

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE de l'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS-MOSTAGANEM



FILIERE : Sciences Biologiques  
SPECIALITE : Microbiologie  
OPTION : Microbiologie



## THESE

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE  
DOCOTRAT 3EME CYCLE LMD

Par

**MAMMERI Bakhtia**

THEME

**Caractérisation chimique et effet synergique d'antibiotiques et  
des huiles essentielles d'*Artemisia campestris* et de *Cistus laurifolius*.**

Soutenu le

Devant le jury :

Président :	<b>Cheriguene Abderrahim Pr</b>	<b>Université de Mostaganem</b>
Directeur de thèse :	<b>Bahri Fouad Pr</b>	<b>Université de Mostaganem</b>
Co-directeur de thèse :	<b>Kouidri Mohamed MCB</b>	<b>Université de Chlef</b>
Examineur :	<b>Djibaoui Rachid Pr</b>	<b>Université de Mostaganem</b>
Examineur :	<b>Bekada Ahmed Mohamed Ali Pr</b>	<b>Université de Tissemsilet</b>

Année universitaire 2022-2023

# *Remerciement*

Ma première gratitude va au tout-puissant ALLAH (الله), le créateur du tout pour me donner la vie et la force pour accomplir ce travail.

Je tiens tout d'abord, à remercier et exprimer ma profonde gratitude à mon directeur de thèse, **Mr. BAHRI Fouad** professeur à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem pour ses immenses contributions, critiques constructives, patience, compréhension, conseils, et appui au cours de la réalisation de ce travail.

Mes vifs remerciements sont adressés également à mon Co-directeur de thèse, **Mr. KOUIDRI Mohamed**, Maitre de conférences classe B à l'université Hassiba Ben Bouali de Chlef pour ses précieux conseils, ses annotations critiques pour l'évolution et la bonification de ce travail, pour ses orientations constructives qui m'a vraiment vivifié.

Je tiens à remercier le Professeur **Mr. BEN AKRICH BEN MAHEL** responsable de notre formation doctorale de l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.

Mes remerciements vont aussi au directeur de laboratoire de recherche (Microbiologie et Biologie Végétale) **Mr. MEKHALDI Abd elkader**.

Je remercie grandement **Mr. Cheriguene Abderrahim**, Professeur à l'université de Mostaganem de m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ma thèse. Mes remerciements vont également aux membres de jury pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail, au **Mr. Djibaoui Rachid**, Professeur à l'université de Mostaganem et au **Mr. Bekada Ahmed Mohamed Ali**, Professeur à l'université de Tissemsilet.

Je tiens à remercier **Mr. Belhaçaini H**, Professeur à l'université de Sidi-Bel Abbés pour l'authentification des espèces végétales étudiées. Je remercie également **Mr. ABOU MOSTAPHA M**, responsable de laboratoire de CRAPC (Tipaza, Algérie) d'avoir réalisé les analyses chimiques des huiles essentielles.

Je voudrais également remercier mes collègues du laboratoire de Microbiologie et Biologie Végétale.

Enfin, je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet qui compte tant pour moi.

## *Dédicace*

*Avec une énorme joie et un infini plaisir je dédie ce modeste travail, aux deux plus chères personnes de ma vie, pour leur soutien, leur amour et leur patience ; la lumière de ma vie mes parents **Hoçine** et **Djamia**.*

*A mon cher marié **Koulla Youcef***

*À mes grands chers frères*

***Mhamed, Mohamed** et mon petit frère **Amine**.*

*À ma chère sœur **Chaimaa, Marwa Heni, Heddi f/z***

*À toute ma famille **Mammeri, Ali Elchrif***

*À Tous mes amis et mes collègues.*

*À tous ceux qui aiment la science.*

## Résumé

La présente étude consiste à la valorisation de deux espèces végétales, poussant à l'état spontané dans l'Algérie, à savoir *Artemisia campestris* L. et *Cistus laurifolius* L. et à l'évaluation de certaines de leurs activités biologiques. L'huile essentielle des feuilles sèches de l'armoise de la région de Djelfa a donné un rendement de 4.9 % et l'huile essentielle des feuilles sèches de ciste de la région de Chlef a donné un rendement de 2 %. Le screening phytochimique a révélé la présence de différents groupes de métabolites secondaires dans les parties aériennes des deux plantes étudiées : les alcaloïdes, tannins, anthraquinones, stérols et triterpènes, saponosides et coumarines. L'analyse chimique par la CPG-SM a indiqué que les composés majeurs étaient ; le comphor (41.95 %) pour l'huiles essentielles d'*A. campestris* et le borneol (14.69 %) pour l'huile essentielle de *C. laurifolius*.

L'étude de l'activité antibactérienne par aromatogramme, a montré un effet antibactérien de l'huile essentielle d'*A. campestris* sur les quatre souches de référence testées (les diamètres des zones d'inhibition sont compris entre 18.33 et 24.33 mm) et l'huile essentielle de *C. laurifolius* est active contre trois souches de référence testées (les diamètres des zones d'inhibition sont compris entre 17.66 et 30.66 mm). La synergie entre les huiles essentielles étudiées et les antibiotiques standards a exhibé un effet antibactérien important sur différentes souches de référence (les diamètres des zones d'inhibitions sont compris entre 9.33 et 34.66 mm pour l'huile de l'armoise et 8.66 et 38.33 mm pour l'huile de ciste). Pour l'huile essentielle de l'armoise, les valeurs obtenues de la CMI sont comprises entre 15 et 60 (mg/mL) et de 30 et 120 (mg/mL) pour la CMB. Concernant l'huile essentielle de ciste, les valeurs obtenues sont comprises entre 40.63 et 81.25 (mg/mL) pour la CMI et de 81.25 à 162.5 (mg/mL) pour la CMB.

Les valeurs obtenues de la CE<sub>50</sub> par le test de DPPH sont 44.38 (mg/mL) pour l'huile essentielle de l'armoise et 74.76 (mg/mL) pour celle de ciste. Par ailleurs, les valeurs obtenues de la CE<sub>50</sub> par le test de FRAP sont 1.60 (mg/mL) pour l'huile essentielle de l'armoise et 2.04 mg/mL pour celle de ciste. L'activité antioxydante obtenue par le test de  $\beta$ -carotène de l'huile essentielle d'*A. campestris* est de 54.04 %, supérieure à celle trouvée pour l'huile essentielle de *C. laurifolius* avec un pourcentage de 37.61 %.

La toxicité aigüe étudiée a prouvé que les huiles essentielles d'*Artemisia campestris* et de *Cistus laurifolius* testées étaient sans danger pour les souris *Swiss albinos* à différentes doses. Le test de l'œdème plantaire induit par la carragénine a signalé que l'HE d'*Artemisia campestris* a montré un pourcentage d'inhibition de 27.36, 39.62 et 56.60 % pour les doses de 100, 200 et 400 mg/kg de poids corporel respectivement après 6 heures. Tandis que, l'HE de *Cistus laurifolius* a montré un pourcentage d'inhibition de 22.64, 35.85 et 43.40 % pour les doses de 100, 200 et 400 mg/kg de poids corporel respectivement après 6 heures. D'autre part ; ces pourcentages étaient inférieurs à ceux observés avec le diclofénac anti-inflammatoire de référence (83.96 %).

**Mots clés :** *Artemisia campestris*, *Cistus laurifolius*, huile essentielle, CPG/SM, activité antibactérienne, effet synergique, activité antioxydante, toxicité aigüe, activité anti-inflammatoire.

## Abstract

This study is based on the valuation of two plant species, growing spontaneously in Algeria, namely, *Artemisia campestris* L. and *Cistus laurifolius* L., by evaluating some of their biological activities. The essential oil from the dry leaves of armoise collected from the Djelfa region gave a yield of 4.9 %, while the oil from the dry leaves of cistus collected from the Chlef region gave a yield of 2 %. Phytochemical screening revealed the presence of different groups of secondary metabolites in the aerial parts of the two studied plants (*Cistus laurifolius* L. and *Artemisia campestris* L.) such as: alkaloids, tannins, anthraquinones, sterols and triterpenes, saponosides and coumarins. Chemical analysis by GC-MS indicated that the major compounds were; comphor (41.95 %) for the essential oil of *A. campestris* and borneol (14.69 %) for *C. laurifolius* essential oil.

The study of the antibacterial activity by aromatogram, showed an antibacterial effect of the essential oil of *A. campestris* on the four reference tested strains (the diameters of the zones of inhibition are between 18.33 and 24.33 mm) while, the essential oil of *C. laurifolius* is active against three reference tested strains (the diameters of the zones of inhibition are between 17.66 and 30.66 mm). The synergy between the essential oils studied and the standard antibiotics shows a significant antibacterial effect on different reference tested strains (the diameters of the zones of inhibition are between 9.33 and 34.66 mm for armoise oil and 8.66 and 38.33 mm for cistus oil). For *A. campestris* essential oil, the MIC values obtained are between 15 and 60 (mg/mL) and 30 and 120 (mg/mL) for the MBC. Concerning cistus oil, the values obtained are between 40.63 and 81.25 (mg/mL) for the MIC, from 81.25 to 162.5 (mg/mL) for the MBC.

The EC<sub>50</sub> values obtained by the DPPH test, are 44.38 (mg/mL) for *Artemisia campestris* essential oil and 74.76 (mg/mL) for *Cistus laurifolius* essential oil. In addition, the EC<sub>50</sub> values obtained by the FRAP test, are 1.60 (mg/mL) for armoise oil and 2.04 (mg/mL) for cistus oil. The antioxidant activity obtained by the  $\beta$ -carotene test of the essential oil of *A. campestris* is 54.04 %, superior than that found with *C. laurifolius* essential oil, which showed a percentage of 37.61 %.

The acute oral toxicity study indicated that the *Artemisia campestris* and *Cistus laurifolius* essential oils tested were safe for *Swiss albino* mice at different doses. The carrageenan-induced paw edema test indicated that *Artemisia campestris* EO showed a percentage inhibition of 27.36, 39.62 and 56.60 % at doses of 100, 200 and 400 (mg/kg) body weight respectively after 6 hours. While, the *Cistus laurifolius* EO showed a percentage inhibition of 22.64, 35.85 and 43.40 % at doses of 100, 200 and 400 (mg/kg) body weight respectively after 6 hours. On the other hand; these percentages were lower than those observed with the standard diclofenac 83.96 % (the reference anti-inflammatory).

**Keywords:** *Artemisia campestris*, *Cistus laurifolius*, Essential oil, GC/MS, Antibacterial activity, Synergistic effect, Antioxidant activity, Acute toxicity, Anti-inflammatory activity.

## ملخص

اعتمد عملنا على تقييم نوعين من النباتات، ينموان تلقائيًا في الجزائر، وهما *Cistus* و *Artemisia campestris* من خلال تقييم بعض أنشطتهما البيولوجية. اعطى الزيت العطري للأوراق الجافة لنبات الشيح الذي تم جمعه من الجلفة محصولاً قدره (4.9%)، بينما أعطى الزيت العطري لأوراق الورد الجافة التي تم جمعها من الشلف مردود 2%. كشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود مجموعات مختلفة من الأيضات الثانوية في الأجزاء العلوية للنباتات المدروسة (*Artemisia campestris* و *Cistus laurifolius*) مثل مركبات الالكالويد، التانن، الأنثراكينون، الستيروول، التريتربان والكومارين. أشار التحليل الكيميائي بواسطة GC-MS إلى أن المركبات الرئيسية كانت comphor (41.95%) للزيت العطري *Artemisia campestris* و borneol (14.69%) للزيت العطري *Cistus laurifolius*.

أظهرت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا بالاروماتوغرام وجود تأثير مضاد للبكتيريا من طرف الزيت العطري ل *Artemisia campestris* على السلالات المرجعية الأربعة التي تم اختبارها (أقطار التنشيط بين 18.33 و 24.33 ملم). في حين أن زيت *Cistus laurifolius* الأساسي فعال ضد السلالات المرجعية الثلاثة التي تم اختبارها (أقطار مناطق التنشيط بين 17.66 و 30.66 ملم). يظهر التأخر بين الزيوت الأساسية التي تم اختبارها والمضادات الحيوية القياسية تأثيراً مضاداً للبكتيريا على السلالات المرجعية المختلفة التي تم اختبارها (أقطار مناطق التنشيط بين 9.33 و 34.66 ملم لزيت الشيح وبين 8.66 و 38.33 ملم لزيت الورد). سمحت طريقة الميكروتخفيف في وسط سائل بالنسبة لزيت الشيح بالحصول على قيم تتراوح من 15 إلى 60 ملغ/مل لـ CMI، ومن 30 إلى 120 ملغ/مل لـ CMB، فيما يتعلق بزيت الورد، تم الحصول على قيم تتراوح من 40.63 إلى 81.25 ملغ/مل لـ CMI، ومن 81.25 إلى 162.5 ملغ/مل لـ CMB.

قيم التركيز الفعال  $CE_{50}$  التي تم الحصول عليها عن طريق اختبار DPPH هي 44.38 ملغ/مل لزيت الشيح العطري و 74.76 ملغ/مل لزيت الورد. بالإضافة إلى ذلك فإن التركيز الفعال  $CE_{50}$  الذي تم الحصول عليه عن طريق اختبار FRAP هو 1.60 ملغ/مل لزيت الشيح العطري، و 2.04 ملغ/مل لزيت الورد. كانت النسبة المئوية للنشاط المضاد للأكسدة للزيت العطري *Artemisia campestris* 54.04 (%)، أعلى من تلك الموجودة في الزيت العطري *Cistus laurifolius*، والتي أظهرت نسبة 37.61 (%).

أشارت دراسة السمية الفموية الحادة إلى أن زيوت *Artemisia campestris* و *Cistus laurifolius* الأساسية التي تم اختبارها كانت آمنة للفئران السويسرية البيضاء بجرعات مختلفة. أشار اختبار الودمة الأحمصي التي يسببها الكار جينان إلى أن زيت *Artemisia campestris* الأساسي أظهر نسبة تثبيط نسبتها 27.36% و 39.62% و 56.60% بجرعات 100، 200 و 400 (ملغ / كلغ) من وزن الجسم على التوالي بعد 6 ساعات. بينما أظهر الزيت الأساسي لـ *Cistus laurifolius* نسبة تثبيط بلغت 22.64% و 35.85% و 43.40% بجرعات 100، 200 و 400 (ملغ / كلغ) من وزن الجسم على التوالي بعد 6 ساعات. من جهة أخرى كانت هذه النسب أقل من تلك التي لوحظت مع ديكلوفيناك القياسي 83.96% (مضاد الالتهاب المرجعي).

**الكلمات المفتاحية:** *Artemisia campestris*، *Cistus laurifolius*، زيت أساسي، CPG/SM، النشاط المضاد للبكتيريا، التأثير التآزري، النشاط المضاد للأكسدة، السمية الحادة، النشاط المضاد للالتهابات.

# **Table des matières**

---

## Table des matières

Remerciement.....	
Dédicace.....	
Résumé.....	
Abstract.....	
ملخص.....	
Listes des tableaux.....	
Listes des figures.....	
Listes des abréviations et symboles.....	
Introduction.....	2
<b>Revue bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Espèces végétales étudiées</b>	
1. La famille des Astéracée.....	5
1.1. Le genre <i>Artemisia</i> .....	5
1.2. <i>Artemisia campestris</i> (Armoise rouge) .....	5
1.3. Description morphologique (botanique).....	6
1.4. Taxonomie.....	6
1.5. Distribution et Habitat.....	7
1.6. Usage.....	8
1.7. Répartition géographique.....	8
1. Dans le monde.....	8
2. En Algérie.....	8
1.8. Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Artemisia campestris</i> .....	9
1.9. Propriétés thérapeutiques de cette plante.....	11
2. Famille des Cistacées.....	11
2.1. Le genre <i>Cistus</i> .....	12
2.2. <i>Cistus laurifolius</i> (Ciste à feuilles de laurier).....	12
2.3. Description morphologique (botanique).....	12
2.4. Taxonomie .....	13
2.5. Distribution et Habitat.....	14
2.6. Usage.....	14
2.7. Répartition géographique .....	14
1. Dans le monde.....	14
2. En Algérie.....	15
2.8. Composition chimique.....	15
2.9. Propriétés thérapeutiques de <i>Cistus laurifolius</i> .....	15
<b>Chapitre II : Les huiles essentielles</b>	
1. Les huiles essentielles.....	16
1.1. Définition.....	16
1.2. Composition chimique des huiles essentielles.....	16

1.2.1. Terpènes (terpénoïdes ou isoprénoïdes).....	17
1.2.2. Phénylpropanoïdes.....	18
1.2.3. Composés soufrés et azotés.....	19
1.3. Répartition botanique.....	19
1.4. Lieu de synthèse et de sécrétion.....	20
1.5. Propriété physico-chimique des huiles essentielles.....	20
1.6. Toxicité des huiles essentielles.....	21
1.7. Facteur influençant sur les molécules bioactives des huiles essentielles.....	22
1.8. Méthode d'extraction des huiles essentielles.....	23
1.8.1. Par entraînement à la vapeur.....	23
1. Hydrodistillation simple.....	24
2. Distillation à vapeur saturée.....	24
3. Hydro-diffusion.....	25
1.8.2. Autres techniques.....	26
1. Distillation par enflourage.....	26
2. Distillation assistée par micro-ondes.....	26
3. Distillation par des solvants organiques.....	27
4. Extraction par fluide à l'état supercritique.....	27
1.9. Méthodes d'analyse des composants huiles essentielles.....	28
1.10. Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	31
1.11. Mécanisme d'action des huiles essentielles.....	32
<b>Chapitre III : Activité biologiques des huiles essentielles</b>	
1. Inféction nosocomiale .....	33
1.1. Définition .....	33
1.2. Epidémiologie .....	33
1.3. Origine des germes (Agents pathogènes).....	33
1.4. Modes de transmission.....	34
1.5. Patient réceptif.....	35
1.6. Principale infection nosocomiale .....	35
1.6.1. Infection urinaire nosocomiale .....	35
1.6.2. Pneumonie nosocomiale .....	35
1.6.3. Infection des plaies opératoires .....	36
1.6.4. Infection sur cathéter .....	36
1.6.5. Autres infections .....	37
2. Les antibiotiques.....	37
2.1. Définition .....	37
2.2. Les antibiotiques naturels et synthétiques .....	37

