche en métabolites secondaires, tel que : les huiles essentielles, les flavonoïdes, les tanins ...ect

L'analyse chimique des huiles essentielles *d'A.campestris* par les méthodes chromatographique et spectroscopique a montré que cette plante possédant une diversité structurelle très importante, donc ils sont doués d'activités biologiques importantes tel que : l'activité antioxydante, activité antibactérienne, antiinflammatoire et antiviralect.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux dans les extraits analysés de la plante montre qu'elle est riche par ces métabolites ce qui leur confère de nombreuses activités biologiques, dont les plus importantes sont les activités anti-oxydantes, antibactériennes, ...etc.

En conclusion, ces résultats justifient en partie l'utilisation de *d'A.campestris* en médecine traditionnelle. Pour mieux comprendre la phytochimie de cette plante, il est donc impératif que des études analytiques structurales soient entreprises et approfondies afin de mettre en évidence les principaux principes actifs qui permettraient de résoudre de nombreux problèmes de santé humaine.

Références

Bibliographie

Liste des références

- **Abad M.J., Bedoya L.M., Apaza L. and Bermejo P. 2012:** The *Artemisia L.* Genus: A review of bioactive essential oil. *Molecule*; 17: 2542-2566.
- **Abe, E., Delye, S.G., Alvarez, J.C. (2010).** Liquid-liquid extraction : theory, applications and difficulties. *Annales de Toxicologie Analytique.*, 22 (2), 51-59.
- **Abdel-Hameed, E.S. (2009).** Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. *Food Chem*, 114(4),1271-1277
- **Aicha N, Ines S, Mohamed BS, Ines B, Soumaya K, Kamel G, et al(2008).** Chemical composition, mutagenic and antimutagenic activities of essential oils from (Tunisian) *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba*. *J Essent Oil Res* 2008;20:471-477.
- **Aidi Wannas W., Mhamdi B., Sriti J., Ben Jmnia M., Ouchikh O., Hamdaoni G., Kchouk M.E. and Marzouk B. (2010).** Antioxidant Activities of the Essential Oils and Methanol Extracts from Myrtle (*Myrtus communis* var. *italica*) Leaf, Stem and Flower. *Food Chem Toxicol.* 48 (5): 1362-1370
- **Akrouit A., Chemli R., Simmonds M., Kite G., Hammami M., Chreif I. (2003).** Seasonal Variation of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L, *Journal of Essential Oil Research.* P :333-336.
- **Akrouit A., Chemli R.C., Chrief., and Hammami M. (2001).** Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *J. Flavour Fragr.* 16: 337–339
- **Akrouit A, El Jani H, Amouri S, Neffati M.2010.** Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba alba* Asso, & *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. growing wild in the southern of Tunisia. *Rec Res Sci Tech.* 2010;2(1):29–39.
- **Akrouit A., Gonzalez L., Eljani H., Madrid P (2011).**, Antioxidants and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* for southern Tunisia, food and chemical toxicology, vol 49, n°2, p-p342-347
- **Akrouit A, Neffati M, Chemli R, Aouni M, Jerraya R, Dammak M, et al. (2007).** Composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle *d'Artemisia Campestris* L. *Revue des Régions Arides* 2007 :231-240.
- **Al-Snafi, I, A. (2016).** Antiparasitic effects of medicinal plants (part 1): a review. *IOSR journal of pharmacy.* 6. 51-66
- **Al-Snafi.A. (2015).** The pharmacological importance of *artemisia campestris*- a review. *Asian journal of pharmaceutical research.* Vol 5, Issue 2, 88-92.
- **Aniya Y., Shimabukuro M., Shimoji M., Kohatsu M., Gyamfi M., Miyagi C., Kuni.D., Takayama F., Eagashira T (2000).**, antioxidants and hepatoprotective action of the medicinal herb *Artemisia campestris* from the Okinawa islands. *J. Bio. Pharm. Bull*, vol 23 n°3, p-p309-312.
- **Apaza T., Bermejo P., Guerra J., Abad M.J., Beltràn M., Martín Làzaro R., Alcami J., Bedoya L.M (2020),** Ethanolic Extract of *Artemisia campestris*. Subsp, *Glutinosa*