2.3. Mode d'action des antibiotiques.....	38
2.4. La résistance bactérienne aux antibiotiques.....	39
2.4.1. Résistance naturelle ou innée .....	39
2.4.2. Résistance acquise .....	40
3. Activités biologiques des huiles essentielles .....	40
3.1. Activité antimicrobienne.....	40
3.1.1. Activité antibactérienne .....	41
3.1.2. Activité antivirale .....	41
3.1.3. Activité antifongique .....	42
3.1.4. Activité anti protozoaire.....	42
3.2. Activité antioxydante .....	43
3.2.1. Le stress oxydatif.....	43
3.2.2. Les radicaux libres.....	44
3.2.3. Les antioxydants.....	44
1. Système enzymatique.....	45
2. Système non enzymatique.....	45
3. Mécanisme d'action des antioxydant.....	45
3.3. Activité anti inflammatoire .....	46
3.3.1. L'inflammation.....	46
3.3.2. Types d'inflammation.....	46
1. Inflammation aigue.....	46
2. Inflammation chronique.....	48
3.3.3. Les anti-inflammatoires.....	48
1. Les anti inflammatoires traditionnels.....	48
2. Les anti inflammatoires conventionnels.....	49
3.4. Activité anticancéreuse.....	50
<b>Partie expérimentale</b>	
<b>Chapitre IV : Matériel et Méthodes</b>	
1. Matériel biologique .....	51
1.1. Matériel végétal .....	51
1.1.1. Récolte.....	51
1.1.2. Détermination du taux d'humidité.....	53
2. Screening phytochimique .....	53
2.1. Principe.....	53
2.2. Mode opératoire.....	53
1. Alcaloïde.....	53
2. Polyphénol.....	54
2.1. Tanins .....	54
2.2. Flavonoïdes.....	54
2.2.1. Anthocyanes.....	54

2.3. Dérivésanthracéniques.....	54
2.3.1. Dérivés anthracéniques libres.....	55
2.3.2. Dérivés anthracéniques combinés.....	55
2.4. Saponoside .....	56
2.5. Stérol et Triterpène .....	56
2.6. Autre caractérisation .....	57
2.6.1. Composés réducteurs.....	57
2.6.2. Oses et holosides.....	57
2.6.3. Mucilage .....	57
3. Huiles essentielles.....	58
3.1. Procédé d'extraction .....	58
3.1.1. Hydrodistillation .....	58
3.1.2. Détermination du rendement d'extraction.....	58
4. Analyse des huiles essentielles .....	59
4.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	59
4.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM)..	59
4.3. Identification des composés chimiques .....	60
5. Etude <i>in-vitro</i> .....	61
5.1. Etude de l'activité antibactérienne.....	61
5.1.1. Etude de la sensibilité des bactéries pathogènes vis-à-vis des agents antibactériennes standards (Antibiogramme).....	62
5.1.2. Effet antibactérienne des huiles essentielles étudiées (Technique de Vincent).....	62
5.1.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (C.M.I) .....	62
5.1.4. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (C.M.B) .....	63
5.1.5. Etude de l'effet synergique d'antibiotiques et des huiles essentielles testés.....	63
1. Mode opératoire.....	64
5.2. Etude de l'activité antioxydante.....	64
5.2.1. Test de DPPH.....	64
5.2.1.1. Mode opératoire.....	65
5.2.1.2. Expression des résultats.....	65
5.2.2. Test de FRAP.....	66
5.2.2.1. Mode opératoire.....	66
5.2.2.2. Expression des résultats. ....	67
5.2.3. Test du blanchissement du $\beta$ -carotène.....	67
5.2.3.1 Mode opératoire.....	67
5.2.3.2. Expression des résultats.....	68
6. Etude <i>in-vivo</i> (toxicité aiguë, activité anti-inflammatoire) .....	68
6.1. Toxicité aiguë.....	68
6.1.1. Notion de toxicité.....	68
6.1.2. Principe.....	69
6.1.3. Mode opératoire.....	69
6.1.4. Effet anti-inflammatoire des huiles essentielles.....	69

<b>Chapitre V : Résultats et discussion</b>	
1. Matériel végétal.....	71
1.1. Taux d'humidité.....	71
1.2. Screening phytochimique .....	72
2. Huiles essentielles .....	75
2.1. Rendement en huiles essentielles .....	75
2.2. Compositions chimiques .....	76
3. Etude de l'activité antibactérienne.....	81
3.1. Activité antibactérienne vis-à-vis les agents antibactériens standards.....	81
3.2. Pouvoir antibactérien des huiles essentielles.....	83
3.2.1. Technique de diffusion en milieu gélosée (méthode de Vincent).....	83
3.2.2. Détermination de la concentrations minimales inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB).....	85
3.2.3. Effets synergiques des antibiotiques et des huiles essentielles.....	87
4. Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles .....	92
4.1. Test de DPPH.....	92
4.2. Test de FRAP .....	94
4.3. Test du blanchissement du $\beta$ -carotène.....	97
5. Etude <i>in-vivo</i> .....	99
5.1. Toxicité Orale Aigüe.....	99
5.2. Activité anti-inflammatoire.....	100
<b>Conclusion.....</b>	<b>106</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>109</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>146</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau n°1</b>	Taxonomie d'espèce d' <i>Artemisia campestris</i> L.....	07
<b>Tableau n°2</b>	Composants principales caractéristique d'huile essentielle d' <i>A campestri...</i>	10
<b>Tableau n°3</b>	Taxonomie d'espèce de <i>Cistus laurifolius</i> L.....	13
<b>Tableau n°4</b>	Classes d'antibiotiques en fonction de leur introduction en clinique, de leurs origines et de leurs mécanismes d'action .....	38
<b>Tableau n°5</b>	Coordonnées géographiques de la récolte des espèces étudiées.....	51
<b>Tableau n°6</b>	Informations générales sur l'analyse effectuée par CPG-SM.....	60
<b>Tableau n°7</b>	Les souches bactériennes de références testées .....	61
<b>Tableau n°8</b>	Résultats du screening phytochimique d' <i>Artemisia campestris</i> .....	72
<b>Tableau n°9</b>	Résultats du screening phytochimique de <i>Cistus laurifolius</i> .....	73
<b>Tableau n°10</b>	Les rendements en huiles essentielles de <i>C. laurifolius</i> et d' <i>A. campestris</i> .....	75
<b>Tableau n°11</b>	Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Artemisia campestris</i> . .....	76
<b>Tableau n°12</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Cistus laurifolius</i> .....	79
<b>Tableau n°13</b>	Résultats de l'activité antibactérienne des antibiotiques exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.....	82
<b>Tableau n°14</b>	Résultats de l'activité antibactérienne des HEs d' <i>A campestris</i> et de <i>C. laurifolius</i> exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.....	83
<b>Tableau n°15</b>	Valeurs des paramètres antibactériens de l'HE d' <i>A. campestris</i> .....	86
<b>Tableau n°16</b>	Valeurs des paramètres antibactériens de l'HE de <i>C. laurifolius</i> .....	86
<b>Tableau n°17</b>	Effet synergique des antibiotiques et de l'huile essentielle d' <i>A. campestris</i> ... ..	88
<b>Tableau n°18</b>	Effet synergique des antibiotiques et de l'huile essentielle de <i>C. laurifolius</i> .. ..	89
<b>Tableau n°19</b>	Valeurs de la concentration efficace 50 (CE <sub>50</sub> ) des huiles essentielles étudiées et de l'acide ascorbique obtenues par le test de DPPH.....	94
<b>Tableau n°20</b>	Valeurs de la concentration efficace 50 des huiles essentielles étudiées et de l'acide ascorbique obtenues par le test de FRAP.....	96
<b>Tableau n°21</b>	Effet anti-inflammatoire de l'HE d' <i>A. campestris</i> sur l'œdème de la patte induit par le carraghénane chez la souris <i>Swiss albinos</i> .....	100
<b>Tableau n°22</b>	Effet anti-inflammatoire de l'HE de <i>C. laurifolius</i> sur l'œdème de la patte induit par le carraghénane chez la souris <i>Swiss albinos</i> .....	102

## Liste des figures

<b>Figure n°1</b>	Aspects botaniques de l'espèce <i>Artemisia campestris</i> .....	06
<b>Figure n°2</b>	Répartition géographique d' <i>Artemisia campestris</i> .....	9
<b>Figure n°3</b>	Aspect botanique de l'espèce <i>C. laurifolius</i> .....	13
<b>Figure n°4</b>	Distribution géographique des Cistaceae dans le monde.....	15
<b>Figure n°5</b>	Structures chimiques de quelques constituants des huiles essentielles .....	19
<b>Figure n°6</b>	Principe de Clevenger de l'hydro distillation .....	24
<b>Figure n°7</b>	Distillation par entraînement à la vapeur d'eau.....	25
<b>Figure n°8</b>	Technique d'hydro diffusion.....	25
<b>Figure n°9</b>	Extraction par micro- ondes.....	27
<b>Figure n°10</b>	Extraction par le CO2 supercritique.....	28
<b>Figure n°11</b>	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie .....	44
<b>Figure n°12</b>	Phases de la réaction inflammatoire .....	47
<b>Figure n°13</b>	Situation géographique de la station de collecte d' <i>Artemisia campestris</i> ..	52
<b>Figure n°14</b>	Situation géographique de la station de collecte <i>Cistus laurifolius</i> .....	52
<b>Figure n°15</b>	Hydro-distillateur de type Clevenger pour l'extraction des HEs.....	58
<b>Figure n°16</b>	Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG-SM).....	60
<b>Figure n°17</b>	Réaction de test DPPH .....	65
<b>Figure n°18</b>	Structure du FRAP et de sa forme réduite .....	66
<b>Figure n°19</b>	Taux d'humidité de l'espèce <i>Cistus laurifolius</i> .....	71
<b>Figure n°20</b>	Taux d'humidité de l'espèce d' <i>Artemisia campestris</i> .....	71
<b>Figure n°21</b>	Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'HE de <i>C. laurifolius</i> .....	92
<b>Figure n°22</b>	Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'HE d' <i>A. campestris</i> .....	93
<b>Figure n°23</b>	Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	93
<b>Figure n°24</b>	Pouvoir réducteur de l'huile essentielle d' <i>Artemisia campestris</i> .....	95
<b>Figure n°25</b>	Pouvoir réducteur de l'huile essentielle de <i>Cistus laurifolius</i> .....	95
<b>Figure n°26</b>	Pouvoir réducteur de l'antioxydant de référence (l'acide ascorbique) .....	95
<b>Figure n°27</b>	Pourcentage de l'activité antioxydante relative des HEs et BHT.....	98
<b>Figure n°28</b>	Le pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte par le diclofénac et l'HE d' <i>A.campestris</i> pendant 6 heures après injection de carraghénane....	101
<b>Figure n°29</b>	Effet de l'HE d' <i>A. campestris</i> sur l'œdème plantaire 6 heures après injection de la carragénine chez la souris.....	101
<b>Figure n°30</b>	Le pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte par le diclofénac et l'HE de <i>C. laurifolius</i> pendant 6 heures après injection de carraghénane..	103
<b>Figure n°31</b>	Effet de l'HE de <i>C. laurifolius</i> sur l'œdème plantaire 6 heures après injection de la carragénine chez la souris.....	103

## Liste des abréviations

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**AINS** : Anti-inflammatoire non stéroïdien

**AIS** : Anti-inflammatoire stéroïdien

**ATCC** : American Type Culture Collection

**ATB** : Antibiotique

**BMR** : Bactérie multirésistante

**BN** : Bouillon Nutritive

**C°** : Degré Celsius (Celsius)

**CE<sub>50</sub>** : Concentration Efficace à 50%

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide

**CPG** : Chromatographie en phase gazeuse

**DL<sub>50</sub>** : Dose Létale 50

**DPPH** : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle

**ERO** : Espèce réactive oxygénée

**FRAP**: Ferric Reducing Antioxidant Power

**GN**: Gelose Nutritive

**g** : gramme

**H.E**: Huile essentielle

**IC** : Ionisation Chimique

**IE** : Ionisation Electronique

**IR** : Indice de Rétention

**ISO:** International Standard Organization

**MHA :** Muller Hinton Agar

**MHB :** Muller Hinton Bouillon

**mL :** milliliter

**mm :** millimètre

**mg :** Milligramme

**OECD:** Organization for Economic Co-operation and Development

**p.c:** Poids corporel

**PI :** Pourcentage d'inhibition

**P/v :** Poids/Volume

**RHE :** Rendement en Huile Essentielle

**SM :** Spectrométrie de Masse

**UFC :** Unité Formant des Colonies

**UI :** Unité Internationale

**UV :** Ultra-Violet

**µL :** Microlitre

**V/V :** Volume par Volume

**V :** Volume

**h :** heurs

# *Introduction*

---

## *Introduction*

---

Les infections nosocomiales connues également sous le nom des infections associées aux soins de la santé, sont devenues des problèmes mondiaux responsables du taux élevé de morbidités et de mortalités dans les hôpitaux (**Benbelaïd et al., 2016**). Il a été rapporté que la cause principale de ces infections réfractaires est la multirésistance des microorganismes pathogènes aux antibiotiques utilisés (**Rosenthal et al., 2012**). De même, la résistance à ces substances chimiques est devenue de plus en plus un problème majeur dans le monde, ce qui a orienté les recherches vers les bioressources naturelles pour trouver des solutions, cette voie est très prometteuse et très efficace pour lutter contre les bactéries résistantes (**Sudano Roccaro et al., 2004**).

Les plantes font partie de la vie quotidienne de l'homme depuis l'antiquité puisqu'elles sont utilisées dans l'alimentation et la santé (**Fellah et al., 2006**). **Zeggwagh et al., (2014)** ; **Jakovljević et al., (2020)** ont indiqué que de nombreuses études menées sur l'efficacité des produits naturels notamment les plantes aromatiques et médicinales en raison de leurs diverses propriétés pharmacologiques. Différentes plantes médicinales contiennent diverses molécules bioactives tels que : les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les caroténoïdes et les stérols (**Mansouri et al., 2005**). Les composés bioactifs seuls ou en combinaison possèdent un effet thérapeutique dans diverses complications des maladies (**Ozcan et al., 2014**). En Algérie, les plantes médicinales traditionnelles ont été décrites comme sources de précieux composés bioactifs (**Ziani et al., 2018**). D'après **OMS, (2013)** la médecine traditionnelle couvre les besoins en soins de santé primaire de 80 % de la population mondiale.

Selon **Angell et Kassirer, (1998)** et **Slifman et al., (1998)** la médecine traditionnelle comporte un certain nombre de risque incluant la toxicité de certaines plantes et l'interaction des plantes avec les médicaments de synthèse ou avec d'autres produits naturels, pouvant occasionner par conséquent, des effets secondaires néfastes. Cependant, certaines espèces contiennent des principes actifs qui peuvent être extrêmement efficaces, alors que d'autres sont toxiques à faible dose. L'utilisation exclusivement des plantes ne signifie pas qu'elles ne sont pas sans danger (**Iserin et Vican, 2001**), une plante sur dix est vénéneuse (**Franz-Xaver, 2010**). **Snoussi et al., (2003)** ont indiqué que l'Algérie, par sa gamme de climats très variée et sa situation géographique, possède un ensemble considérable d'espèces naturelles représentant un patrimoine phytogénétique de très grande importance grâce à leur mode de répartition spatiale et leur rôle dans l'équilibre écologique.

La valorisation de ces ressources est devenue indispensable. A cet effet, nous nous sommes intéressés à l'étude de deux espèces poussant à l'état spontané dans notre pays, à

## *Introduction*

---

savoir, *Artemisia campestris* L. et *Cistus laurifolius* L. Les huiles essentielles sont connues comme composés non phytotoxiques ayant une activité potentielle contre les microorganismes, sauf lorsqu'elles sont utilisées de manière inappropriée où elles peuvent en conséquence avoir un effet nocif même sur la santé humaine (**Mizanur-Rahman et al., 2013**). En effet, les huiles essentielles sont utilisées comme nouvelles sources alternatives naturelles (**Rahman et al., 2011**) ; grâce à leurs propriétés anticancéreuses, antinociceptives, antidiabétiques, antivirales, antibactériennes et antioxydantes (**Luciardi et al., 2016**). Cependant, l'identification des constituants bioactifs des plantes médicinales est indispensable pour assurer la fiabilité de la recherche biologique et la répétabilité ainsi que pour assurer le contrôle qualité sur les avantages pharmacologiques et/ou dangereux (**Wu et al., 2013 ; Ziani et al., 2018**).

Selon **Ghaleb et al., (2008)** et **Olajuyigbe et al., (2012)** la synergie de l'huile essentielle avec les antibiotiques est une approche thérapeutique qui peut conduire à un nouvel procédé de traiter les maladies infectieuses. **Roberts et Sindhu (2009)** ont démontré que le stress oxydatif est un autre problème majeur de santé publique, suscite énormément d'attention, se définissant comme un déséquilibre entre le système pro-oxydant et antioxydant dans l'organisme. Il est provoqué par une surproduction de radicaux libres en impliquant le développement de certaines pathologies humaines différentes tels que : l'athérosclérose, le cancer, les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives, le diabète, les rhumatismes et le vieillissement prématuré de la peau.

Le traitement de l'inflammation nécessite aujourd'hui des anti-inflammatoires stéroïdiens et des médicaments non stéroïdiens. Parallèlement, bien que ces substances soient le plus souvent efficaces, elles peuvent présenter des effets indésirables pouvant interférer avec leur utilisation à long terme tels que : la toxicité hépatique, urinaire, les maladies gastro-intestinales et l'inhibition de l'agrégation plaquettaire (**Batlouni, 2010**). Pour cette raison, il est nécessaire de discerner des médicaments anti-inflammatoires alternatifs ayant moins d'effets secondaires pour être utilisés dans le traitement des inflammations particulièrement chroniques.

Le présent travail s'inscrit dans cette perspective a pour objectifs d'approfondir les connaissances sur les espèces *Artemisia campestris* et *Cistus laurifolius* et à les valoriser par l'évaluation des activités antibactériennes, l'effet synergique, l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de leurs huiles essentielles ainsi que leur toxicité afin s'assurer de leur innocuité.

## *Introduction*

---

Notre étude est structurée en deux parties : la première partie est consacrée à une synthèse bibliographique répartie sur trois chapitres. Le premier est consacré à la description botanique des deux espèces végétales étudiées, le deuxième chapitre aborde des généralités sur les huiles essentielles, tandis que le troisième chapitre s'intéresse aux activités biologiques des huiles essentielles et particulièrement l'activité antibactérienne, antioxydante et anti-inflammatoire.

La partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres : le premier (quatrième chapitre) présente le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail, à savoir

- Screening phytochimique des parties aériennes des plantes sélectionnées ;
- Extraction des huiles essentielles des deux espèces par la méthode d'hydrodistillation
- Identification des composés chimiques des huiles essentielles par CPG-SM ;
- Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles par la méthode d'aromatogramme, CMI et CMB.
- Etude de l'effet synergique des huiles essentielles étudiées avec les antibiotiques standards.
- Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles par le test de DPPH, de FRAP et du blanchissement du  $\beta$ -carotène.
- Etude pharmacologique *in-vivo* des huiles essentielles par évaluation de leurs toxicités aiguës et leurs activités anti-inflammatoires par le test de l'œdème plantaire induit par injection de la carragénine.