- (Besser) Batt. Inhibits HIV-1 replication in vitro through the activity of terpenes and flavonoids on viral entry and **NF- κ B** pathway, J. Ethnopharmacol. vol 5 ,263 :113163
- **Avissar N., Whitin J.C., and Allen P.Z. (1989).** Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase. J. Biol. Chem. 2: 15850-15855
 - **Badraoui, R., Nasr, H. B., Louati, R., Ellouze, F., and Rebai, T. (2012).** Nephrotoxic effect of tetradifon in rats: a biochemical and histomorphometric study. Exp. Toxicol. Pathol. 64, 645-65
 - **Bakhchiche B., Gherib A., Aazza S., Gago C., Miguel M. G., (2013).** Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. Ind. Crops., 46, 85-96
 - **Bakchiche B., Gherib A. Smail A., Maatallah M., Miguel M., (2014).** Chemical composition of essential oils of *Artemisia campestris* and *Juniperus phoenicea* from Algeria. Inter. J. Innov. App. Stud., 9(4), 1434-1436.
 - **Bakchiche B, Gherib A.** 2014. Activités antioxydantes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d'Algérie [Antioxidant activities of polyphenol extracts from medicinal plants in Algerian traditional pharmacopoeia]. Int J Innov Appl Stud 2014; 9:167-172.
 - **Baykan Erel Ş, Reznicek G, Şenol SG, Karabay Yavaşoğlu NÜ, Konyalıoğlu S, Zeybek AU.** 2012. Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia L.* species from western Anatolia. Turk J Biol. 2012;36(1):75–84
 - **BELAKHDAR, J (1997).** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Idis PRESS (Ed). Paris, p. 764.
 - **Belhattab R., Boudjouref M., Barroso J.G., Pedro L.P., Figueirido A.C (2011).** Essential Oil composition from *Artemisia campestris* Grown in Algeria. Adv. Environ. Biology. 5(2), 429-432.
 - **Bellomaria B, Valentini G, Biondi E.** 2001. Chemotaxonomy of *Artemisia variabilis* Ten. and *A. campestris* L. ssp. *glutinosa* (Ten.) Briq. et Cavill. (Asteraceae) from Italy. J Essent Oil Res. 2001;13(2):90–4.
 - **BENCHELAH, A.-C., BOUZIANE, H., et MAKKA, M.** Fleurs du Sahara, arbres et arbustes, voyage au cœur de leurs usages avec les Touaregs du Tassili.
 - **BENBROOK M., 2005.** Accroître la teneur antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Ed. The organic center: 6-8.
 - **Ben-Nasr H., Hammami T.S., Mahmoudi L., Zeghal K. .2014,** Aqueous leaves extract of *Artemisia campestris* inhibition of the scorpion venom induced hypertension, J. Med. Plant Res. 8 (2014) 538–542.
 - **Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F., and Anounil M (2007),** Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. J. pharmaco. Bio. 45, n°5, p-p 421-428.
 - **Beta, T; Nam, S; Dexter, J.E; Sapirstein, H.D 2005.** Phenolic content and antioxidant activity of pearled ulreat and roller – milled fractions, Creal Chem: 2005, pp 390 -393
 - **Boizot, N ; Charpentier, J.** 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, INRA, 2006, pp 79-82.

- **Boudjouref Mourad, Belhattab Rachid, Bouteghrine Sihem.(2018).** Antioxidant Activity and Phenolic Content of *Artemisia Campestris* from Two Regions of Algeria, *World Journal of Environmental Biosciences*.P:62-63.
- **Boudjouref Mourad1.2011.** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. chez l'ovin Diplome de Magister.En *Biochimie Appliqué.* . Université Ferhat Abbas, Sétif, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.Département de Biochimie Appliqué.P ;58.
- **BOUDJELAL, Amel, HENCHIRI, Cherifa, SARI, Madani, et al.**Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. *Journal of ethnopharmacology*, 2013, vol. 148, no 2, p. 395-402
- **Bougatef A, Hajji M, Balti R, Lassoued I, Triki-Ellouz Y, Nasri M (2009).** Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food chemistry*, 114(4), 1198-1205).
- **Boulanouar B, Abdelaziz G, Aazza S, Gago C, Miguel MG.2013.** Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Ind Crops Prod.*2013; 46:85–96.
- **Boulanouar Bakchiche, Abdelaziz Gherib, Mohamed Maatallah, and M. G. Miguel.2014.** Chemical composition of essential oils of *Artemisia campestris* and *Juniperus phoenicea* from Algeria.*International Journal of Innovation and Applied Studies*.Vol 9, n:4, pp:1434-1436.
- **Bouras Hind et Deneche lina nourhan .2020.**Effet antidiabétiques d'une plante médicinale du genre *Rubus ulmifolius schoot* chez l'ovin Diplome de Magister.En *Biochimie Appliqué.* . Université Mentouri Constantine.Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.Département de Biochimie Appliqué.p49.
- **BOURGOU.S, R. SERAIRI BEJI1,2, F. MEDINI1, R. KSOURI1., (2016).** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*, *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, vol 28(12), page1649-1655.
- **Boyle W (1955)** Spices and essential oils as preservatives. *Am. Perfumer Essent. Oil Rev.* 66: 25-28.
- **Braga P. C., Dal Sasso M., Culici M., GaSastri L., Marceca M. X. and Guffanti E. E. (2006).** Antioxidant Potential of Thymol Determined by Chemiluminescence Inhibition in Human Neutrophils and Cell-Free Systems. *Pharmacology.* 76 (2): 61-68.
- **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
- **Bruneton J., 2009.** Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4ème éd., revue et augmentée, Tec et Doc. éditions médicales internationales, Paris : 1288
- **Burt S (2004)** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94: 223-253.
- **Cai, Y., Sun, M., &Corke, H. (2003).**Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(8), 2288-2294.
- **Calsamiglia S.,Buquet M.,Cardozo P.W.,Castillejos L.,Ferret A.(2007).**Invited review.Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation .*Journal of Dairy Science*,90; 2580-2595.