Le second (cinquième chapitre) est réservé à la présentation et la discussion de l'ensemble des résultats obtenus.

Le manuscrit est achevé par une conclusion générale qui résumera l'ensemble des résultats obtenus.

*Revue  
bibliographique*

---

# *Chapitre I*

---

*Espèces végétales étudiées*

**1. La famille des Asteraceae**

Les Astéracées (anciennement appelées composées ou plus rarement composacées) sont une famille appartenant aux dicotylédones comprenant plus de 1500 genres et plus de 23000 espèces dont 750 endémiques, c'est la famille la plus importante des Angiospermes. Elle présente des caractères morphologiques divers : herbes vivaces, plus rarement des arbustes, arbres ou plantes grimpantes et quelques fois plantes charnues. De même, l'appareil végétatif est trop variable pour caractériser les Astéracées. Cette famille est très homogène au niveau de ses inflorescences qui sont très caractéristiques, tel que le capitule **(Benamara, 2015)**.

**1.1. Le genre *Artemisia***

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées l'une des plus grandes familles. Il a été démontré que le genre *Artemisia* regroupe plusieurs petites herbes et arbustes **(Abad et al., 2012)**, et selon la littérature il comprend un grand nombre d'espèces près de 200 à 400 retrouvé dans toute la moitié nord du monde **(Salido et al., 2004)**. *Artemisia*, *Santolina*, *Centaurea* et *Chrysanthemum*...etc, sont considérés parmi les genres les plus importants **(Dob et Benabdelkader 2006)**. Selon **Boukhalkhal et al., (2018)** environ onze espèces d'*Artemisia* peuvent être trouvées en Algérie. Également **Tang et al., (2000)** ; **Houari et Ferchichi (2009)** ; **Akrout et al., (2010)** ont montré que le genre *Artemisia* est riche en composés biologiquement actifs et les recherches phytochimiques ont prouvé que ce genre contient principalement les monoterpènes et les sesquiterpènes. Ainsi que les industries pharmaceutiques ont exploité de nombreux composés extraits de différentes espèces de l'armoise **(Chier et al., 2002)**. Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques et non seulement utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique **(Mirjalili et al., 2007)**.

**1.2. *Artemisia campestris* (Armoise rouge)**

La plante d'*Artemisia campestris* est un arbuste aromatique **(Chalchat et al., 2003)**. Cette espèce est assez commune sur les sols siliceux et les bords des rivières jusqu'à 1500 m **(Le Floc'h, 1983)**. Le terme « Armoise » dérivé du latin *Artemisia* qui désignait chez les Romains et leur Grecs l'armoise commune, dédiée à Artémis en raison de son usage médical en gynécologie **(Francois, 2012)**.

### 1.3. Description morphologique (botanique)

*Artemisia campestris* est une plante spontanée, sous-arbrisseau vivace, forme des touffes ou des buissons ramifiés de 20 à 80 cm de haut, ses rameaux sont rougeâtres et ses feuilles vert foncé ainsi que ses petites fleurs jaune vert se réunissent en grappes au sommet de la plante et aux aisselles des feuilles supérieures (**Zeguerrou, 2010**).

- **Feuilles:** elles sont vertes ou vert-brunâtre, divisées en fines lanières; feuilles deux fois divisées, les supérieures sessiles, les inférieures pétiolées (**Boudjouref, 2011**).
- **Fleurs :** elles sont jaunâtres et sont réunies en de nombreux capitules très petits, ovoïdes; involucre et réceptacle glabres ; fleurs du centre du capitule stériles ou hermaphrodites, celles de la périphérie généralement unisexuées et femelles; étamines à anthères prolongées en pointe à leur sommet. La floraison a lieu du mois d'aout au mois d'octobre (**Boudjouref, 2011**).
- **Fruit :** c'est un akène ovoïde dépourvu de pappus (**Kreitschitz et Vallès, 2007**).



**Figure n°1.** Aspects botaniques de l'espèce *Artemisia campestris* L (**Bertella, 2019**).

### 1.4. Taxonomie

*Artemisia campestris* L. appartient à la famille des Astéracées, tribu des Anthemideae et du genre *Artemisia*, qui contient plus de 350 espèces (**Mabberley, 1998**). La classification qu'occupe *Artemisia campestris* L. dans la systématique est la suivante (tableau n°1) (**Quezel et Santa, 1963 ; Dupont, 2004**).

Tableau n°1. Taxonomie d'espèce d'*Artemisia campestris* L.

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Embranchement</b>	Phanérogames ou Spermaphytes
<b>Sous-embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Eudicots
<b>Sous-classe</b>	Astérides
<b>Ordre</b>	Asterales
<b>Famille</b>	Astéracées
<b>Genre</b>	<i>Artemisia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Artemisia campestris</i> L.

Noms vernaculaires :

- Noms français : Armoise rouge, Armoise champêtre, Armoise des champs.
- Noms anglais: Field Wormwood, Field Sagenort, Field Sagewort.
- Noms Arabe : degoufet, Taguq, tguft, Tadjuq, tedjok Alala, allala (**Benchelah et al., 2004 ; Boudjlal et al., 2013 ; Elbidi, 2016**).
- Nom scientifique : *Artemisia campestris* L. (**Quezel et Santa, 1963**).

### 1.5. Distribution et Habitat

D'après **Pirini Chrisoula et al., (2014)** cette plante également pousse dans les prairies sèches dans une grande partie de l'Europe central et méridionale. L'espèce d'*A. campestris* est prédominée dans les régions arides des pays d'Afrique du Nord : Algérie (**Noumi et al., 2010**), Maroc (**Rebbas et Bounar, 2014**), Libye (**Fakchich et Elachouri, 2014 ; El-Mokassabi 2014**) et Tunisie (**Kawada et al., 2012 ; Saadaoui, 2014**). *A. campestris* accompagne la végétation dominante des prairies xérophiles en république Tchèque (**Novak et Konvicka, 2006**) ainsi pousse sur des sols graveleux près des rivières en Italie (**Guarino et al., 2008**). **Abad et al., (2012)** ont démontré que le genre *Artemisia* se trouve dans les régions tempérées du Nord. L'armoïse rouge est très fréquente en zone aride et semi-aride (**Quezel et Santa, 1963**).

**1.6. Usage**

L'espèce d'*A. campestris* est utilisée par les populations du Sud Algérien pour calmer les troubles digestives, les douleurs abdominales ainsi les nausées. Par conséquent, les HEs de cette plante ont une activité antifongique et antibactérienne (**Akrout et al., 2007**). Selon **Baba Aissa, (1991)** la partie aérienne de cette plante a été employée dans la médecine traditionnelle depuis de nombreuses années particulièrement contre les troubles digestifs, ulcère gastrique et douleurs menstruelles. Les feuilles d'*Ariemisia campestris* sont la partie la plus utilisées dans la médecine traditionnelle comme anti-venin, anti-inflammatoire (**Le Floc'h, 1983**). D'après **Ferchichi et al., (2006)** l'usage des feuilles pour soigner les règles irrégulières ou pour l'accouchement est sous forme de décoction. Elles cicatrisent les plaies et les brûlures si en usage externe. Cette espèce est exercée contre la crampe d'estomac, calme les douleurs de l'angine, les morsures des serpents et scorpions (**Zeguerrou, 2010**). Cette espèce est caractérisée avec de nombreuses propriétés qui couvrent un large éventail d'applications particulièrement en tant qu'antifongique, insecticide, anti-oxydant, antibactérien, antitumoral, antimutagène, anthelminthique et anti-hypertenseur (**Dib et al., 2017**). **Dob et al., (2005)** ; **Djeridane et al., (2007)** ont trouvé qu'en médecine populaire arabe *A. campestris* a été adoptée aussi comme fébrifuge, vermifuge, anti-cancéreux, contre les troubles digestifs, l'ulcère gastrique et les douleurs menstruelles.

**1.7. Répartition géographique****1.7.1. Dans le monde**

Il a été rapporté que le genre *Artemisia* se trouve autour du monde, pousse spontanément dans l'hémisphère nord. Ainsi cette espèce existe dans toute l'Europe, à l'exception des zones arctiques et de la plupart des îles : Baléares, Corse, Sicile, Crète, Irlande, Islande, Spitzberg, aussi en Sibérie, en Asie occidentale et au Maghreb (**Berrouane, 2014**).

**1.7.2. En Algérie**

Dans l'Algérie l'espèce d'*A. campestris* a une répartition inégale : assez bien représentée dans le sud et l'ouest, elle est plus rare dans les montagnes de l'est et plus encore dans le nord-est (**Berrouane, 2014**). Onze espèces ont été recensées dans la flore de l'Algérie (**Berrouane, 2014**).

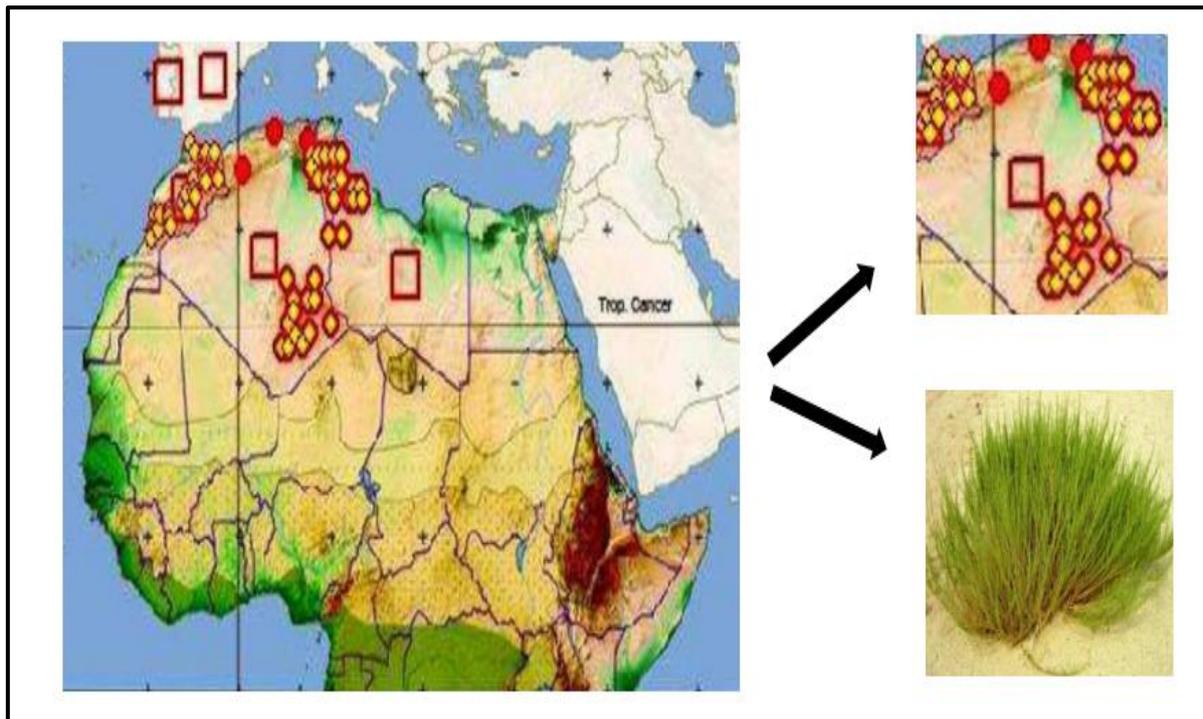


Figure n°2. Répartition géographique d'*Artemisia campestris* L (CJB et SANBI, 2012).

### 1.8. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris*

Plusieurs travaux ont prouvé que la composition des huiles essentielles d'*A. campestris* est très variée. D'abord les premiers travaux effectués par **Goven, (1963)** en Turquie montrent que le constituant principale d'HE est l' $\alpha$ -pinène (21 %) suivie par  $\beta$ -pinène (12 %), 1,8-cineole (8 %), thujone (4 %), Alcool thujyl (15 %) et géraniol (13 %). Une étude réalisée en Italie par **Silvestre et al., (1999)** sur la composition de l'huile essentielle de cette plante a mis en évidence le composé majoritaire  $\alpha$ -pinène (15.3 %) suivie par  $\beta$ -pinène (9.80 %), oxyde caryophyllène (18.2 %), Spathuléol (9.3 %), limonène (4.9 %) et 1,8-cineole (5.2 %).

De même, d'autres travaux ont démontré que les constituants les plus abondants des HES chez l'*A. campestris* sont :  $\gamma$ -terpinène, capillène, 1-phenyl-2,4-pentadiyne, spathulenol, méthyleugenol, *p*-cymène et  $\beta$ -pinène (**Akrout et al., 2001**). Une étude indique que le composé primordial de cette HE est : Z-E farnesol (10.3 %) suivie par cedrol (5.4 %) et verbenone (3.8 %) selon **Dob et al., (2005)**. En outre, de nombreux travaux effectués sur quatre régions différentes de Tunisie ont révélé que le composant principale de l'HE d'*A. campestris* est le  $\beta$ -pinène (24% à 49.8 %) suivie par  $\alpha$ -pinène (5.9 % à 12.5 %), *p*cymene (3.4 % à 9.4 %) et le limonène (4.9% à 9.3 %) (**Akrout et al., 2007**).

Tableau n°2. Composants principales caractéristiques d'huile essentielle d'*A. campestris*.

Composants principales	Pays	Régions	Référence
- $\alpha$ -pinène (41.1 %) - $\beta$ -pinène (34.2 %) - $\beta$ -pinène (41.8 %) - $\beta$ -pinène avec des taux allant de 24.2 à 27.9 %.	Tunisie	- Ben Guerdane - Beni-Khedache  - BenGuerdane, Benikhdache, - Djerba - Tataouine	(Neffati <i>et al.</i> , 2008) (Akrouit <i>et al.</i> , 2011)  (Akrouit <i>et al.</i> , 2010)
- (Z, E) -Farnésol (10.3 %) - Cédrol (5.4 %) - $\alpha$ -pinène (18.4 %) - $\beta$ -pinène (26.6 %) - $\beta$ -pinène (25.6 %)	Algérie	-Bou Saada  -Djbel Amour -Oum El Bouaghi	(Dob <i>et al.</i> , 2005)  (Belhattab <i>et al.</i> , 2011) (Bakhchiche <i>et al.</i> , 2013) (Bakhchiche <i>et al.</i> , 2014)
- Spathuléol (13.13 %) et $\beta$ -pinène (11.92 %) - Spathuléol (10.19 %)	Maroc	-Figuig	(Dib <i>et al.</i> , 2017c)  (Dib <i>et al.</i> , 2017b).
- Germacrène D (24.2 %)	Pologne	- Lodz	(Lis et Kowal, 2015)
- 1,2-dihydro acénaphthylène avec des quantités allant de 30.5 à 77.3 %, sauf un seul qui contenait 1 ,2-dihydro acénaphthylène (30 %) et $\beta$ -pinène (30.5 %). - 1,8 cinéole (19.2 %) et spathuléol (18.7 %).	Italie	- Alexandrie, Ravenne et Rovigo  - Piémont	(Bellomaria <i>et al.</i> , 2001)  (Mucciarelli <i>et al.</i> , 1995).
- Terpinène (46.5 %)	France	- Camargue	(Juteau <i>et al.</i> , 2002)
-spathuléol (9.2 %) et $\beta$ -pinène (9.1 %).	Serbie	- Voïvodine	(Chalchat <i>et al.</i> , 2003).
- $\beta$ -pinène (17.8 %)	Portugal	- Aveiro	(Silvestre <i>et al.</i> , 1999).
-Germacrène D avec un taux variant de 9.8 à 31. 2 %. - Spathuléol (9.7 %)	Lituanie	/	(Judzentiene et Budiene 2014).

**1.9. Propriétés thérapeutiques de cette plante**

Les parties essentielles de la plante ayant des vertus sont les suivants : les tiges, les feuilles et les inflorescences (**Escuder, 2007**). Il a été démontré d'après **Ferchichi et al., (2006)** que les populations du sud Algérien l'utilisent pour calmer les troubles digestives, les douleurs abdominales, les nausées. Ainsi qu'elle est appliquée en décoction pour les règles irrégulières ou pour l'accouchement. En usage externe, elle cicatrise les plaies et les brûlures. Les huiles essentielles de cette plante ont une activité antibactérienne et antifongique d'après (**Akrout et al., 2007**). Cette plante appliquée traditionnellement pour traiter les troubles digestives (**Ould Hadj Didi et al., 2003**), de même détruire les parasitoses intestinales et récemment des études ont été faites sur ces extraits afin de tester leur efficacité vis-à-vis les cellules cancérigènes du colon (**Akrout et al., 2011**). Selon **Erel et al., (2012)** le pouvoir antiseptique, antimicrobien, antifongique et antiparasitaire de l'armoise rouge ont contribué à leur application dans de nombreux domaines.

D'après **Al-Snafi (2015)** cette espèce possède aussi d'autres activités tels que ; les activités cytotoxiques, insecticides, antipoisons, anti venineux et antidiabétiques. L'espèce d'*A. campestris* est caractérisée par des propriétés antibactériennes et antifongiques. Selon **Won et al., (2007)** l'extrait aqueux des racines d'*A. campestris* possède des potentiels antifongiques. De plus, cette plante est employée dans le traitement de fébrifuge, vermifuge et elle est adoptée comme agent anticancer et antitumeur (**Djeridane, 2007**). Il a été montré selon **Dob et al., (2005)** et **Sefi et al., (2010)** que cette plante est très répandue dans toutes les régions présahariennes de l'Algérie en usage locale, elle est très efficace pour traiter les troubles digestives, les ulcères, les douleurs menstruelles et dans le traitement de diabète. Les parties aériennes sont utilisées dans le traitement des brûlures, des diarrhées, des morsures de serpent, des piqûres de scorpions, de l'eczéma, de la gastroenterites, de la dysenterie, du rhumatisme, ainsi que pour traiter les infections urinaires, la fièvre et la toux (**Ben Sassi et al., 2007**). De plus cette espèce est riche en composés dotés d'activité antioxydante tels que : les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins (**Bruneton,1999**).

**2. Famille des Cistacées**

La famille des cistaceae (cistacées) est une grande famille constituée des plantes dicotylédones, environ 175 espèces sont réparties en 8 genres distribués dans les zones tempérées de l'hémisphère nord et dans le sud du continent américain. Également la grande biodiversité de cette famille se situe dans le bassin méditerranéen (**Joulain et Koing ; 1998 ; Davies ; 1990**). Dans cette famille le genre *Cistus* est dominant avec plus de 25 espèces,

certaines sont endémiques et d'autres distribuées partout dans le monde. Il a été montré que l'abondance des espèces de ce genre se trouve principalement dans la partie Est de la méditerranée et le Nord-Est de l'Afrique, par conséquent cette répartition suit les conditions climatiques et edaphiques (Adams ,1995 et Brand-Williams et al., 1995). Les espèces les plus abondantes du bassin sont : *C. monspeliensis*, *C. ladaniferus*, *C. salviifolius*, *C. laurifolius* et *C. albidus* (Molyneux, 2004).

Les plantes du genre *Cistus* se trouve se forme des arbustes, sous arbustes ou des plantes herbacées pérennes qui poussent dans les endroits ensoleillés sur des sols calcaires et siliceux. Elles sont pionnières des environnements dégradés résultant d'une perturbation humaine tels que incendies, débroussaillments, etc.). Le feu stimule la germination des cistes, ces espèces sont les premières à apparaitre après les incendies (Cos et al., 2006 ; Mighri et al., 2010). D'après Awadh Ali et al., (2001) les feuilles des cistes sont simples, opposées sans stipule, ovales, oblongues ou lancéolées de couleurs vertes, les fleurs sont hermaphrodites réunies en inflorescence ou solitaires avec trois à cinq sépales, les pétales (au nombre de cinq) sont de couleurs allant du blanc au violet et au rose foncé avec une tache rouge foncé bien visible à la base de chaque pétale chez quelques espèces, les étamines sont nombreuses et libres, le gynécée est formé par un ovaire de trois à cinq carpelles, le stigmate est capité ou discoïde, le fruit est sous forme d'une capsule de 2 à 10 loges et valves puis les graines sont plusieurs généralement petite ayant des formes de tétraèdres ou subtrigones.

### **2.1. Le genre *Cistus***

Le mot « Ciste » signifie la francisation de *cistus* ; désignait ces arbrisseaux en latin. Le nom *cisthos* ou *kistos* provient du grec *Kiste* qui évoque la forme des fruits. En France les deux plus répandues sont le ciste à feuilles de sauge (*C. salviaefolius*) et le ciste de Montpellier (*C. monspeliensis*) (Francois, 2012). Size espèces caractéristiques du genre *Cistus* sont particulièrement prédominantes dans la végétation méditerranéenne (Talavera et al., 1993).

### **2.2. *Cistus laurifolius* (le Ciste à feuilles de laurier)**

### **2.3. Description morphologique (botanique)**

Selon Garnier (2013) l'espèce de *C. laurifolius* (ciste à feuilles de laurier) est un arbuste persistant de 1-2 mètre, elle se caractérise par des fleurs blanches tachetées de jaune avec 3 sépales.

- **Feuilles** : elles sont ovales lancéolées à une longueur de 40-90 mm avec largeur de 17-30 mm pubescentes, bases obtuses, marges entières et pétiolées pubescent. D’après **Garnier (2013)**, les feuilles soyeuses en dessous à l’état jeune et sont douées d’une odeur très puissante.
- **Fleurs** : elles sont blanches tachetées de jaune (**Garnier, 2013**) ayant 3 sépales ovales lancéolées à une longueur de 13-18 mm, tomenteux, 5 pétales obovaires et blancs à une longueur de 20-30 mm.
- **Fruits** : ils sont caractérisés par des capsules ovoïdes à une longueur de 9-12 mm.



**Figure n°3.** Aspect botanique de l’espèce *C. laurifolius* (**Çolak ÖF et al., 2017**).

**2.4. Taxonomie**

La classification de l’espèce *C. laurifolius* dans la systématique est illustrée dans le tableau suivant (**Guignard, 2001**).

**Tableau n°3.** Taxonomie d’espèce de *Cistus laurifolius* L.

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous-embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Eudicots ou Eudicotylédones
<b>Sous-classe</b>	Rosidées (Eurosidées II)
<b>Ordre</b>	Malvales
<b>Famille</b>	Cistaceae
<b>Genre</b>	<i>Cistus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Cistus laurifolius</i>

Noms vernaculaires :

En français : Ciste

Nom commun : Agullîd (**Ouafae et al., 2014**).

En Arabe : Honzlo, Elwerd.

## **2.5. Distribution et Habitat**

L'espèce *C. laurifolius* est une plante pérenne qui pousse dans les zones ensoleillées principalement sur des sols calcaires et siliceux avec des pH variant entre « 3.6 et 6.2 » et un taux en matière organique allant de « 0.46 à 6.96 % » (**Demetzos et al., 1995**). Par conséquent la germination des cistes est inhibée par un pH basique et sa température optimale est relativement basse (17°C), ainsi que les téguments des semences sont très imperméables à l'eau et la germination est stimulée par le feu (**Nunez-Olivera et al., 1996 ; Robles et al., 2000**).

## **2.6. Usage**

Pour un effet thérapeutique les espèces de ciste ont été utilisées contre la fièvre élevée, les douleurs rhumatismales, l'ulcère gastro-duodéal, les maux d'estomac, les inflammations urinaires, le froid, les plaies, la constipation, les insolations et les hémorragies dans la médecine populaire turque (**Yeşilada et al., 1995 ; Fujita et al., 1995 ; Honda et al., 1996 ; Sezik et al., 1997 ; Sezik et al., 2001**). Il a été démontré qu'une association des graines de *Cistus laurifolius* et celles de *Hordeum vulgare* et *Thymus saturoides* en poudre est administrée par l'eau contre le diabète (**Ouafae et al., 2014**).

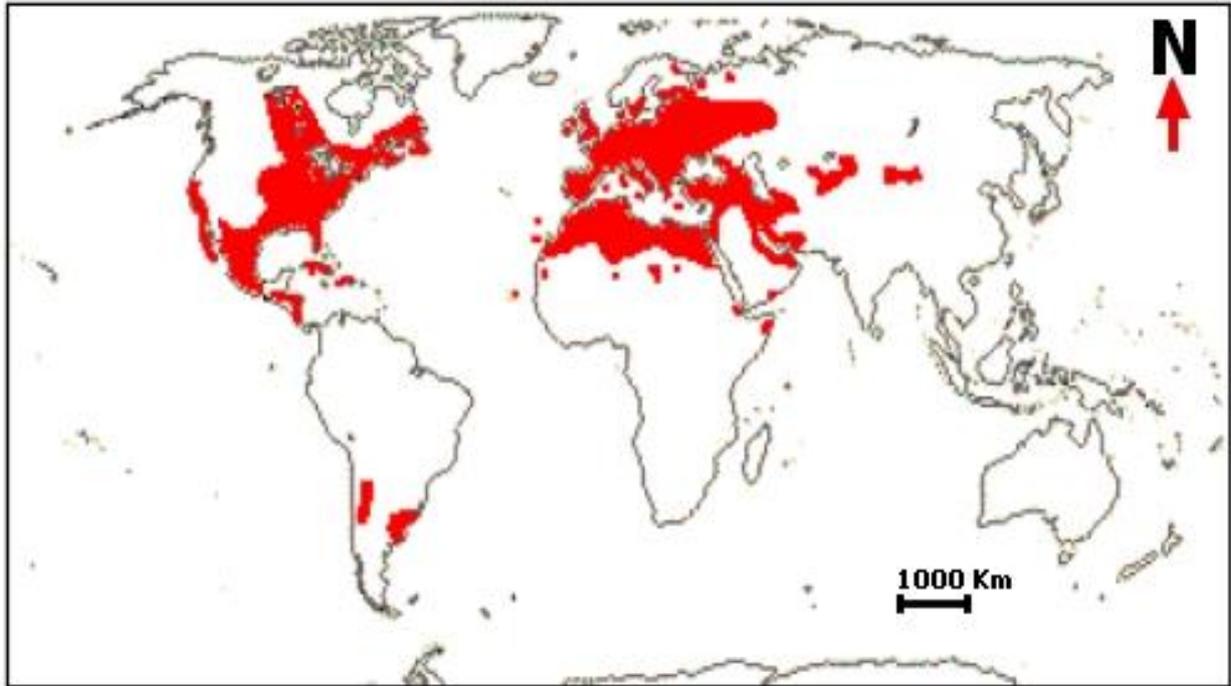
## **2.7. Répartition géographique**

### **2.7.1. Dans le monde**

**Comandini et al., (2006) ; Catoni et al., (2012)** ont indiqué que les espèces de cistes (famille des Cistacées) sont vivaces, dicotylédones arbustes à fleurs en blanc ou rose selon l'espèce. Croissance naturelle en Europe principalement dans la région méditerranéenne et en Afrique occidentale et Asie. Alors que ces plantes sont capables de pousser dans des conditions difficiles, conditions climatiques et pédologiques (**Thanos et al., 1988 ; Aronne et al., 2001**). Europe (Espagne, Portugal, sud France, Italie, Grèce), Afrique (Algérie, Maroc), Asie (Turquie).

### 2.7.2. En Algérie

Le ciste est réparti partout sur le tell et le littoral, dans les forêts, broussailles, coteaux secs, terrains siliceux, rocaillieux et calcaires (**Beniston et al., 1984**).



**Figure n°4.** Distribution géographique des Cistaceae dans le monde (**Rivas-Martinez 1979**).

### 2.8. Composition chimique

Il a été rapporté que différents composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes, proanthocyanidines) et terpènes ont été isolés des espèces du genre Ciste et ces composants disposent de plusieurs vertus thérapeutiques (**Barrajón-Catalán et al., 2010 ; Tomás-Menor et al., 2010**).

### 2.9. Propriétés thérapeutiques de *Cistus laurifolius*

Cette plante présente des effets anti-inflammatoire, antifongiques, antiviral, gastro-protecteur, antitumoral et prévient des maladies cardiovasculaire (**Pomponio et al., 2003**). Plusieurs études antérieures *in-vitro* et *in-vivo* ont démontré que les espèces de Cistus possèdent des propriétés antivirales, antidiabétique, antioxydante, antimicrobienne et anti-inflammatoire (**Kalus et al., 2009 ; Akkol et al., 2012**).

# *Chapitre II*

---

## **Les huiles essentielles**

**1. Les huiles essentielles****1.1. Définition**

Le terme « huile essentielle » inventé au 16<sup>ème</sup> siècle par le médecin Suisse Parascelsus Von Hohenheim désigne le composé actif d'un remède naturel (**Burt, 2004**), les HEs sont nommées aussi "essences" ou "huiles volatiles" (**Chouitah, 2012**). Selon **Wichtel et Anthon, (1999)** les HEs sont des substances huileuses, volatiles, d'odeur et de saveur généralement fortes, extraites à partir des différentes parties des plantes aromatiques, par différentes méthodes. La norme française AFNOR NF T75-006 définit les HEs comme un produit obtenu à partir d'une matrice végétale soit par entraînement à la vapeur soit par des procédés mécaniques et qui sont séparées de la phase aqueuse par procédés physiques (**Garnero, 1996**). Il a été rapporté que les HEs sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils lipophiles et souvent liquides et extraites à partir des plantes par hydrodistillation et par expression à froid ou par entraînement à la vapeur (**Laib, 2011 ; Guinoiseau et al., 2015**). Elles sont stockées dans des tissus végétaux spécialisés de différentes parties des plantes (Fleurs, feuilles, bois,) (**Benini et al., 2010**) et caractérisées par une odeur accentuée (**Sbayou et al., 2014**). **Evan et Tree (2002)** indiquent que les HEs sont des mélanges de nombreux composés qui sont des molécules peu complexes comme les terpènes, les phénols, les méthyl-éthers, les oxydes, les esters et les cétones. Elles possèdent plusieurs activités biologiques caractéristiques telles que : activité antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoire, antioxydante, antitumorale et anti-génotoxique (**Sbayou et al., 2014 ; Guinoiseau et al., 2015**).

**1.2. Composition chimique des huiles essentielles**

Les HEs sont des mélanges complexes renferment des constituants appartenant à deux groupes de molécules : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part beaucoup moins fréquente. Les constituants des HEs sont génériquement dits « aromatiques » en raison de leur caractère odoriférant (**Bruneton, 1999**). De même **Senatore (1996)** montre que plus de 60 molécules différentes peuvent entrer dans la composition chimique d'une HE. Les principaux constituants majeurs peuvent représenter, à eux seuls, plus de 85% de l'HE alors que d'autres composés existent à l'état de traces.

Selon le nombre d'unités isopréniques qui groupent les composés terpéniques, il est distingué :

**1.2.1. Terpènes (terpénoïdes ou isoprénoïdes)**

Selon **Bakkali et al., (2008)** les terpènes aussi connus sous le nom isoprène ou terpénoïdes et isoterpénoïdes lorsqu'ils contiennent de l'oxygène. Ils sont considérés comme le plus grand groupe de composés naturels avec plus de 30000 structures connues (**Dubey et al., 2003 ; Theis et Lerdau, 2003**). Les terpènes sont formés d'une combinaison de nombreux unités isoprènes (C<sub>5</sub>) et forment plusieurs classes en fonction de leurs structures et fonctions chimiques. Les principaux terpènes sont les monoterpènes (C<sub>10</sub>), diterpène (C<sub>20</sub>), triterpène (C<sub>30</sub>) et tétraterpène (C<sub>40</sub>) peuvent aussi exister. En effet, le groupe de terpène des HEs est souvent représenté par les monoterpènes, sesquiterpènes et les diterpènes (**Dorman et Deans, 2000**) ainsi que leurs dérivés oxygénés tels que les alcools, aldéhydes, esters, phénols et cétones (**Rahman et al., 2016 ; Pudziuvelyte et al., 2017**). Également ces composés sont responsables de l'odeur et des activités biologiques des HEs (**Soković et al., 2007**).

**Les monoterpènes**

Le groupe des monoterpènes est formé de deux unités isoprènes (**Carson et Hammer, 2011**), ce sont les molécules les plus représentatives des HEs et constituent 90 %, approximativement 1500 monoterpénoïdes ont été décrits (**Breitmaier, 2006**) ils permettent de générer une variété de structure possèdent plusieurs fonctions telles que : les carbures (myrcène, terpinène et camphène), alcools (geraniol, menthol et bornéol), aldéhyde (geranial, néral et citronellal) cétones (tégetone, menthone et camphre), esters (linalil acétate, menthyl et isobornyl acéate), éthers (1.8-cinéole et menthofurane), peroxydes (ascaridole) et phénols (thymol et carvacrol) (**Bakkali et al., 2008**).

**Les sesquiterpènes**

Les sesquiterpènes forment le deuxième groupe le plus fréquent des HEs, après les monoterpènes. De plus ils sont formés à partir de la combinaison de trois unités d'isoprène, ayant pour formule moléculaire C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>. Les sesquiterpènes constituent un groupe structurellement divers, tous issus du farnésyl pyrophosphate par divers processus de cyclisation suivis de réarrangements squelettiques (**Croteau et al., 2000**). Ils sont les plus structurellement diversifiés parmi les terpénoïdes présents dans les HEs, avec plus de 120 types squelettiques différents. Ils peuvent être linéaires, ramifiés ou cycliques (**Carson et Hammer, 2011**). Le cadinène, germacrone et curcumène sont les principaux sesquiterpènes des HEs (**Bakkali et al., 2008**).

**Les diterpènes**

La majorité de groupe des diterpènes des HEs est formé par la combinaison de quatre unités d'isoprène suivies d'un réarrangement ou de substitutions. Les diterpènes sont des composants très communs et importants des résines végétales (**Langenheim, 2003**) mais se retrouvent également en petites quantités dans de nombreuses HEs. Ils ont la formule moléculaire générale  $C_{20}H_{32}$  et sont donc beaucoup plus lourds que leurs équivalents mono- et sesqui-terpénoïdes. Par conséquent, leur masse moléculaire plus élevée par rapport aux mono- et sesquiterpènes (**Carson et Hammer, 2011**).

**Les norterpènes**

Le groupe des caroténoïdes ( $C_{40}$ ) sont une classe de terpènes supérieurs basée sur huit unités d'isoprène et sont importants chez les plantes pour plusieurs raisons, notamment leur rôle dans la photosynthèse (**Hirschberg, 2001**). Il a été rapporté qu'ils sont pertinents pour les huiles car, lorsque leur épine dorsale de carbonel est clivée, généralement par oxydation, ils produisent une gamme de plus petits composés appelés apocaroténoïdes (**Auldridge et al., 2006 ; Kloer et al., 2006**). Le groupe d'apocaroténoïdes le plus répandu survient lorsque les caroténoïdes sont clivés à la position 9-10, produisant des produits  $C_{13}$  appelés norterpénoïdes ou norisoprénoïdes. Par conséquence, ce sont des composants mineurs importants de certaines HEs, contribuant particulièrement à l'arôme et à la saveur (**Auldridge et al., 2006 ; Rodríguez-Bustamante et Sánchez, 2007**).

**1.2.2. Phénylpropanoïdes**

Il a été rapporté que les phénylpropanoïdes se retrouvent moins souvent dans les HEs et moins souvent que les terpénoïdes (**Sangwan et al., 2001 ; Clifford, 2000 ; Bakkali et al., 2008**). Certaines des HEs contenant des phénylpropanoïdes à des proportions significatives, comme l'eugénol dans l'huile de clou de girofle présente 70 à 90 % de l'HE (**Carson et Hammer, 2011**). Les phénylpropanoïdes sont plus fréquentes chez les familles de plantes dans lesquelles sont les Apiaceae (Umbelliferae), les Lamiaceae, les Myrtaceae (**Chaieb et al., 2010**), les Piperaceae (**Martins et al., 1998**) et les Rutaceae (**Ghisalberti, 1998**). Selon **Martins et al., (1998) ; Clifford (2000) ; De Morais et al., (2007)** les phénylpropanoïdes importants comprennent les acides hydroxycinnamiques, l'anéthole, le chavicol, l'eugénol et leurs dérivés méthylés, l'estragol (méthyl chavicol) et le méthyleugénol, ainsi que le cinnamaldéhyde largement distribué.

### 1.2.3. Composés soufrés et azotés

Il a été démontré que certains composés sont plus rarement présents dans les HEs, contiennent une ou plusieurs molécules de soufre ou d'azote. Particulièrement la présence de soufre confère une odeur souvent forte et caractéristique (Boelens, 1996 ; Goeke, 2002). Halkier et Gershenzon (2006) ont trouvé que les composés contenant du soufre et de l'azote se présentent principalement sous la forme d'aglycones ou de glucosinolates, ou de leurs produits de dégradation, qui comprennent les isothiocyanates. Selon Fahey et al., (2001) la famille des Brassicacées, avec plus de 350 genres et 3000 espèces, est une source importante de glucosinolates et d'isothiocyanates, cela inclut les légumes crucifères, tels que le brocoli, le chou-fleur, les choux de Bruxelles et divers choux (Carson et Hammer, 2011).