- **Caratini R. (1971).** Bordasen cyclopedie.Ed Bodas.Belgique.23: 137-195
- **Causse C., 2005.** Les secrets de santé des antioxydants, Alpen Edition s.a.m. 95p.
- **Chalchat J-C, Cabassu P, Petrovic S, Maksimovic Z, Gorunovic M.2003.** Composition of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Serbia. *J Essent Oil Res.* 2003;15(4):251–53.
- **Cillard J. et Cillard P. 2006.** Mécanises de la peroxydation lipidique et des antioxydations.*OCL*, volume13, numéro 1, 24-29.
- **Colovic M.B., Krstic D.Z., Lazarevic-Pasti T.D., Bondzic A.M., Vasic V.M. .2013.** Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology, *Curr.Neuropharmacol.* 11 (2013) 315–335.
- **Combrinck S.,Du Plooy G.W.,Meerindle R.I.,Botha B.M.(2007):**Morphology and Histochemistry of the Glandular Trichomes of *Lippia scaberrim* (Verbenaceae).*Annals of botany.*99(6): 1111-1119.
- **Cuendet M., 1999.** Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « *Fagraeablumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : « *Bartsiaalpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuriaprocumbens* » (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat, p 24.
- **Curtay J.-P. et Robin J.M. 2000.** Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie Info.*
- **Daniel M. (2006).** Medicinal Plants: chemistry and properties, Ed: Sceince publishers. P: 59-77.
- **David A., Hervé M. (1994).** Flore de la suisse. Ed Du Griffon Neuchâtel. Suisse. 428p.
- **Del Corso L, Pastine F, Protti MA, Romanelli AM, Moruzzo D, Ruocco L, et al (2000).** Blood zinc, copper and magnesium in aging. A study in healthy home-living elderly. *Panminerva Med.* déc 2000;42(4):273-7.
- **Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., et Capasso F. (1999).** Flavonoids: old and newaspectsof a class of natural therapeutic drugs. *Life. Sci.* **65 (4):** 337-53.
- **Dib I., El-Alaoui F. E (2019),,** *Artemisia campestris*. L: review on taxonomical aspects, cytogeography, biological acivities and bioactive compounds., *Biomedicine and pharmacotherapy.* vol 109, p-p1884-1906.
- **Djidjel S, Khennouf S.2014.** Radical scavenging, reducing power, lipid peroxidation inhibition and chelating properties of extracts from *Artemisia campestris* L. Aerial parts. *Annu res rev biol* 2014; 4:1691-1702.
- **Dob, D. Dahmane, T. Berramdane, and C. Chelghoum.2005.** Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L. from Algeria. *Pharmaceutical Biology.*2005, Vol. 43, No. 6, pp. 512–514.
- **Dorman HJ, Deans SG (2000)** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88: 308-316.
- **Duval L. (2012)** Les huiles essentielles à l'officine. Thèse de Doctorat, Ufr de medecine et de pharmacie de ROUEN.
- **Edris A. E. (2007).** Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and their Individual Volatile Constituents. A Review, *Phytother Res.* 21 (4): 308-323.

- **El Abed N, Guesmi F, Mejri M, Marzouki M, Ben Hadj Ahmed S.2014.** Phytochemical screening and assessment of antioxidant, antibacterial and cytotoxicity activities of five Tunisian medicinal plants. *Int J Pharm Res Biosci* 2014; 3:770-789.
- **El-Mokasabi F.M., (2014).** Floristic composition and traditional uses of plant species at Wadi .Alkuf, Al-jabal Al-Akhder, Libya.*Am Eurasian J Agric. Environ.Sci.*, 14, 685-697.
- **Emery S.M.,Rudgers J.A.,(2010).**Ecological assessment of dune restoration in the Great Lakes region.*Restor.Ecol.*, 18, 184-194.
- **ErelŞB,ŞenolSG,KöseFA,BallarP(2011).** In vitro cytotoxic properties of six *Artemisia* L.species. *Turk J Pharm Sci* 2011;8:247-252.
- **Fakchich J. et Elachouri M. (2014).** Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments.*J. Ethnopharmacol.*,154, 76-87
- **Falleh H., KsouriR., ChaiebK., Karray-bouraouiN., TrabelsIN.,BOULAABA M et AbdellyC, (2008).**Phenolic composition of *Cynaracardunculus*L. Organs, and their biological activities, *Compt. Rend. Biol*, vol: 331. 372-379 p
- **Fekih N. (2015).** Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *Pinus* poussant en Algérie [thèse]. Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaid. *Fragr. J.* 19: 91-98.
- **Ferchichi L., Merza J., Landreau A., Le Ray A.M., Legseir B., Seraphin D., and Richomme P. (2006).** Occurrence of isocoumarinic and phenolic derivatives in *Artemisia campestris* L. subsp. *campestris*. *Biochem Syst. and Ecol.* 34: 829-832.
- **Fisher K, Phillips C (2009)** In vitro inhibition of vancomycin-susceptible and vancomycinresistant *Enterococcus faecium* and *E. faecalis* in the presence of citrus essential oils. *Br. J. Biomed. Sci.* 66: 180-185.
- **Gervaise Y. (2004).** Analyse des antioxydants naturels dans les matières premières et les produits. *Polyphénols*. Paris. 33 p.
- **Ghliissi Z., Sayari N., Kallel R., Bougatef A., Sahnoun Z. .2016.** Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory and wound healing effects of *Artemisia campestris* aqueous extract in rat, *Biomed. Pharmacother.* 84 (2016) 115–122.
- **Ghorab H, Laggoune S, Kabouche A, Semra Z, Kabouche Z (2013).** Essentialoilcompositionand antibacterial activity of *Artemisia campestris* L. from Khenchela (Algeria). *Pharm Lett* 2013;5:189-192.
- **Giulia Di Carlo, Nicola Mascolo, Angelo A. Izzo, and FrancescoCapasso. (1999).** Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci.* **65 (4):** 337-353.
- **Gomez G (2006).**Advances in the analysis of phenolics compounds in products derived from bees. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, (41) :1220-1234
- **GONZALEZ-TRUJANO et al (2007).** Evaluation of antiociceptive effet.
- **GUENTER E (1975).** The essential oils Vol II, III, IV, V, VI, and D. Van No Strand Ed. New York USA.
- **Haleng J., Pincemail J., Defraigne .J.O., Charlier C., Chapelle J.P. ,2007,** oxidativestress,*ReveuMedicale* ,vol10 ,p 628-638.

- **Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., Okuda, T., 1988.** Two new flavonoids and other constituents in licorice root their relative astringency and radical scavenging effect. *Chem. Pharm. Bull.* 36, 2090–2097.
- **Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol, Therapeut*, 96(2-3), 67– 202.
- **Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F, 2004.** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothér.* 2004, Vol. 1; pp 3 – 6.
- **Hertwig, B., Streb, P., Feierabend, J., 1992.** Light dependence of catalase synthesis and degradation in leaves and the influence of interfering stress conditions. *Plant Physiol* 100, 1547-1553.
- **Houmani Z., Skoula M. (2007).** Comparaison des profits chimiques des huiles essentielles d'espèces d'*Artemisia* spontanées en Algérie *Revue des régions arides*, pp. 608-611.
- **Houicher A, Hechachna H, Özoğul F. 2015.** In vitro determination of the antifungal activity of *Artemisia campestris* essential oil from Algeria. *Int J Food Prop.* 2015;19(8):1749–1756.
- **Hurabielle, M., Eberle, J., Paris, M. (1982).** Etude des flavonoïdes d'*Artemisia campestris* sous-espèce *Glutinosa* [Flavonoids of *Artemisia campestris*, ssp *glutinosa* *Planta Med.* 46. P 124–125
- **Hüsni can başer K., Buchbauer G. (2010).** Handbook of Essential Oils: Science, Technology and Application. Ed: CRC Press, Taylor & Francis. P: 121
- **Ikram Dib, Marie-Laure Fauconnier, Marianne Sindic, Fatima Belmekki, Asmae Assaidi, Mohamed Berrabah, Hassane Mekhfi, Mohammed Aziz, Abdelkhaleq Legssyer, Mohamed Bnouham, Abderrahim Ziyat. 2017.** Chemical composition, vasorelaxant, and antiplatelet effects of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Oriental Morocco. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 17:82. P:2-15.
- **Ikram Dib Luc Angenot Atika Mihamou Abderrahim, Ziyat Monique Tits. 2016.** *Artemisia campestris* L.: Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological review, pp:20.
- **Jaouadi, Z. Abdelkafi-Koubaa, S. Riabi-Ayari, I. Hassen, M.T. Yakoubi, M.E. Ayeb, M.E. Gazzah, N. Marrakchi. 2016.** Anti-hemolytic and anti-cytotoxic effect of two artemisia species (*A. campestris* and *A. herba-alba*) essential oil against snake venom, *Int. J. Agric. Biol.* 18 (2016) 805–812.
- **Jerkovic J., Mastelic M. Milos., Juteau F., Masotti V and Viano J. (2003).** Chemical variability of *Artemisia vulgaris* L. essential oils originated from the Mediterranean area of France and Croatia *Flavour. Fragr. J.* (18): 436–440
- **Joa O.M., Vasconcelos., Artur M.S.S and Jose A.S.C. (1998).** Chromones and flavones from *Artemisia campestris* Subsp *Maritima*. *Phytochemistry.* 49 (5): 1421-1424
- **Jomova K, Valko M (2011).** Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology.* 10 mai 2011;283(2-3):65-87
- **Juteau F., Masotti V., Bessière J-M., Viano J. (2002).** Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa*. *Bioch. Syst. Ecol.* (30): 1065-1070.