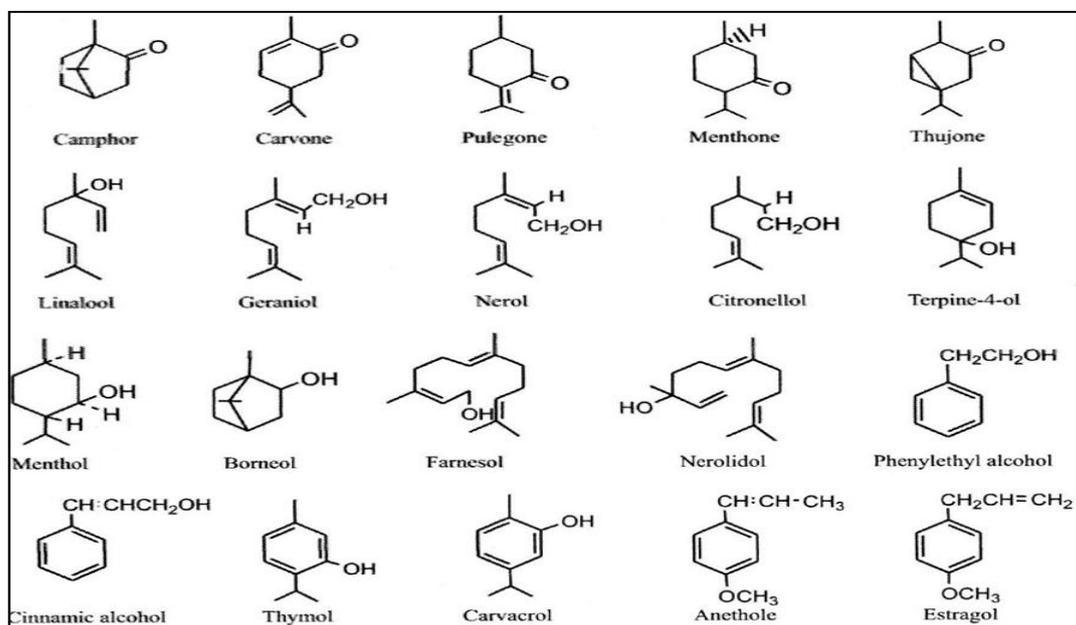


Figure n° 5. Structures chimiques de quelques constituants des HEs (Koul et al., 2008).

### 1.3. Répartition botanique

Il a été rapporté que les HEs n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, les genres capables d'élaborer ces substances huileuses sont répartis dans un nombre limité de famille des apiacées, myrtacées, rustacées, astéracées, cupressacées et poacées (Gerhard, 1993). Selon Chkarnat (2013) elles sont stockées dans différentes parties de la plante :

- les fleurs [oranger, rose, lavande, le bouton floral (girofle)],
- les feuilles (eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge, aiguilles de pin et sapin),
- les racines (vétiver), rhizomes (gingembre, acore),
- les fruits (anis, fenouil, badiane), les graines (noix de muscade, coriandre)
- bois et les écorces (cannelle, santal, bois de rose).

D'après **Bruneton (1999) ; Ghestem et al., (2001)** les HEs sont produites par diverses structures spécialement différenciées dont le nombre et les caractéristiques sont très variables : poches sécrétrices schizogènes (Myrtacées) ou poches sécrétrices schizolyziques (Aurantiacées), des canaux sécréteurs (Conifères et Apiacées), poils sécréteurs (Lamiacées et Astéracées), cellules sécrétrices isolées (Lauracées, Magnoliacées et Pipéracées), la teneur des plantes en HEs est faible, souvent inférieure à 1%. En revanche il existe des exceptions telles que le clou de girofle qui renferme plus de 15% (**Ghestem et al., 2001**). En outre, si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer HE, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation (**Jaeg, 2001**).

#### **1.4. Lieu de synthèse et de sécrétion**

D'après **Khenaka (2012)** la synthèse et l'accumulation des HEs sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées. Elles sont synthétisées dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent dans des cellules glandulaires recouvertes d'une cuticule. De plus les cellules endodermales se situent toujours à l'abri de ces substances grâce à la présence d'un autre type de cellule appelées les cellules de garde. De même **Ghanmi et al., (2003)** ont indiqué que les HEs sont renfermées dans les glandes à huiles, dans les veines, les sacs d'huile ou dans les cellules glandulaires des plantes aromatiques. Il a été démontré que les HEs sont rencontrées pratiquement chez les plantes supérieures (**Chouitah, 2012**) et sont élaborées dans des cellules glandulaires spécialisées et couvertes d'une cuticule (**Laib, 2011**). Elles sont peuvent être synthétisées dans plusieurs organes de plantes telles : racines, tiges, feuilles, fleurs, bourgeon, fruits, graines, brindilles, bois ou écorce (**Bakkali et al., 2008**). Selon **Carson et Hammer (2011)** elles sont stockées dans des cellules sécrétrices spécialisées, des cavités, des canaux d'huile et des résines, des cellules épidermiques ou des trichomes glandulaires (poils glandulaires).

#### **1.5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles**

Les HEs possèdent des caractéristiques sont : un aspect liquide, sont volatils, très odorantes et sont rarement colorées, inflammables. En outre leur densité est en général inférieure à celle de l'eau sauf les HEs de sassafras (*Sassafras albidum*), de cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*) et de girofle (*Syzygium aromaticum*) (**Bruneton, 1999 ; Rhayour, 2002 ; Desmares et al., 2008**). D'après **Degryse et al., (2008)** les HEs sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire. Également les HEs présentent une faible solubilité dans l'eau, mais solubles dans les graisses, alcools, solvants

organiques et autres substances hydrophobes et sont généralement liquides à température ambiante (Carson et Hammer, 2011), limpide et exceptionnellement colorées (Andrade et al., 2014). Les HEs s'oxydent facilement à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène, en même temps leurs odeurs se modifient, leurs points d'ébullition augmentent et leurs solubilités diminuent. De même elles absorbent le chlore et le brome, l'iode en dégageant de la chaleur (Duraffourd et al., 1990).

### 1.6. Toxicité des huiles essentielles

Généralement, elles sont connues comme produits sans danger, mais ces derniers restent des substances naturelles puissantes (Bouguerra, 2012). Tous dépendent leur composition chimique complexe les HEs sont à utiliser avec précautions et prudence, car elles peuvent engendrer de graves dégâts de santé lors d'une utilisation aléatoire et inappropriée (Benzeggouta, 2005). Il a été montré que les effets secondaires des HEs varient en fonction de leur nature chimique (Traoré, 2006), certaines sont toxiques par voie cutanée en raison de leur pouvoir irritant (HEs riches en thymol ou en carvacrol), allergène (HEs riches en cinnamaldéhyde) (Smith et al., 2000) ou phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines) (Naganuma et al., 1985). Selon Bruneton, (1999) les HEs sont des molécules actives, et peuvent avoir de graves effets secondaires. Par conséquent, il est important de respecter la posologie et la durée de la prise. Ces substances huileuses ont une toxicité aiguë par voie orale faible ou très faible : la majorité des huiles qui sont couramment utilisées ont une dose létale (DL<sub>50</sub>) comprise entre 2 et 5 g/kg (Anis, Eucalyptus, Girofle...etc.) ou ce qui est le plus fréquent supérieure à 5 g/kg (Camomille, Lavande...etc). Les HEs les plus toxiques sont de Boldo (0.13 g/kg) la convulsions apparaissant dès 0.07 g/kg, de Chénopode (0.25 g/kg), de Thuya (0.83 g/kg) ainsi que l'essence de moutarde (0.34 g/kg). En parallèle la toxicité chronique est assez mal connue (Bruneton, 1999).

En outre certaines HEs ont un effet neurotoxique, notamment celles riches en cétones comme l' $\alpha$ -thujone (Franchomme et al, 1990). La toxicité des HEs varie en fonction de la phase dans laquelle elles sont appliquées, l'HE de thym est plus toxique par contact en phase liquide que lors de son application en phase gazeuse et l'inverse pour le cas de l'HE de lavande (Inouye, 2003). Il a été rapporté que l'administration des HEs à des doses toxiques se manifeste en premier lieu par un phénomène de stress (Calvez, 2010), le stress est défini comme étant l'ensemble des réactions de réponses physiologiques d'un organisme (homme ou animal) mises en place pour assurer le maintien de l'équilibre menacé appelé aussi l'homéostasie (Favard, 2018 ; Calvez, 2010), tout en impliquant des réponses neuronales,

réponses du système neuroendocrinien et d'autres réponses métaboliques et comportementales (Favard, 2018).

### **1.7. Facteurs influençant sur les molécules bioactives des huiles essentielles**

D'après Svoboda (1995) et Smallfield (2001) la composition chimique et le rendement en HEs varient suivant diverses conditions : l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le séchage, la température et la durée de séchage, les parasites, les virus et les mauvaises herbes. En effet l'action des HEs est le résultat de l'effet combiné de leurs composés actifs et inactifs, ces composés inactifs pourraient influencer la disponibilité biologique des composés actifs et plusieurs composants actifs pourraient avoir un effet synergique (Svoboda et al., 1999). En parallèle Bruneton, (1993) ont prouvé que la complexité des huiles volatiles, les proportions des différents constituants d'une HE peuvent varier de façon importante tout au long du développement, aussi les chimiotypes ou races chimiques sont très fréquents chez les plantes aromatiques, exemple : *Thymus vulgaris* espèce morphologiquement homogène compte sept chimiotypes différents. Les conditions principales requises pour une production rentable en huile essentielle sont : le bon matériel végétal, variété de la plante, le sol, équipement de distillation et le climat (Smallfield, 2001). La composition chimique, de nombreuses HEs, vari en fonction des différents facteurs incluant le stade de développement des plantes, la période et la zone géographique de récolte, et les organes prélevés (Burt, 2004 ; Gonny et al., 2004).

#### **Les facteurs intrinsèques**

Ce type de facteurs est liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, à l'interaction avec l'environnement (sol ou climat) et au degré de maturité du matériel végétal, voire au moment de la récolte au cours de la journée (Fantino, 1999). En effet les cellules productrices d'HE peuvent se situer dans différents organes, il est possible d'obtenir différentes HEs selon les parties sélectionnées d'une même plante. Plusieurs travaux de recherche ont montré des différences de composition des HEs en fonction de différents organes (feuilles et fleurs) (Maffei et Sacco, 1997). D'après Razafindrakoto (1988) ; Dethier (1996) le rendement et la composition chimique d'HE varient aussi en fonction du cycle végétatif. Donc, pour une espèce donnée, la teneur des différents composants de l'HE peut varier de façon remarquable tout au long du cycle végétatif en rapport avec l'âge de la plante et la période de récolte ou la saison. En effet, certains constituants d'une HE se trouvent en abondance à des périodes de récoltes précises par rapport à d'autres.

**Les facteurs extrinsèques :**

Les conditions environnementales (la température, la quantité de la lumière et la pluviométrie et conditions édaphiques) (**Bouguerra, 2012**). La croissance de la partie aérienne de la plante est fonction de celui du système racinaire et de son activité. La forme de la partie racinaire, leur répartition dans le sol, leur vitesse d'extension, la variation de la composition chimique des HEs dépendent de la texture du sol, de sa structure, de sa teneur en eau ou de sa température (**Razafindrakoto, 1988 ; Dethier, 1996**). Les conditions édaphiques, les conditions culturales (la technique de récolte, l'emploi d'engrais) (**Bouguerra, 2012**). D'après **Bruneton (1999) ; Aprotosoia et al., (2010) ; Olle et Bender (2010)** le climat, la température, la précipitation et la lumière agissent non seulement sur le développement de la plante mais aussi sur la qualité des substances élaborées au niveau de la plante. La méthode d'extraction peut également influencer sur la composition des HEs (**Huang et al., 1995**), ainsi que le stockage des matières premières agit sur la composition et le rendement des HEs (**Fantino, 1999**). L'irrigation, la densité de plantation, les traitements phytosanitaires (**Lahlou 2004 ; Stefanini et al., 2006 ; Aprotosoia et al., 2010**). **Carette (2000)** indique que la conservation des HEs est entre 12 et 18 mois car avec le temps leurs propriétés tendent à décroître.

**1.8. Méthodes d'extraction des huiles essentielles**

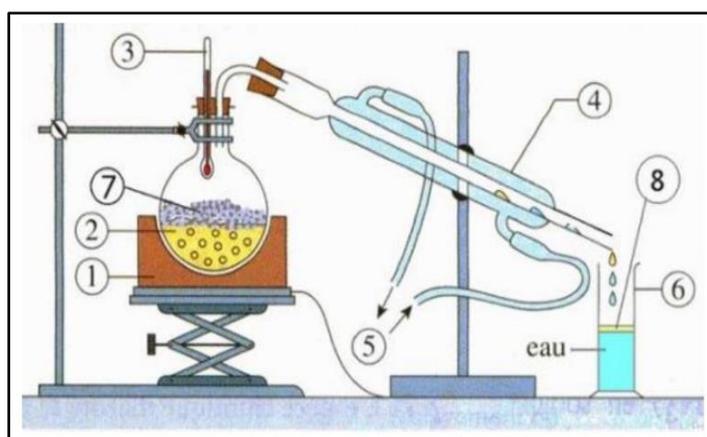
D'après **Shaaban et al., (2012)** les HEs sont obtenus à partir de plusieurs parties de plantes aromatiques, y compris les feuilles, fleurs, fruits, graines, bourgeons, rhizomes, racines et écorces. **Crespo et al., (1991) ; Hellal (2011)** ont démontré que le choix de la méthode d'extraction dépendra de plusieurs facteurs tels que : la nature des composés (les flavonoïdes ou les tanins,..), la nature du matériel végétal à traiter (feuilles, graines, ramilles), du rendement en l'HE et de la fragilité de certains constituants des HEs aux températures élevées. La technique la plus ancienne consiste à briser les cellules productrices des HEs avec des pierres ou instruments en bois à la température ambiante pour libérer leurs contenus (**Baster et Buchbauer, 2009**). L'extraction des HEs se réalise par différentes méthodes :

**1.8.1. Par entraînement à la vapeur**

Il a été rapporté que la majorité des HEs sont obtenues par distillation et entraînement à la vapeur d'eau, trois variantes sont possibles selon la texture et la fragilité de la matière première à traiter (**Bruneton, 1999**).

### 1. Hydrodistillation simple

Ce système d'extraction, appelé aussi water distillation, est le procédé de référence dans l'extraction des composés volatils d'une plante dans le domaine de la recherche (**Reverchon et De marco, 2006**). Elle est la méthode la plus facile et la plus simple et la plus anciennement utilisée. Cette technique consiste la mise en contact de matériel végétal à traiter avec de l'eau dans un ballon, le tout est porté à l'ébullition, par la suite les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'HE se sépare de l'hydrolat par différence de densité. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (**Bruneton 1999 ; Lucchesi, 2005**). **Reverchon et De marco, (2006)** ont prouvé que ce système d'extraction a été rendu crédible à l'échelle du laboratoire grâce à l'utilisation d'un appareillage de type-Clevenger. Par conséquent, la méthode d'hydrodistillation est une méthode d'extraction efficace et à haut rendement pour les herbes et les épices dans lesquelles les HEs sont difficiles à isoler et particulièrement riches en matières non hydrosolubles et thermiquement stables (**Roohinejad et al., 2018**).



**Figure n°6.** Principe de Clevenger de l'hydro distillation (**Lucchesi, 2005**).

1. Chauffé ballon, 2. Ballon, 3. Thermomètre, 4. Réfrigérant, 5. Entrer et sortie d'eau de refroidissement, 6. Epruvette graduée, 7. Matière à extraire l'essence, 8. La phase huileuse.

### 2. Distillation à vapeur saturée

Le principe de cette technique (steam distillation) repose sur l'entraînement de la vapeur d'eau dans les constituants volatils des produits bruts. Le matériel végétal est placé sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic (c'est-à-dire, le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau), les composés volatils entraînés par la vapeur d'eau vont être séparés par décantation du distillat refroidi (**Belaiche, 1979**). **Franchomme et al., (1990) ; Richard, (1992) ; Lucchesi (2005)** ont indiqué que l'intérêt de cette technique apporte une amélioration

de la qualité de l'HE en minimisant les altérations hydrolytiques, ainsi que le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante.

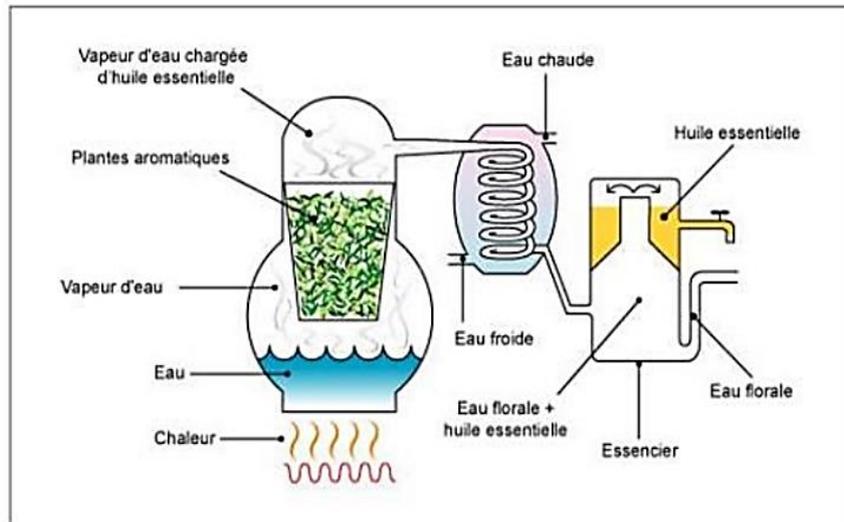


Figure n°7. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau.

### 3. Hydro-diffusion

Ce type d'extraction consiste à faire passer un courant de vapeurs d'eau à très faible pression (pression réduite (0.02-0.15 bar) à travers la masse végétal (Franchomme et al., 1990 ; Richard, 1992 ; Lucchesi, 2005). Buchbauer (2000) et Lahlou (2004) ont prouvé que la composition des produits obtenus est sensiblement différente de ceux obtenus par les méthodes précédentes. Cette méthode d'extraction permet un gain de temps et d'énergie (Bruneton, 1999). L'intérêt de ce procédé est d'être plus rapide et moins dommageable pour les composés volatils (Franchomme et al., 1990 ; Richard, 1992 ; Lucchesi, 2005).

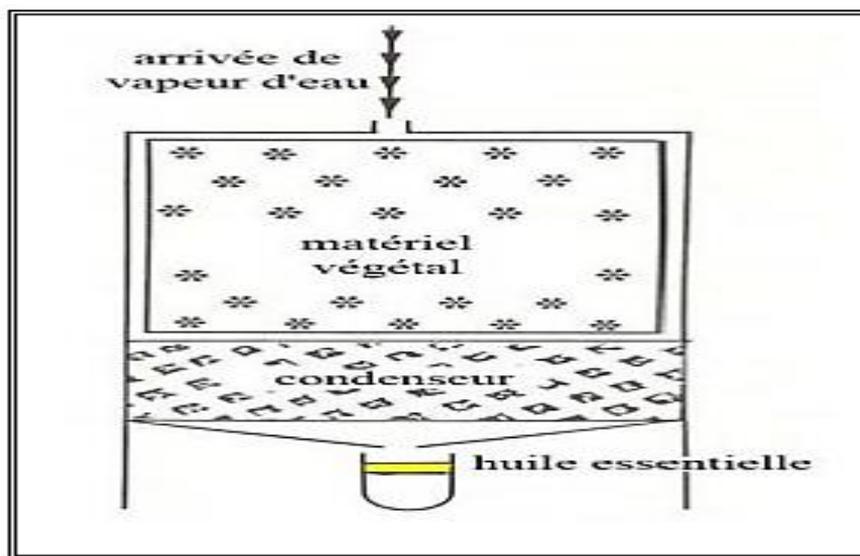


Figure n° 8. Technique d'hydro-diffusion (Lucchesi, 2005).

**1.8.2. Autres techniques****1. Distillation par enfleurage**

Ce système d'extraction est principalement utilisé dans l'industrie des parfums et concerne les organes les plus fragiles des plantes tels que les fleurs, le procédé consiste à une macération d'un corps gras qui se sature d'essence. Ce dernier est épuisé par l'alcool absolu qui est évaporé sous vide (**Belaiche, 1979**). Il s'agit d'une extraction par enfleurage si le procédé se fait à froid. Par contre, les graisses étant fondues au bain-marie (50°-70°C) il s'agit alors d'une digestion (**Besombes, 2008**). Cette technique consiste à déposer des pétales de fleurs fraîches sur des plaques de verre recouvertes de minces couches de graisse (graisse animale). Tous dépendent les espèces, l'absorption des HES des pétales par le gras peut prendre de 24 heures (Jasmin) à 72 heures (Tubéreuse). Après extraction les pétales usées sont remplacés par des pétales fraîches jusqu'à saturation du corps gras. Le corps gras est épuisé par un solvant qui est évaporé sous vide (**France Ida, 1996**). Selon **Bruneton (1993)** ce type d'extraction ancien et classique n'est plus utilisé ; d'une part, la diffusion est lente d'autre part, il est nécessaire de renouveler plusieurs fois les pétales pour obtenir des pommades concentrées.

**2. Distillation assistée par micro-ondes**

Cette technique récemment développée consiste la combinaison du chauffage à microondes et de la distillation à sec à pression atmosphérique permettant une extraction des HES à partir des plantes (**Lucchesi et al., 2004**). D'après **Meredith (1998) et Hemwimon et al., (2007)** le matériel végétal est chauffé par micro-ondes dans une enceinte fermée dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. En effet, les composés volatils peuvent être recueillis par un solvant ou entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre de la plante, par suite ces substances sont récupérées à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation. Les avantages de ce type d'extraction sont les suivants ;

- Dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées
- Technologie verte
- Économie d'énergie (température plus basse) et de temps (dix fois plus rapide)
- Utilisation de petites quantités de solvant
- Le rendement d'extraction est élevé (**Hemwimon et al., 2007 ; Lucchesi et al., 2004 ; Olivero- Verbel et al., 2010**).

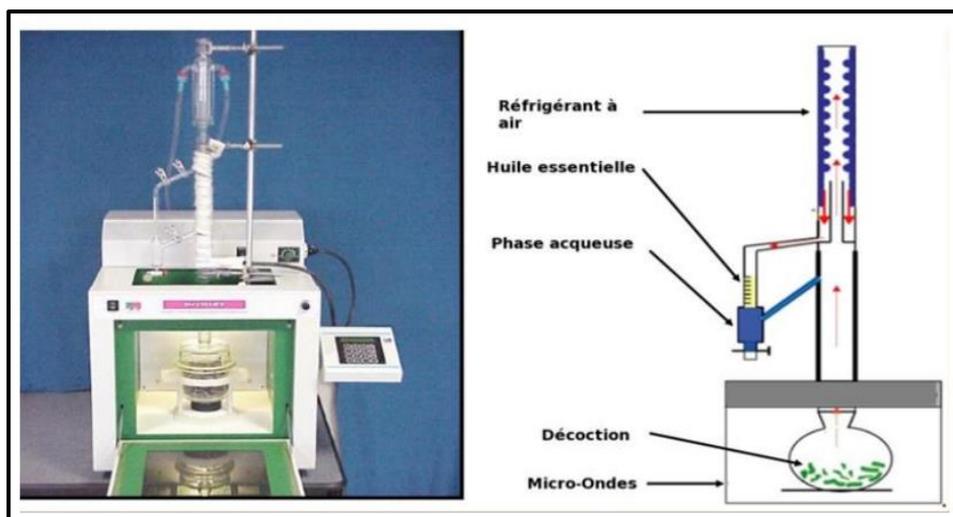


Figure n° 9. Extraction par micro-ondes.

### 3. Distillation par des solvants organiques

Cette technique consiste à traiter la matière première dans un extracteur au moyen d'un solvant volatil non aqueux. Les solvants organiques couramment les plus utilisés sont le cyclohexane, l'hexane et l'éthanol et les moins fréquemment utilisés sont le dichlorométhane et l'acétone (Dapkevicius et al., 1998 ; Kim et Lee, 2002 et Hernandez-Ochoa, 2005). Selon Richard, (1999) les solvants organiques possèdent un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau et les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais en parallèle un bon nombre de composés non volatils tels que des pigments, des cires, des acides gras et d'autres. L'élimination de ces composés non désirables est réalisée par un lavage à l'éthanol qui sera distillé ultérieurement et le produit obtenu est appelé « absolu » (Hernandez-Ochoa, 2005 ; Proust, 2006). Lagunez (2006) indiquent qu'il existe des inconvénients sur ce type d'extraction tels que les problèmes de sécurité et de toxicité,

### 4. Extraction par fluide à l'état supercritique

Ce procédé d'extraction basée sur l'utilisation du dioxyde de carbone sous très haute pression pour extraire les HEs. En outre du point critique ( $P= 73.8$  bars et  $T= 31.1^{\circ}\text{C}$ ), le  $\text{CO}_2$  possède des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction (Khajeh et al., 2005 ; Piochon, 2008). Au début le spécimen de la plante est placé dans un réservoir en acier inoxydable et le  $\text{CO}_2$  est injecté dans ce réservoir. Sous haute pression, le  $\text{CO}_2$  se transforme en  $\text{CO}_2$  liquide et agit comme un solvant pour extraire l'HE de la plante. Lorsque la pression est diminuée, le  $\text{CO}_2$  retourne à l'état gazeux et ne laissant que l'huile volatile.

Selon **Moyler (1993)** des études ont montré que l'extraction au CO<sub>2</sub> produit des HEs très puissantes avec de bons effets thérapeutiques. En effet ce procédé donne de bons rendements en HE et rend certains matériaux (gomme, résine) plus faciles à manipuler. Les HEs qui ne peuvent pas être extraites par distillation à la vapeur sont obtenues avec extraction au CO<sub>2</sub> (**Moyler, 1993**). A cette technique le solvant est utilisé en boucle par interposition d'échangeurs de chaleur, d'un compresseur et d'un détendeur afin de porter le solvant à l'état désiré à chaque stade du processus. La séparation de l'extrait a lieu en phase gazeuse par simple détente (**Lagunez, 2006**).

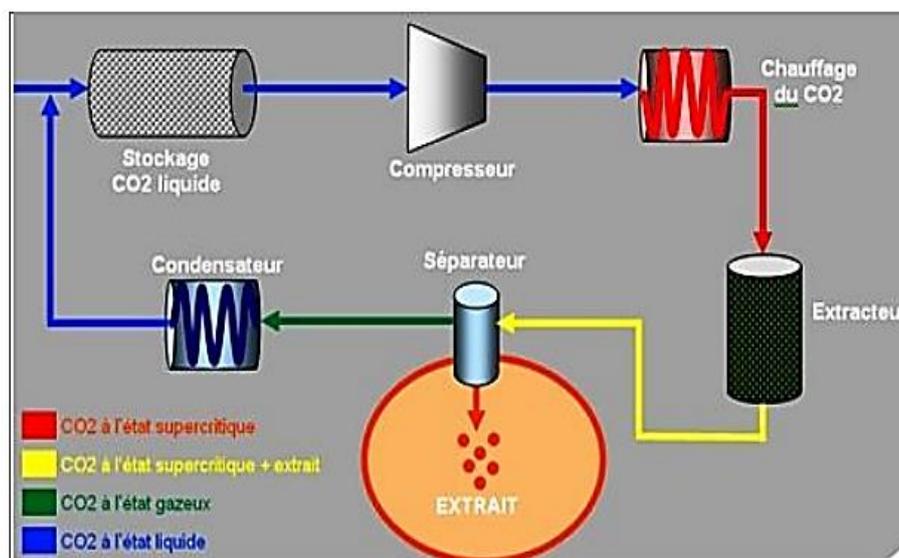


Figure n° 10. Extraction par le CO<sub>2</sub> supercritique (**Pourmortazavi et Hajimirsadeghi, 2007**)

### 1.9. Méthodes d'analyse des composants des huiles essentielles

L'analyse des composants des HEs reste une étape primordiale (**Cavalli, 2002**). De même selon **Fillatre, (2011)** l'analyse des HEs doit répondre à des caractéristiques bien déterminées. Ces critères sont définis dans des normes internationales ISO ou françaises AFNOR, ainsi sont contrôlées les propriétés organoleptiques et physiques telles que la coloration, l'odeur, la réfraction, la solubilité mais également les propriétés chimiques telles que les indices d'acides et d'esters. Par conséquent, la meilleure carte d'identité qualitative et quantitative d'une HE reste cependant son profil chromatographique réalisé par CPG même si d'autres techniques alternatives sont utilisées. En général, l'identification de la composition chimique est effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (**Salzer, 1977**). **Tomi et al., (1995)** ont indiqué que la résonance magnétique nucléaire (RMN) peut également être utilisée pour identifier les composants des HEs.

- **Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

D'après **Lehotay et Hajslova (2002)** la CPG est la technique de référence dans l'analyse des HEs. Elle permet de séparer et d'analyser les molécules organiques d'un mélange complexe. En effet, cette technique réalise à la fois une analyse qualitative et quantitative (**Arpino et al., 1995**). Le CPG est composé de trois modules ; un injecteur, une colonne capillaire placée dans un four et un détecteur (**Bouchonnet et Libong, 2002**). Cette technique s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans décomposition dans l'injecteur. La phase mobile : est appelée aussi gaz vecteur elle s'agit d'un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène) (**Audigie et al., 1995**). Il a été montré que l'échantillon est injecté vaporiser et à haute température en tête de colonne (**Skoog et al., 2003**). Selon **Hellal (2011)** il existe deux types de la colonne : colonne remplie ou colonne capillaire. La CPG est basée principalement sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire. La chromatographie gaz-liquide (CGL) ou chromatographie de partage, si la phase stationnaire est un liquide non volatil, possédant des propriétés de solvant vis-à-vis des composés à séparer. La chromatographie gaz-solide (CGS) ou chromatographie d'adsorption, si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice, alumine...) (**Audigie et al., 1995**).

**Figueredo (2007)** montre que les constituants des mélanges appelés généralement

« solutés » sont inégalement retenus par la phase stationnaire lors du transit dans la colonne, ce phénomène est appelé « rétention ». Les solutés injectés se déplacent avec des vitesses différentes entre eux et sortent de la colonne les uns après les autres. Les détecteurs utilisés sont : détecteur à conductivité thermique (TCD) ou à ionisation de flamme (FID) (**Fillatre, 2011**). De même **Figueredo, (2007)** indique que la détection des composés élués est obtenue par un détecteur FID. On enregistre un signal dit ligne de base en présence du gaz vecteur seul, puis un pic au passage de chaque soluté séparé. Par conséquent, le type FID est le détecteur le plus cité dans la littérature dans le secteur des HEs.

- **Spectrométrie de masse (SM)**

Le spectromètre de masse permet l'identification et la quantification des composés. Les spectromètres de masse ont tous en commun trois éléments : une source d'ionisation, un analyseur et un détecteur (**Bouchonnet et al., 1999**). La source est la partie où sont produits des ions gazeux à partir des molécules introduites. Elle doit être maintenue à température élevée (100 - 250°C) pour éviter la condensation des substances (**Pradeau et Cohen, 1992 ; Bouchonnet et Libong, 2002**). Principalement la technique d'ionisation utilisée dans

l'analyse des HEs est l'ionisation électronique (IE) qui permet d'obtenir un spectre de masse avec un nombre de fragments caractéristique de la molécule. L'ionisation chimique (IC), est une technique d'ionisation plus douce et complémentaire de l'IE, elle est également employée pour accéder à d'autres informations spectrales, notamment l'observation du pic moléculaire parfois absent des spectres obtenus en IE (Fillatre, 2011). Selon Besombes (2008) les ions produits sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil. De nombreux analyseurs de masse existent mais les plus utilisés pour l'analyse des HEs sont le « quadripôle », le « piège à ion » ou la « trappe ionique » (Belaqziz, 2007). Le rôle de l'analyseur est de séparer les ions produits par la source en fonction de leur rapport « masse /charge » (Besombes, 2008). Le faisceau d'ions ayant traversé l'analyseur de masse, est ensuite détecté et transformé en un signal utilisable (Hellal, 2011).

- **Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC-SM)**

Il a été rapporté que, si la chromatographie permet à elle seule de séparer correctement les différents constituants d'un mélange, il est néanmoins délicat de se livrer à une identification certaine. Par conséquent, l'idée de coupler une autre méthode physique après séparation dans le but d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique, s'est concrétisée dès 1960 dans la combinaison entre CPG et SM (De Maack et Sablier, 1994). Principalement cette technique consiste à transférer par le gaz vecteur les composés séparés dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. Par conséquent, la comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs bibliothèques de référence permet son identification à condition que la similitude des spectres, inconnus et référence, soit suffisante et que les indices de rétention soient identiques, dans les mêmes conditions opératoires (Desjobert *et al.*, 1997 ; Bruneton, 1999). En effet, la possibilité de coupler les chromatographes à divers spectromètres augmente considérablement la quantité et la qualité des informations obtenues. Particulièrement dans le secteur des HEs le couplage CPG-SM est aujourd'hui la technique de référence. Un phénomène à plusieurs étapes est déclenché lorsqu'un composé moléculaire est soumis à cette analyse, sont les suivants :

**a. Ionisation ;** chaque molécule présente dans l'échantillon se volatilise sous l'effet du vide et de la haute température (200°C), il en résulte un mélange d'ions issus de la fragmentation de l'échantillon de départ.

**b. Accélération et séparation ;** les ions formés se dirigent vers le dispositif de séparation où ils seront distribués suivant leur rapport masse/charge.

**c. Détection** ; après séparation les ions sont recueillis par un détecteur sensible aux charges électriques transportées.

**d. Traitement du signal** ; le signal de sortie de l'appareil est conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leurs rapports : masse/charge (**Pradeau et Cohen, 1992**). **Pradeau et Cohen (1992)** ont montré que l'appareillage CPG-SM permet de fournir un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectres de masse correspondant à chaque pic chromatographique, ce qui permet l'identification précise de la majorité des constituants séparés par la CPG.

### **1.10. Domaine d'utilisation des huiles essentielles**

- **Désinfection de l'air**

Selon **De Billerbeck (2000, 2002)** les HEs sont un mélange d'un grand nombre de molécules volatiles. En diffusion dans l'air ou diluées dans les produits de nettoyage, elles désinfectent, désodorisent et parfument agréablement et naturellement l'air.

- **Agroalimentaire**

Actuellement les HEs sont employées comme arômes alimentaires et également connus pour posséder des activités antioxydantes et antimicrobiennes sur plusieurs bactéries responsables de la pollution des aliments et pourraient servir d'agents de conservations alimentaires (**Kim et al., 1995**). Les HEs ont également des propriétés fongicides. Elles sont aussi utilisées en tant que pesticides puisqu'elles ne sont pas toxiques pour les plantes et facilement dégradables (**Mahadevan, 1982**) et sont très efficaces contre les moisissures responsables de la putréfaction des denrées alimentaires lors de leurs stockages (**Mejhohm, 2002**).

- **Traitement des infections**

En outre les HEs sont très efficaces vis-à-vis les germes résistants aux antibiotiques. Ce qui leur procure une place parmi les moyens thérapeutiques pour guérir, atténuer ou prévenir les maladies et les infections. Parmi les applications de l'activité des HEs se trouve le traitement des affections bactériennes et fongiques de la cavité-buccale (**Buchbauer, 1994**).

### **1.11. Mécanismes d'action des huiles essentielles**

Grace à la présence des microorganismes résistants aux agents chimiques antimicrobiennes, la recherche d'une nouvelle molécule bioactive pour combattre ces infections est absolument nécessaire. Plusieurs HEs offrent une perspective illimitée et un grand potentiel à l'égard de ce problème, ils sont connus de façon empirique depuis des siècles

pour leurs efficacités anti-infectieuses ont été scientifiquement démontré *in-vitro* (**Oussalah et al., 2007**) et *in-vivo* (**Chami et al., 2004**).

- **Mode d'action contre les bactéries**

D'après **Burt (2004)** l'activité antibactérienne d'une HE est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaire (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques. Par conséquent, les composés ayant la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols : thymol, carvacrol et eugénol. De même, les phénols entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes (**Burt, 2004**). Ainsi que le thymol exerce un effet inhibiteur et létal sur différentes souches et parmi elles, *E. coli* et *S. aureus*. Les alcools avec 10 atomes (monoterpénols) viennent immédiatement après les phénols, en termes d'activité, avec le géraniol, linalol.

- **Mode d'action contre les champignons**

**Cox et al., (2000)** ont indiqué que les HEs présentes une action antifongique due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure. D'après **Knobloch et al., (1989)** de nombreuses études ont également montré que les alcools et les lactones sesquiterpéniques ont une activité antifongique.

# *Chapitre III*

---

## **Activités biologiques des huiles essentielles**

**1. Infection nosocomiale****1.1. Définition**

Une infection est dite nosocomiale si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation et si elle est absente (ni symptomatique ni en incubation) à l'admission à l'hôpital (Bouvet *et al.*, 1989 ; Berche, 1991 ; Beaucaire, 1997 ; Popi, 2003). Lorsque la situation d'admission n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures après l'admission, ou d'un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue, est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale originaire d'une infection communautaire. Il est recommandé d'apprécier, dans chaque cas douteux, la plausibilité du lien causal entre hospitalisation et infection (Bouvet *et al.*, 1989 ; Berche, 1991 ; Beaucaire, 1997 ; Popi, 2003). D'après Denis (2002) et Popi (2003) les infections du site opératoire sont considérées comme nosocomiales lorsqu'elles surviennent dans les 30 jours suivant l'intervention, ou celles survenues dans les 90 jours en cas d'infection virale et celles survenues dans les 365 jours s'il y a eu mise en place d'une prothèse ou d'un implant (Bouvet *et al.*, 1989 ; Berche, 1991 ; Beaucaire, 1997 ; Popi, 2003).