- **Kalemba D, Kunicka A (2003)** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 10: 813-829.
- **Kaloustian J., Hadji-Minaglo F. (2012).** La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie. Paris. Edition Springer.
- **Kang, S. A., Y. J. Jang et H. Park (1998).**"In vivo dual effects of vitamin C on paraquat-induced lung damage: Dependence on released metals from the damaged tissue." *Free Radical Research* 28(1): 93-107.
- **Karabegović I, Nikolova M, Veličković D, Stojičević S, Veljković V, Lazić M.2011.**Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *Artemisia* sp. recovered by different extraction techniques. *Chin J Chem Eng* 2011; 19:504-511.
- **Karray-Bouraoui N.,Rabhi M.,Neffati M.,Baldan B.,Ranieri A.,Marzouk B.(2009)** :Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*.*Industrial Crops and Products.*30; 338-343.
- **Kawada.K.,Suzuki K.,Suganuma H.,Smaoui A.,Isoda H.,(2012).**Plant biodiversity in the semi-arid zone of Tunisia .*J.Arid Land Stud.*,22,83-86.
- **Kazemi M, Tabatabaei-Anaraki M, Rustaiyan A, Motevalizadeh A, Masoudi S.2009.** Chemical composition of the essential oils obtained from the flower, leaf and stem of *Artemisia campestris* L. from Iran. *J Essent Oil Res.*2009;21(3):197–99
- **Khalilov L, Paramonov E, Khalilova A, Odinokov V, Muldashev A, Baltaev U,Dzhemilev U.2001.** Identification and biological activity of volatile organic compound emitted by plants and insects. IV. Composition of vapor isolated from certain species of *Artemisia* plants. *Chem Nat Prod.* 2001;37(4):339–42.
- **Khanbabae K and Ree T.R. (2001).** Tannins:Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry.* **18:** 641-649. (Cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- **Khenaka K. (2011)** : Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin Diplôme de Magister.En Microbiologie Appliquée.Université Mentouri Constantine.Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.Département de Biochimie et de Microbiologie.p81
- **Khettaf A, Belloula N, Dridi S (2016).** Antioxidant activity, phenolic and flavonoid contents of some wild medicinal plants in southeastern Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 15(13), 524-530
- **Kumaran, A., Karunakaran, R.J., 2007.** In vitro antioxidant activities of methanolextracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT* 40, 344–352.
- **Kumar, G, Baojun, X. (2017).** A critical review on polyphenols and health benefitsof black soybeans. *J o u r n a l of nutrients.* Page 1-17.
- **Kundan S., and Anupam S. (2010).** The Genus *Artemisia*: A Comprehensive Review. *J.Pharm. Biol.*pp:1-9.
- **Kyeong W.Y., Anwar M., Jong H. K (2007).**, effetofthe Aqueous Extract from *Artemisia campestris* ssp. Caudate on Mycorrhizal Fungi Colonization and Growth of Sand Dune Grasses. *J. Plant.Biology.*vol 50, n°3, p-p358-361.

- **Laliberté J, Labbé S (2008).** [The molecular bases for copper uptake and distribution: lessons from yeast]. *Médecine Sci MS*. mars 2008;24(3):277-83.
- **Lebham 2005.** Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).
- **Leila Barkat, Amel Boumendjel, Mongi Saoudi, Abdelfattah El Feki, Mahfoud Messarah.2015.** *Artemisia campestris* Leaf Aqueous Extract Alleviates Methidathion-Induced Nephrotoxicity in Rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. Vol 32, P: 200-209.
- **Leopoldini, M., N. Russo et M. Toscano (2011).** "The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants." *Food Chemistry* 125(2): 288-306.
- **Lou Z., Chen J., Yu F., Wang H. Kou X., Ma C., Zhu S., (2017).** The antioxidant, antibacterial, antibiofilm activity of essential oil from *Citrus medica* L. var, sarcodactylis and its nanoemulsion *Food Sci. Technol.*, 80,371-377.
- **Lugasi, A; Hovari, J; Sagi, K. V; et Biro, L 2003.** The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. *Acta. Biologica Szegedientis* 2003, 1-4: 119-125.
- **Macheix J. J, Fleuriet A et Jay Allemand C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses Polytechniques et Univesitaires Romandes. Lausanne: 192 p.
- **Marfak A. (2003).** Thèse de doctorat Radiolyse Gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools. Pp : 6-7-10.
- **Martin A., Schoonen A., Corey A., Cohn, Roemer E., Laffers R., Sanford R., Simon, Thomas O'Riordan., 2006** ,mineral-Induced formation of reactive oxygen species, *Reviews in medical Mineralogy and Geochemistry*, vol 64 ,n°7 ,P179-221.
- **Masotti V, De Jong L, Moreau X, Rabier J, Laffont-Schwob I, Thiéry A. (2012).** Larvicidal activity of extracts from *Artemisia* species against *Culex pipiens* L. mosquito: Comparing endemic versus ubiquitous species for effectiveness. *C R Biol* 2012;335:19-25
- **May J, Chan CH, King A, Williams L, French GL (2000)** Time-kill studies of tea tree oils on clinical isolates. *J. Antimicrob. Chemother.* 45: 639-643.
- **McCord JM, Fridovich I. 1988.** Superoxide dismutase: The first twenty years (1968–1988). *Free Radic Biol Med.* 1 janv 1988;5(5):363-9.
- **Memmi A., Sanag G., Rejeibi I., El ayeb M., Srairi-Abid N., Bellasfer Z., Fekhih. A (2007),** use of medicinal plants against scorpionic and ophidian venoms. *Arch. Inst. Pasteur. Tunis.* vol 84, p-p49-55.
- **Megdiche-Ksouri W, Trabelsi N, Mkadmini K, Bourgou S, Noumi A, Snoussi M, et al. 2015.** *Artemisia campestris* phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity. *Ind Crops Prod* 2015; 63:104-113.
- **Metoui R., Bouajila J., Znati M., Cazaux S., Neffati M., Akrouf A. .2017.** Bioactive flavones isolated from Tunisian *Artemisia campestris* L. leaves, *Cell. Mol. Biol.* 63(2017) 86.