**1.2. Epidémiologie**

Les infections nosocomiales génèrent un problème de santé publique préoccupant. Leur prévalence en France est estimée à 6-7 % atteignant 20 % dans les services de réanimation. Les services les plus touchés sont ceux de chirurgie et brûlure, réanimation et d'hématologie. Il a été rapporté que les 5 principaux sites des infections nosocomiales représentent 70 % de l'ensemble des infections nosocomiales avec ordre d'importance : les infections urinaires (35 %), les infections respiratoires basses (12 %), les infections du site opératoire (11 %), les bactériémies (6 %) et les infections par cathéter (4 %). Egalement les principaux germes responsables des infections nosocomiales sont les bacilles gram négatif (53 %) et les cocci gram positif (33 %) : *E. Coli* (21 %), *S. auréus* (16 %), *P. aeruginosa* (11 %), *Enterococcus spp* (8 %). Donc ces quatre espèces représentent 56 % des microorganismes retrouvés dans les infections nosocomiales (Alfandari, 1997 ; Astragneau, 1998).

**1.3. Origine des germes**

**L'environnement :** dans ce cas la contamination par l'infection nosocomiale peut se faire à partir des divers appareillages d'assistance respiratoire et de monitoring par voie intra vasculaire, les lavabos, les instruments (tensiomètre, stéthoscope ...), les liquides et les tubulures, la nourriture et l'air ambiant.

**La flore saprophyte du malade lui-même :** cette flore est subie au cours des premiers jours de l'hospitalisation des modifications qualitatives. En effet, les bacilles gram négatif et plus principalement les levures (*Candida*) remplacent les Cocci gram positif ou les anaérobies. Ces flores saprophytes modifiées colonisent les sites préférentiels chez le malade et entraînant une infection de l'appareil urinaire, des plaies opératoires ou du parenchyme pulmonaire.

**Le personnel soignant (médical et paramédical) :** dans ce cas la contamination par l'infection nosocomiale peut se faire par le biais du personnel soignant qui transmet les germes pathogènes d'un patient à un autre avec les mains souillées et les instruments infestés (**Bouvet et al., 1989 ; Tasseau et baron, 1989 ; Fagon, 1998**).

#### **1.4. Modes de transmissions**

##### **Auto infection**

Ce mode de transmission est présent lorsque le malade s'infecte soit par ses propres germes in situ soit à partir de l'environnement immédiat (vêtement, surface de la peau, lit). Ces infections sont dues généralement aux germes saprophytes qui deviennent pathogènes à la suite d'une antibiothérapie itérative ou d'un traitement immunosuppresseur. Certains malades immunodéprimés (SIDA) peuvent avoir des bactériémies dues aux germes intestinaux qu'ils hébergent (**Tasseau et baron, 1989 ; Berche, 1991**).

##### **Hétéro infection**

Ce mode de transmission est présent lorsqu'un agent infectieux est transmis d'un malade à un autre provoquant une infection dite infection croisée ou hétéro-infection. Alors qu'il est rarement transmis soit par un contact direct soit par voie aérienne. Le plus souvent, le vecteur est le personnel soignant par ses mains et ou ses instruments de travail (**Hygis, 1998**).

##### **Xéno infection**

**Tasseau et baron (1989) et Berche (1991)** ont démontré que ce sont des infections qui sévissent sous forme endémique ou épidémique dans la population extrahospitalière. Les agents infectieux sont importés à l'hôpital par les malades, le personnel soignant ou les visiteurs qui sont atteints ou qui sont en phase d'incubation. Ils se transmettent par voie aérienne, par contact direct ou indirect. Lorsque la maladie infectieuse est le seul motif d'hospitalisation, les mesures immédiates d'isolement peuvent être prises. Mais dans certains cas l'infection est indépendante du motif d'hospitalisation.

##### **Exo infection**

Ce mode de transmission est présent lorsqu'elle est liée à des avaries techniques (eau polluée, filtre à air non stérile, stérilisation inefficace). Les matériaux à usage paramédical

sont utilisés auprès des malades ; ils sont susceptibles d'être contaminés et peuvent aussi causer des infections nosocomiales souvent épidémiques (**Berche et al., 1991**).

### **1.5. Patient réceptif**

**Berche et al., (1991)** ont prouvé que certaines pathologies provoquent une légère immunodépression, les malades à risque sont : les insuffisants respiratoires, les brûlés, les polytraumatisés et les porteurs de dispositifs invasifs (assistance respiratoire, sonde urinaire, cathéters divers), les vieillards et surtout les nouveaux nés prématurés. Ils sont donc exposés à une infection nosocomiale.

### **1.6. Principales infections nosocomiales**

**1.6.1. Les infections urinaires nosocomiales** : ce type d'infection nosocomiale consiste de différents critères (bactériurie asymptomatique ou symptomatique).

**Bactériurie asymptomatique** : principalement ce diagnostic nécessite la présence, chez un patient sondé ou ayant un antécédent de sondage, d'une uroculture quantitative positive (>105 UFC/mL), sans qu'il y ait plus de deux espèces bactériennes différentes et absence de signes cliniques. En absence de sondage deux urocultures quantitatives consécutives positives (>105 UFC/mL) sont nécessaires sans qu'il y ait plus de deux espèces bactériennes différentes et absence de signes cliniques.

**Bactériurie symptomatique** : Ce diagnostic est dû à des manifestations cliniques : fièvre (>38°C) sans autre localisation infectieuse sans qu'il y ait plus de deux espèces bactériennes différentes, ou une uroculture positive (>103 UFC/mL, avec une leucocyturie > 104/mL). Par conséquent, il est pertinent, en cas de syndrome infectieux, de localiser l'infection urinaire nosocomiale (prostatite, pyélonéphrite). Les bactéries responsables sont : *E. coli*, *Entérocoques*, *Pseudomonas sp*, *Klebsiella sp*, *Entérobacters sp*, *Serratia sp*, *Candida sp*. (**Beucaire, 1997 ; Popi, 1999 ; Popi, 2003**).

### **1.6.2. Pneumonie nosocomiale**

**Chez un patient de médecine ou de chirurgie non intubé et non ventilé :**

Le diagnostic repose sur l'association d'un diagnostic radiologique (radiographie ou scanner du thorax), d'une ou plusieurs opacités parenchymateuses récentes et évolutives et de l'un des éléments suivants: soit l'identification d'un germe isolé de l'expectoration, de la ponction trachéale, d'un lavage broncho-alvéolaire, d'un brossage distal protégé ou d'un prélèvement

trachéal distal par cathéter, d'une ponction d'un abcès pulmonaire, d'une pneumonie ou d'un abcès authentifié par un examen histologique (**Beaucaire, 1997 ; Berthelot et Lucht, 1998**).

**Chez un patient intubé et ventilé :**

Le diagnostic de pneumonie nosocomiale est plus difficile à porter et nécessite l'identification du ou des germes responsables. De nombreuses techniques ont été proposées, afin d'identifier ces germes : le brossage bronchique protégé (BBP), le lavage broncho alvéolaire (LBA) et l'aspiration endotrachéale. Les bactéries responsables sont : *P. aëruginosa* (30% des pneumopathies nosocomiales), le groupe *Klebsiella*, *Eschérichia* et *Serratia* (8 % des pneumopathies nosocomiales) et rarement *Haemophilus influenzae*. *S. aureus* (30 %), *Staphylococcus épidermidis* (10 %) et le *Streptococcus pneumoniae* responsables de pneumopathies précoces. Les pneumopathies plurimicrobiennes : champignons, virus (30 à 40 %) (**Papazian et Bregon, 1990 ; Beaucaire, 1997 ; Popi, 1999 ; Popi, 2003**).

**1.6.3. Infections des plaies opératoires**

Les éléments permettant le diagnostic d'infection de la plaie opératoire sont fonction de la localisation de l'infection.

**Infection superficielle :** C'est une infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention en affectant les tissus sous-cutanés ou situés au-dessus de l'aponévrose.

**Infection profonde :** C'est une infection qui survient dans les 30 jours suivant l'intervention, ou durant l'année, s'il y a eu mise en place d'un matériel étranger, intéressant les tissus ou espaces situés au niveau ou au-dessous de l'aponévrose.

**Infection de l'organe ou du site :** Elle survient aussi dans les 30 jours suivant l'intervention ou pendant l'année, s'il y a eu mise en place d'un matériel étranger, impliquant les organes ou espaces ouverts ou manipulés durant l'intervention. Les cocci gram- sont les bactéries responsables de l'infection du site opératoire dans 3 cas sur 4. Par conséquent la nature des bactéries dépend du type de chirurgie, du site opératoire, de l'antibioprophylaxie, de la survenue d'éventuelle épidémie et de l'écologie locale et très souvent l'infection est polymicrobienne (**Papazian et Bregon, 1990 ; Beaucaire, 1997 ; Popi, 1999 ; Popi, 2003**).

**1.6.4. Infections sur cathéter**

Ce type d'infection correspond à quatre situations différentes :

**La contamination du cathéter** se caractérise par une culture positive de l'extrémité du cathéter, en absence de signes locaux ou généraux d'infection.

**La colonisation du cathéter** se caractérise par une culture positive de l'extrémité du cathéter, en absence de signes locaux ou généraux d'infection attribués au cathéter. Par conséquent, la colonisation peut provenir d'un foyer à distance au même germe que celui isolé du cathéter.

**L'infection clinique sur cathéter** se caractérise ; soit par une culture positive de l'extrémité du cathéter en présence de signes locaux ou généraux d'infection, avec résolution au moins partielle des symptômes lors de l'ablation du cathéter ; soit par la simple présence de signes locaux d'infection même si la culture de l'extrémité du cathéter est significative ou non.

**L'infection « bactériémie » sur cathéter** elle est due à la présence d'un sepsis associé à une ou plusieurs hémocultures positives à germes cutanés *S. aureus*, ou *Candida sp*, en absence d'une autre source évidente que le cathéter (**Mallaret et Olive, 1996 ; Beaucaire, 1997 ; Popi, 2003**).

**1.6.5. Autres infections :** les infections cardio-vasculaires, ostéoarticulaires, cutanées, des muqueuses et les toxi-infections alimentaires (**Tasseau et baron, 1989 ; Berche, 1991**).

## **2. Les antibiotiques**

### **2.1. Définition**

Les antibiotiques sont des substances chimiques naturelles élaborées par des microorganismes (bactérie, champignon) ces substances possèdent le pouvoir d'inhiber la croissance ou le développement d'autres bactéries (**Khiati, 1998**), leurs pénétrations perturbent le métabolisme (**Garnier, 1992**) en agissant spécifiquement sur une étape essentielle de ce dernier (**Berche et al., 1989**), mais par contre sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules humaines (**Prescott et al., 2002**). D'après **Clos (2012)** le mot « antibiotique » a été restreint aux molécules antibactériennes qui agissent, soit en bloquant la prolifération des bactéries (bactériostatiques), soit en les détruisant (bactéricides ou bactériolytiques). Ils sont groupés en dix familles ; selon leurs formules chimiques, la manière dont ils agissent sur les microorganismes et leurs effets cliniques. Les familles sont les suivantes : les bêtalactamines, les aminosides (oligosaccharides), les phénicoles, les tétracyclines, les polypeptides, les macrolides, les antituberculeux, les antimétabolites et les anti-biomimétiques (**Garnier, 1992 ; Leclerc et al., 1995 ; Madigan et al., 1997**).

### **2.2. Les antibiotiques naturels et synthétiques**

Il a été rapporté que les antibiotiques peuvent être des molécules d'origine naturelle ou de leurs dérivés comme ils peuvent être d'origine synthétique ou semi-synthétique (**Newman**

et *al.*, 2003 ; Singh et Barrett, 2006). Les premiers antibiotiques introduits dans l'usage clinique étaient en 1935, leur origine est synthétique « les sulfamides » et en parallèle le premier antibiotique d'origine naturelle utilisé dans la médication est « la pénicilline » en 1940 (Butler et Buss 2006).

### 2.3. Mode d'action des antibiotiques

Les molécules d'antibiotiques caractérisées par différents modes d'action, elles peuvent agir sur : la synthèse du peptidoglycane et donc sur la paroi cellulaire ( $\beta$ -lactamines, glycopeptides, fosfomycine) qui bloquent différentes étapes de la voie de synthèse du peptidoglycane, en désorganisant les membranes (polymyxines), ainsi que la synthèse protéique (macrolides, aminosides, phénicolés, tétracyclines, les lincosamides et les streptogramines, qui se fixent sur le ribosome bactérien inhibant différentes étapes de la synthèse protéique). La synthèse des acides nucléiques (ADN et ARN) peut être aussi perturbée (cas des quinolones, rifamycines, nitroimidazoles) et le métabolisme intermédiaire (sulfamides, triméthoprime) (Demoré et *al.*, 2012). Gaudy et Buxeraud (2005) ont prouvé que l'action d'un antibiotique est le résultat d'interaction organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactérie d'autre part.

**Tableau n°4.** Classes d'antibiotiques en fonction de leur introduction en clinique, de leurs origines et de leurs mécanismes d'action (Butler et Buss, 2006).

Classe d'ATB	Année	Dérivation	Exemple	Mécanisme
Sulfamides	1935	Synthétique	Sulfapyridine	Antifolique
$\beta$ -Lactamines	1941	Dérivé de PN	Penicillin	Paroi cellulaire
Peptides bactériens	1942	Dérivé de PN	Bacitracin	Paroi cellulaire
Peptide bactériens	1942	Dérivé de PN	Polymixin	Membrane cellulaire
Aminoglycosides	1944	Dérivé de PN	Streptomycin	Synthèse protéique
Céphalosporines	1945	Dérivé de PN	Céphalosporines	Paroi cellulaire
Nitrofurane	1947	Synthétique	Nitrofurantoin	Divers
Hexamine	1947	Synthétique	Metélate de Methénamine	Dégagement de formaldéhyde
Chloramphénicol	1949	Dérivé de PN	Chloramphénicol	Synthèse protéique
Tétracycline	1950	Dérivé de PN	Chlortétracycline	Synthèse protéique
L'isoniazide	1951	Synthétique <sup>a</sup>	L'isoniazide	Biosynthèse des acides Gras
Viomycine	1951	Dérivé de PN	Viomycine	Synthèse protéique

Macrolide	1952	Dérivé de PN	Erythromycine	Synthèse protéique
Lincosamide	1952	Dérivé de PN	Lincomycine	Synthèse protéique
Streptogramine	1952	Dérivé de PN	Virginiamycine	Synthèse protéique
Cycloserine	1955	Dérivé de PN	Cycloserine	Paroi cellulaire
Glycopeptide	1956	Dérivé de PN	Vancomycine	Paroi cellulaire
Novobiocine	1956	Dérivé de PN	Novobiocine	Synthèse de l'ADN
Ansamycine	1957	Dérivé de PN	Rifamycine	Synthèse de l'ARN
Nitroimidazole	1959	Synthétique	Tinidazole	Synthèse de l'ADN
L'Ethambutol	1962	Synthétique	L'Ethambutol	Paroi cellulaire
Quinolone	1962	Synthétique	L'acide Nalidixique	Synthèse de l'ADN
Fusidane	1963	Dérivé de PN	L'acide Fusidique	Synthèse protéique
Diaminopyrimidine	1968	Synthétique	Triméthoprim	Antifolique
Phosphonates	1969	Dérivé de PN	Fosfomycine	Paroi cellulaire
acide pseudomonique	1985	Dérivé de PN	Mupirocin	Synthèse protéique
Oxazolidinone	2000	Synthétique	Linezolid	Synthèse protéique
Lipopeptides	2003	Dérivé de PN	Daptomycine	Paroi cellulaire

<sup>a</sup> Isoniazide est basé sur la structure de nicotinamide (vitamin B2) ; PN : produits naturels

## 2.4. Résistance bactérienne aux antibiotiques

D'abord, une souche bactérienne est dite résistante lorsqu'elle trouve les moyens pour résister en évitant l'action des antibiotiques et se développe en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches bactériennes (**Garnier et Jarlier, 1996**).

### 2.4.1. Résistance naturelle ou innée

Généralement la résistance naturelle repose sur l'inaccessibilité de l'antibiotique à la cible due à des particularités structurales que peut présenter l'espèce bactérienne visée. Donc c'est le cas des bacilles Gram-, notamment les entérobactéries et l'espèce *P. aeruginosa* qui présentent une faible perméabilité aux antibiotiques hydrophobes ou de masse moléculaire élevée (macrolides) ou des mycoplasmes qui sont les bactéries dépourvues de paroi et résistantes aux bêta-lactames dont le mode d'action consiste à inhiber la synthèse du peptidoglycane (**Chalus-Dancla et al., 2002 ; Normak et Normak, 2002**). **Livermore**

(1995) ont démontré que certaines bactéries peuvent produire des enzymes capables de détruire les antibiotiques. Par conséquent c'est le cas de certaines entérobactéries (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Escherichia* spp., *Morganella* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp, ...etc) qui produisent naturellement des bêta-lactamases.

#### **2.4.2. Résistance acquise**

D'après **Calcagno et Lacroix (2011)** la résistance acquise désigne l'acquisition, suite à l'emploi d'antibiotiques, d'une résistance pour une souche originellement sensible. Bien qu'elle ne concerne que quelques souches d'une même espèce mais peut s'étendre à d'autres bactéries. Cette résistance peut provenir par une mutation chromosomique (soit dans un gène de régulation, de production d'enzymes par exemple, soit dans un gène de structure d'une enzyme) (**Mainardi et al., 1996**) ou par l'acquisition de matériel génétique étranger par le biais de plasmides, de bactériophages ou de transposons (**Davies, 1997**). Il a été démontré que le transfert horizontal de gènes de résistance et les mécanismes utilisés sont ; la conjugaison (transfert de plasmide d'une bactérie à une autre qui peut être d'espèce différente), la transduction (avec un bactériophage comme vecteur) et la transformation (capture d'ADN par la bactérie) (**Baudry et Brezellec, 2006**).