- **Mezzetti A, Pierdomenico SD, Costantini F, Romano F, De Cesare D, Cuccurullo F, et al (1998).** Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Radic Biol Med.* oct 1998;25(6):676-81.
- **Middleton, J.E., Kandaswami, C., et Theoharides, T.C. (2000).** The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacological Reviews*, 52, 673-751.
- **Mighri H., Hajlaoui H., Akrouf A., Najjaa H. and Neffati M. (2010).** Antimicrobial and Antioxidant Activities of Artemisia herba-alba Essential Oil Cultivated in Tunisian Arid Zone. *C.R. Chim.* 13 (3): 380-386.
- **Minami M., Suzuki M., Hosokawa K., Kondo S., Oka K., Shibata T., (2010).** Preliminary survey of taxonomical problems, pharmacognostical characteristics, chloroplast DNA polymorphisms of the folk medicinal herb Artemisia campestris from the Ryukyu Islands, Japan. *J.Nat.Med.*, 64, 239-244.
- **Mohamed-Amine Jabria, Haifa Tounsib, Afifa Abdellaouib, Lamjed Marzoukia, Hichem. 2018.** Protective effects of Artemisia campestris extract against gastric acidreflux-induced esophageal mucosa. *Journal homepage Pathophysiology xxx (2017) xxx–xxx. PP:1-7.*
- **Mongi Saoudi, Riadh Badraoui, Fatma Rahmouni, Kamel Jamoussi⁵, Abdelfattah El Feki. 2021.** Antioxidant and Protective Effects of Artemisia campestris Essential Oil Against Chlorpyrifos-Induced Kidney and Liver Injuries in Rats. *Frontiers in Physiology.* Vol 12 | Article 618582. PP:1-10
- **Montagnier L, Olivier R, Pasquier C (1998).** Oxidative stress in Cancer, AIDS and neurodegenerative diseases. New-York: Marcel Dekker.
- **Mothana R. A., Al-Rehaily A. J. and Schultze W. (2010).** Chemical Analysis and Biological Activity of the Essential Oils of Two Endemic Soqotri Commiphora species. *Molecules.* 15 (2): 689-698.
- **Moussaoui, B. (2010).** Etude de l'effet de l'extrait de l'extract de la plante d'artemesia campestris sur les cellules tumorales et son role dans la protection du stress oxydatif induit par la cisplatine, Mémoire Pour l'obtention du diplôme de magister En Biologie cellulaire et moléculaire Option : toxicologie cellulaire, Université Mentouri Constantine, Algérie .
- **MUANDA F., 2010.** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat en chimie organique. Université Paul Verlaine-Metz : 55p.
- **Mucciarelli M and Maffei M. (2002).** *Artemisia*: Introduction to the Genus Vol. 18 Ed Colin W.W. in Taylor & Francis. Ed. London and New York. pp: 10-16.
- **Naili M.B., Alghazeer.O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y(2010) .,** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of Artemisia campestris (Astraceae) and Ziziphus lotus (Rhamnaceae). *Arab.J.Chem.* vol 3.p-p79-84.
- **Neffati, (2002).** Allelochimique comportement d'Artemisia campestris L. dans les Parcours de la Djeffara tunisienne. Mémoire de fin d'étude. INAT éditions, pp 100- 109, Tunis, Tunisie.

- **Neffati A. (2010).** Thèse de doctorat en Sciences de l'université de Caen, Etude de la composition chimique et évaluation d'activités biologiques de l'huile essentielle d'une Apiaceae de Tunisie : *Pituranthos chloranthus*.
- **Noumi Z., Ouled Dhaou S., Derbel S., Chaieb M., (2010).**the status of Asteraceae in the arid and saharian flora of North African region: case of Tunisia.Pak. J. Bot,42, 1417-1422
- **Novák J., Konvička M., (2006).** Proximity of valuable habitats affects succession patterns in abandoned quarries.Ecol. Eng., 26,113-122.
- **Ozenda, Paul. 1985.** *Flore du Sahara*.
- **Pamplona, R., Costantini, D., 2011.** Molecular and structural antioxidant defenses against oxidative stress in animals. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 301, 843-863.
- **Paris M et Hurabielle. (1981).** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris.pp: 102-103-104-107.
- **Pascual-VillalobosM,RobledoA(1998).** Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants. Ind Crops Prod 1998;8:183-194.
- **PavelaR.(2009).** Larvicidal effects of some Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). Parasitol Res 2009;105:887-892.
- **Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biol. Med. 26 (9/10), 1231–1237.
- **Peronny S. (2005).** La perception gustative et la consommation des dannins chez le MAKI (*Lemur catta*). Thèse de doctorat du Muséum national d'histoire naturelle. Discipline ECO-Ethologie. P:151.
- **Peter A., Southoran M.B., Garth Powis D. Phil., 1988,** Free, Radical .I . Chemicalnatureandbiologicalreactions, Mayoclinicproceedings., vol63 ,n°4 ,P 381-389 .
- **Pinecemail J., Karine, B., Karine, C. et Jean-Olivier D. 2002.** Mécanismes Physiologiques de la défense Antioxydante. Physiological Action of Antioxydant Defences. *Nutritio Clinique et métabolisme*. 16(6):233-239.
- **Piochon M. (2008).** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Thèse de doctorat en ressources renouvelables.Universite du Quebec:P7,11,17.
- **Pirini Chrisoula B., Tsiripidis I., Bergmeier E., (2014).** Steppe-like grass land vegetation in the hills around the lakes of Vegoritida and Petron, North-Central Greece. *Hacquetia*, 13(1), 121-169.
- **Popovici C, Saykova I, Tylkowski B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4, 25-39.
- **Quezel P. et Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. Tome. II Ed. CNRS. Paris.
- **Ranitha M., Abdurahman H-N., Ziad A-S., Azhari H-N., Thana R-S., (2014).** A comparative study of Lemongrass (*Cymbopogon Citratus*) essential oil extracted by Microwave-Assisted Hydrodistillation (MAHD) and Conventional Hydrodistillation (HD)

- Method. International Journal of Chemical Engineering and Applications, 5(2). Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc. P: 152.
- **Rauter A.P., Branco I., Tostao Z., Pais M.S., Gonzalez A.G et Bermejo J.B. (1989).** Flavonoids from *Artemisia campestris Subsp Maritima*. *Phytochemistry*. **28 (8):** 2173-2175
 - **Rebbas K. et Bounar R., (2014).** Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la région de M'sila (Algérie). *Phytothérapie* 12, 284-291.
 - **Réthy B, Csupor- Löffler B, Zupkó I, Hajdú Z, Máthé I, Hohmann J, et al. (2007).** Antiproliferative activity of Hungarian Asteraceae species against human cancer cell lines. Part I. *Phytother Res* 2007;21:1200-1208.
 - **Retsky, K. L., K. Chen, J. Zeind et B. Frei (1999).** "Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxo-histidine formation." *Free Radical Biology and Medicine* 26(1-2): 90-98.
 - **Richard F., 1992.** Manuel des corps gras, Paris, Ed : Lavoisier, Tec.&Doc. P :1228-1242.
 - **Russo-Marie F., 1998.** L'inflammation. John Libbey Eurotext; 1998. 580 p
 - **Saadaoui I., Ilahi H., Robin B.C., Rejeb H., (2014).** Contribution to the study of the flora in the central-west of Tunisia: landscape dynamics and evaluation of plant biodiversity of mountain Bouchebka. *Int.J.Innov.Appl.Stud.*, 6, 257-268.
 - **Saihi F. (2011).** Etude phytochimique, Extraction des produits actifs de la plante *Artemisia campestris* de la région de Djelfa. Mise en évidence de l'activité biologique. Mémoire de magistère en chimie. Université d'Oran. P: 67.
 - **Saleh M. A., Clark S., Woodard B. and Deolu-Sobogun A. A. (2010).** Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Essential Oils. *Ethn Dis*. 20 (1 Suppl 1): S1-78-82.
 - **Salinas M.J., Guirado J., (2002).** Riparian plant restoration in summer-dry riverbeds of Southeastern Spain. *Restor. Ecol.*, 10, 695-702.
 - **Santo A., Zhu H., Robert Li., 2016,** *Reactive Oxygen Species, Free radicals : From Health to Disease*, vol 2, n°4, P245-263.
 - **Saoudi M., Badraoui, R., Bouhajja, H., Ncir, M., Rahmouni, F., Grati, M., et al. (2017a).** Deltamethrin induced oxidative stress in kidney and brain of rats: protective effect of *Artemisia campestris* essential oil. *Biomed. Pharm.* 94, 955–963. doi: 10.1016/j.biopha.2017.08.030
 - **Saoudi M, Allagui MS, Abdelmouleh A, Jamoussi K, ElFeki A. 2010.** Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against pufferfish *Lagocephalus lagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62, 2010, 601–605.
 - **Saoudi M., Ncir M., A.M. Ben, Grati M., Jamoussi K., Allouche N., El Fek A. .2017.,** Chemical components, antioxidant potential and hepatoprotective effects of *Artemisia campestris* essential oil against deltamethrin-induced genotoxicity and oxidative damage in rats, *Gen. Physiol. Biophys.* 36 (2017) 331–342.
 - **Sebai H., Jabri M.-A., Souli A., Hosni K., Selmi S., Tounsi H., Tebourbi O., Boubaker S., El-Benna J., Sakly M. 2014.** Protective effect of *Artemisia campestris* extract against aspirin-induced gastric lesions and oxidative stress in rat, *RSC Adv.* 4(2014) 49831–49841.

- **Schofield P., Mbugua D-M., Pell., A-N. (2001).** "Analysis of condensed tannins: à review." *Animal feed science and technology* 91(1-2): 21-40.
- **Schroeter, H., C. Boyd, J. P. E. Spencer, R. J. Williams, E. Cadenas et C. Rice-Evans (2002).** "MAPK signaling in neurodegeneration: Influences of flavonoids and of nitric oxide." *Neurobiology of Aging* 23(5): 861-880.
- **Sefi M., Fetoui H., Soudani N., Chtourou Y., Makni M., Zeghal N. .2012.,** *Artemisia campestris* leaf extract alleviates early diabetic nephropathy in rats by inhibiting protein oxidation and nitric oxide end products, *Pathol. Res. Pract.* 208 (2012)157–162.
- **Sefi M., Bouaziz H., Soudani N., Boudawara T., Zeghal N. .2011.** Fenthion induced-oxidative stress in the liver of adult rats and their progeny: Alleviation by *Artemisia campestris*, *Pestic. Biochem. Physiol.* 101 (2011) 71–79.
- **Sefi M., Troudi A., Hamida F., Soudani N., Boudawara T., Zeghal N..2013.** Protective effects of *Artemisia campestris* upon fenthion-induced nephrotoxicity in adult rats and their progeny, *Gen. Physiol. Biophys.* 32 (2013) 577–588.
- **SefiM,FetouriH,MakniMandZeghalN(2010).** Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol*, 48(7), 2010, 1986-1993.
- **Seidel V (2005).** Initial and Bulk Extraction. In: natural products isolation. Sarker S D, Latif Z, Gray A I. Totowa: Humana Press. pp: 27-37.
- **Seon Hwa, L., T. Oe et I. A. Blair (2001).**"Vitamin C-induced decomposition of lipid hydroperoxides to endogenous genotoxins." *Science* 292(5524): 2083-2086.
- **Shaaban H.A.E., El-Ghorab A.H., Shibamotoand T., (2012).** Bioactive of *essential Oils and their volatile aroma components*: Review.*J. Ess.Oil Res.*,24(2),203-212.
- **Shin S, Kim JH (2005)** In vitro inhibitory activities of essential oils from two Korean thymus species against antibiotic-resistant pathogens. *Arch. Pharm. Res.* 28: 897-901.
- **Shon MY, Lee J, Choi JH, Choi SY, Nam SH, Seo KI, Park SK (2007).** Antioxidant and free radical scavenging activity of methanol extract of chungkukjang. *Journal of food composition and analysis*, 20(2), 113-118.
- **Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.
- **Soares,J.R.,Dins,T.C.P.,Cunha, A.P.,Ameida,L.M,1997.** Antioxydant activity of some extracts of *Thymus zygis*.*Free Rad.Res.*26,469-478.
- **Sun, B., conceiçao, L., Ricardo, da silva, J. M., Spranger I. 1998.** *Journal of Agricultural and Food chemistry*46(4), 1390-1396.
- **Sun, B. S. ; Spranger, M. I. ; Leandro, M. C,1995.** Dosage des caté'chines et procyanidines du rasin et du vin. Optimisation de la mé'thode de re'action avec la vanilline. *Proceedings, International Polyphenolic Group Convention; INRA: Palma de Mallorca, 1995; pp 455-456.*
- **Szegletes T., Balint T., Szegletes Z., Nemcsok J. .1995.** In vivo effects of deltamethrin exposure on activity and distribution of molecular forms of carp AChE, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 31 (1995) 258–263.

- **Tapas AR, DM Sakarkar¹, and RB Kakde. (2008).** Flavonoids as Nutraceuticals: A Review, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, vol7 (3): p1089-1099.
- **Tessier, F., et Marconnet, P. (1995).** Radicaux libres systèmes antioxydants et exercices. (10), 1-13
- **Tharib SM, Gnan SO, Veitch GBA (1983).** Antimicrobial activity of compounds from *Artemisia campestris*. *J Food Prot* 1983;46:185-187.
- **Tohidpour A, Sattari M, Omidbaigi R, Yadegar A, Nazemi J (2010)** Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) *Phytomedicine*. 17: 142-145.
- **Thomas Desmier. 2016.**, Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie : les antioxydants de nos jours ; définition et application le 29 mars 2016, Université de Limoges. p 29-30-31-33-35.
- **Thénard, L.J., 1818.** Academie des Sciences, Paris Traite de Chimie 1, 6th Ed.
- **Tlili N, Elfalleh W, Hannachi H, Yahia Y, Khaldi A, Ferchichi A, et al. 2013.** Screening of natural antioxidants from selected medicinal plants. *Int J Food Prop* 2013;16:1117-1126.
- **Vahdati-Mashhadian N, Emami S, Oghazian M, Vosough R (2009).** The cytotoxicity evaluation of seven species of *Artemisia* on human tumor cell lines. *Pharmacologyonline* 2009;1:229-242.
- **Valant-Vetschera K.M., Fischer R., and Wollenweber E. (2003).** Exudate flavonoids in species of *Artemisia* (Asteraceae-Anthemideae): new results and chemosystematic interpretation. *Biochem. Syst. Ecol.* 31: 487-498.
- **Valko, M., C. J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic et M. Mazur (2006).** "Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer." *Chemico-Biological Interactions* 160(1): 1-40.
- **Vermerris W & Nicholson R., 2006.** Phenolic compound Biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8.
- **Wan J, Wilcock A, Coventry MJ (1998)** The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *J. Appl. Microbiol.* 84: 152-158.
- **Wannissorn B, Jarikasem S, Siriwangchai T, Thubthimthed S (2005)** Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia*. 76: 233-236.
- **Wilfred. V et Ralph. N. (2006).** Phenolic compound biochemistry Ed Springer. USA. 24p.
- **Xia EQ, Deng GF, Guo YJ, Li HB (2010).** Biological activities of polyphenols from grapes. *Int Jf Mol Sci.* 11:622-646.
- **Younsi F., Mehdi S., Aissi O., Rahali N., Jaouadi R., Boussaid M., Messaoud C. 2017.** Essential oil variability in natural populations of *Artemisia campestris* (L.) and *Artemisia herba-alba* (Asso.) and incidence on antiacetylcholinesterase and antioxidant activities, *Chem. Biodivers.* 14 (2017).
- **Zrov D .B., Juhaszova M., Sollott S .J., 2014** , Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) And ROS-induced ROS Release . *Physiol Rev* , vol 94, n°3 , P 909-950.