### **3. Activités biologiques des huiles essentielles**

Les HEs ont montré plusieurs capacités thérapeutiques et médicinales ; tels que l'activité antimicrobienne (**Lima, 1992 ; Elgayyar et al., 2001**) anti-inflammatoire (**Vazquez et al., 1996 ; Park et al., 1998**), anticarcinogène (**Aruna et Sivaramakrishnan, 1996**), analgésique, antioxydante, antithrombotique (**Carson et Hammer, 2011**) et insecticide (**Konstantopoulou et al., 1992 ; Karpouhtsis et al., 1998**).

#### **3.1. Activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne inclue l'activité sur les bactéries, champignons, virus et protozoaires (**Jirovetz et al., 2006**) elle est généralement liée aux composés majoritaires que contient l'HE, tels que les monoterpènes, sesquiterpènes et les composés non terpéniques tels les phénylpropanoïdes ainsi que les composés soufrés qui sont souvent des composés antimicrobiens (**Carson et Hammer, 2011**).

### 3.1.1. Activité antibactérienne

Les molécules des HEs sont connus pour leur pouvoir antibactérien (**Deans et Ritchie 1987 ; Carson et al., 1995 ; Mourey et Canillac, 2002**) et surtout pour les deux groupes de bactéries gram+ et gram- qui ont démontrées une importante sensibilité *in-vitro* (**Carson et Hammer, 2011**). Les techniques suivis pour évaluer cette activité sont souvent des méthodes de diffusion ou de dilution (**Rios et al., 1988**). En effet, la méthode de diffusion est souvent celle des disques ou de puits, tandis que les méthodes de dilution en milieu liquide ou solide servent à déterminer les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides (**Kalemba et Kunicka, 2003 ; Burt, 2004 ; Lahlou, 2004 ; Holley et Patel, 2005 ; Wilkinson, 2006**). Selon **Hulin et al., (1998)** de nombreuses études ont montré une activité antibactérienne contre un large spectre de souches bactériennes, telles que *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteria*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*.

Une étude expérimentale menée par **Gutierrez et al., (2008)** a montré que les HEs présentent aussi une activité antibactérienne sur les enthéropathogènes zoonotiques y compris *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* O157 :H7, *Campylobacter jejunii* et *Clostridium perfringens*. L'HE de *Premna integrifolia* possède une activité antibactérienne contre un ensemble de souches pathogènes ce qui peut être due à la présence de mono- et sesquiterpènes oxygénés (**Rahman et al., 2016**). Le carvacrol, l'isoeugénol, le nérol, le citral et le sabinène sont considérées parmi les composants des HEs qui présentent un effet vis-à-vis *Helicobacter pylori* (**O'Gara et al., 2000**). Le thymol et le carvacrol (composés majeurs de l'HE de thym et d'origan) ont montré une activité inhibitrice sur les bactéries pathogènes telles que *E. coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella choleraesuis* et *Salmonella typhimurium* (**Burt, 2004**). Il a été démontré que l'eugénol, le terpenen-4-ol et le carvacrol ont prouvé une activité contre la croissance de quatre souches d'*Escherichia coli* O157 :H7 et de *Listeria monocytogenes* (**Santoyo et al., 2006**). Il existe plusieurs HEs sont avérées actives sur un ensemble de bactéries principalement l'HE de *Thymus vulgaris* et *Melaleuca alternifoli* qui peuvent inhiber la croissance de nombreuses souches tels que *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *P. aeruginosa* et *K. pneumonia* (**Bharti et al., 2012**).

### 3.1.2. Activité antivirale

Depuis les dernières années de nombreuses publications ont décrit l'activité antivirale *in-vitro* d'une large gamme d'HEs. La majorité de ces travaux a été conduit sur les virus de la grippe et de l'herpès simplex (HSV 1 et 2) qui provoquent certaines des infections virales les

plus courantes chez les humains (Carson et Hammer, 2011), à titre d'exemple l'HE de *Melissa officinalis* qui contient le citral et le citronellal inhibe la réplication du HSV-2 (Allahverdiyev et al., 2004). Plusieurs HEs ont été testé sur le virus de la grippe tels que ; d'*Artemisia glabella* (Seidakhmetova et al., 2002), *Cynanchum stauntonii* (Zai-Chang et al., 2005), *Origanum acutidens* (Sökmen et al., 2004), et le *cinnamaldehyde* (Hayashi et al., 2007). Une étude menée par Edris (2007) a montré qu'un nombre appréciable des HEs ayant une activité antivirale puissante mais malheureusement il n'y a pas d'étude sur l'activité antivirale des HEs contre les principaux virus de notre époque, tels que le VIH et l'hépatite C.

### 3.1.3. Activité antifongique

Les HEs et leurs composants présentent un effet contre les champignons. Un large éventail de pathogènes fongiques montrent une importante sensibilité aux HEs *in-vitro*, ce qui accroît l'intérêt pour leur application thérapeutique ou industrielle. Par conséquent, parmi les pathogènes humains et animaux ciblés, les levures du genre *Candida* et les dermatophytes comme *Epidermophyton*, *Microsporum* et *Trichophyton* qui ont prouvé un grand intérêt (Hammer et al., 1996 ; Hammer et al., 1999 ; Yu et al., 2004 ; Preuss et al., 2005). Une activité antifongique importante contre les champignons responsables de la détérioration des aliments a été démontré sur plusieurs espèces d'*Aspergillus*, *Microsproum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Eurotium*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Zygosaccharomyces* et *Candida* (Cosentino et al., 2003 ; Holley et al., 2005). Razzaghi-Abyaneh et al., (2009) ont montré que le carvacrol et le thymol sont considérés parmi les composants des HEs responsables de l'activité antifongique.

### 3.1.4. Activité anti protozoaire

De nombreuse HEs ont prouvé une activité anti protozoaire remarquable (Anthony et al., 2005). *Leishmania* spp sont les agents responsables de la leishmaniose, ces espèces ont montré une sensibilité aux HEs notamment celle de *Ocimum gratissimum* (Ueda-Nakamura et al., 2006) et *Thymus vulgaris* (Mikus et al., 2000), certains composants tels que le limonène, le nérolidol (Arruda et al., 2005), le linalol (Rosa et al., 2003) et le terpinen-4-ol ayant le même effet (Mikus et al., 2000). Aussi *Leishmania amazonensis* s'est révélée sensible à l'HE de *Croton cajucara* riche en linalol et à l'HE de *Chenopodium ambrosioides* (Carson et Hammer, 2011). Il a été rapporté que l'HE de citronnelle *Cymbopogon citratus* a montré une activité antitrypanosomienne *in-vitro* contre *Crithidia deanei* (Pedroso et al., 2006) de même l'HE d'*Ocimum gratissimum* contre *Herpetomonas samuelpessoai* (Holetz et

*al.*, 2003). Une étude *in-vivo* faite par Tchoumboungang *et al.*, (2005) a montré que les HES de *Cymbopogon citratus* et *Ocimum gratissimum* ayant une activité anti protozoaire contre *Plasmodium berghei*. Les voies d'administration intrapéritonéale et orale de l'HE de *Chenopodium ambrosioides* chez la souris ont empêché le développement des lésions et retardé l'évolution de l'infection par *Leishmania amazonensis* par rapport aux souris non traitées (Monzote *et al.*, 2007).

### 3.2. Activité antioxydante

Shaaban *et al.*, (2012) ont montré que l'activité antioxydante est l'un des sujets les plus abordés dans la recherche sur les HES ; suite aux dommages engendrés par les réactions d'oxydation sur l'ensemble des substances biologiques qui par conséquence peuvent 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. Les HES présentent des propriétés antioxydantes et antiradicalaire (Lou *et al.*, 2017) tels que l'HE de *Bidens pilosa* (Deba *et al.*, 2008). Les terpènes et terpénoides sont les composés responsables de l'activité antioxydante y compris :  $\alpha$ -terpinène,  $\beta$ -terpinène et  $\beta$ -terpinolène présents chez *Melaleuca alternifolia*, 1.8-cinéole dans *Mentha aquatic* L., *Mentha longifolia* L., et *Mentha piperita* L., menthone et isomenthone dans *Mentha longifolia* et *Mentha piperita*, thymol, eugenol et linalool dans le cumin, cannelle et gingembre (El-massry *et El-Ghorab*, 2006). D'après Yanishlieva- Maslarova, (2001) les HES sont une source importante d'antioxydants naturels et peuvent être utilisées en étant une alternative aux antioxydants synthétiques, afin de prévenir plusieurs maladies dégénératives.

#### 3.2.1. Le stress oxydatif

Sies (1991) a définie le stress oxydatif comme étant le déséquilibre entre les systèmes prooxydants et antioxydants. Dans les circonstances quotidiennes normales, les radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité afin de servir d'intermédiaires des processus physiologiques tels que le fonctionnement de certaines enzymes, la transduction de signaux cellulaires, la défense immunitaire contre les agents pathogènes, la destruction par apoptose des cellules tumorales, la différenciation cellulaire, la régulation de la dilatation capillaire, le fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, la fécondation de l'ovule ou encore, la régulation des gènes, phénomène appelé contrôle redox des gènes (Favier, 2003).

### 3.2.2. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome, molécule) neutre ou chargée, possédant un ou plusieurs électrons libres dits « célibataires » sur son orbitale externe (Lehucher-Michel *et al.*, 2001). Dacosta (2003) et Koechlin-Ramonatxo (2006) ont indiqué que cet état lui confère une instabilité énergétique et cinétique ; sa durée de demi-vie étant très courte ( $10^{-6}$  à  $10^{-9}$  s), ce qui le pousse à réagir très rapidement avec d'autres composants, cherchant à rattraper ses électrons célibataires pour acquérir la stabilité. Les molécules attaquées deviennent à leur tour des radicaux libres, initiant de cette façon un processus de réaction en chaîne. De plus parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer celles dites « primaires », qui dérivent directement de l'oxygène et qui jouent un rôle particulier en physiologie, de celles dites « secondaires », ces dernières se forment par réaction des radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Novelli, 1997). Donc l'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs sont souvent appelés espèces réactives oxygénées (ERO).

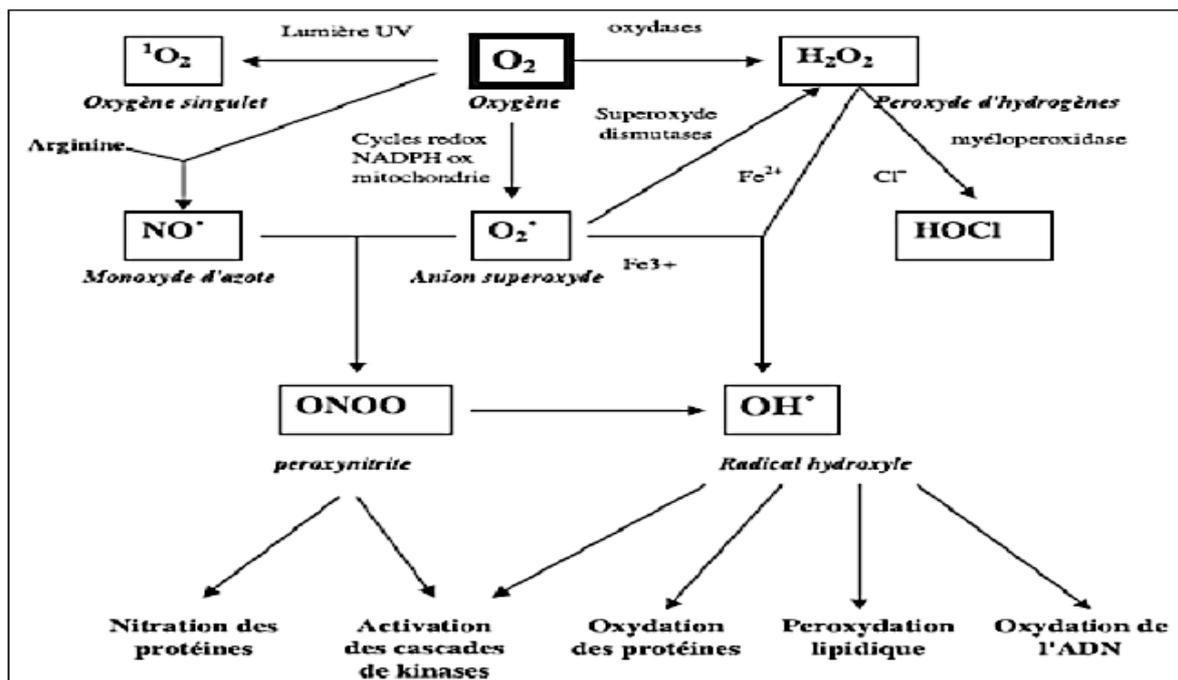


Figure n°11. Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

### 3.2.3. Les antioxydants

D'après Berger (2006) un antioxydant désigne toute substance capable à concentration relativement faible d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder

ou empêcher l'oxydation de ces derniers. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène. Par conséquent la nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon le milieu intracellulaire ou extracellulaire. Les défenses antioxydantes de notre organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et systèmes non enzymatiques (**Goudable et Favier, 1997**).

### **1. Systèmes enzymatiques**

Principalement le système enzymatique s'agit de trois enzymes : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Bien que ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) et du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (**Lehucher-Michel et al., 2001**).

### **2. Systèmes non enzymatiques**

D'après **Favier (2003)** ; **Durand et Beaudeau (2011)** ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles : le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, les hormones sexuelles (œstrogènes), la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoïque et le coenzyme Q. Parmi ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intracellulaire) qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ) (**Favier, 2003**). Ce sont principalement les composés phénoliques, à savoir, le thymol et le carvacrol qui sont les plus actifs (**Richard, 1992 ; Bouhdid et al., 2006**). Leur activité est à mettre 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**).

### **3. Mécanismes d'action des antioxydants**

Principalement les antioxydants sont des agents de prévention, ils bloquent la phase d'initiation du processus d'oxydation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène ou des agents de terminaison capables de piéger les radicaux libres en formant des produits finis non radicalaires. Également ils peuvent chélater des traces métalliques responsables de la production des espèces réactives oxygénées ou encore interrompre la réaction en chaîne de peroxydation et peuvent réagir rapidement avec un radical d'acide gras

avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Par contre d'autres, absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (**Favier, 2006**). Ils visent également à protéger les systèmes cellulaires des effets des processus potentiellement nocifs qui causent l'oxydation excessive (**Hale, 2003**).

### **3.3. Activité anti-inflammatoire**

#### **3.3.1. L'inflammation**

**Dayer et Schorderet, (1998)** définent la réaction inflammatoire (inflammation) comme étant la réponse des tissus vivants à une agression d'origine physique, chimique ou biologique dans le but de maintenir son intégrité. Ce phénomène se caractérise par de la rougeur, de la douleur, de la chaleur, de la tuméfaction et parfois une perte de fonction de la partie du corps affectée (**Sizer et Whitney, 2013**). Habituellement c'est un processus bénéfique pour l'hôte agressé, mettant en jeu de nombreux systèmes biologiques qui visent à éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. En revanche elle peut être néfaste du fait de l'agressivité du pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation ou encore des régulations anormales du processus inflammatoire pouvant par conséquent engendrer des dommages irréversibles (**Lechat et al., 1990 ; Clos, 2012**).

#### **3.3.2. Types d'inflammation**

##### **1. Inflammation aigue**

C'est la réponse immédiate ou précoce à une blessure et d'une durée relativement courte, allant de quelques minutes à quelques jours (8 - 10 jours) (**Rote, 1998 et Kumar et al., 2010**). Ce type se guérit spontanément ou avec un traitement, mais peut laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (**Serhan et al., 2010**). Principalement sa prédominance est vasculaire, constituée par une réaction microcirculatoire intense entretenue et amplifiée par la libération des médiateurs humoraux (**Bouhassira et Calvino, 2009**). Trois grandes phases caractérisent ce type d'inflammation :

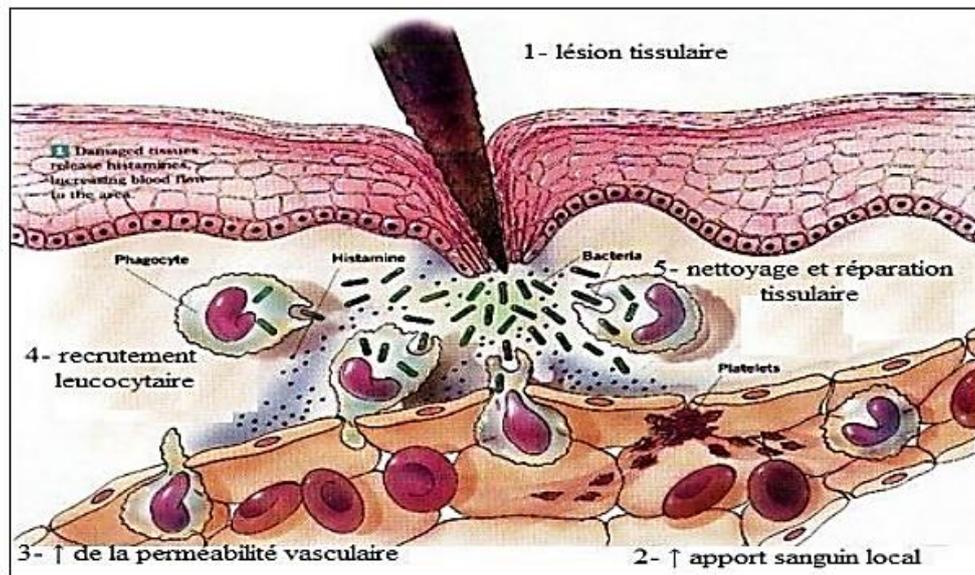


Figure n° 12. Phases de la réaction inflammatoire (Bounihi, 2016).

#### • Phase vasculaire

Il a été rapporté que cette phase débute par une vasoconstriction artériolaire extrêmement brève, de quelques secondes, sous l'action du système nerveux sympathique. Puis suivie d'une vasodilatation des vaisseaux sanguins avec une augmentation du débit local, ce qui explique en partie l'apparition de rougeur et d'hyperthermie locale. La vasodilatation est initiée et entretenue par la libération de médiateurs chimiques tels que les cytokines et les substances vasoactives (histamine, bradykinine, sérotonine, prostaglandine et dérivés du complément), ce qui entraîne l'exsudation de cellules et du plasma vers les tissus et aboutit à la constitution d'un œdème interstitiel (Cousins et Power, 1999 ; Weil et Batteux, 2003 ; Gouilly et Petitdant, 2006).

#### • Phase cellulaire

La phase cellulaire est caractérisée par un afflux extra-vasculaire interstitiel (diapédèse) de leucocytes évoluant en trois phases. D'abord la 1<sup>ère</sup> se met en place dans les premières minutes et met en jeu les polynucléaires neutrophiles et les monocytes/macrophages qui auront pour fonction la phagocytose des microorganismes pathogènes et des tissus lésés. Suivi par la 2<sup>ème</sup> phase impliquant des lymphocytes porteurs de récepteurs pour l'antigène peu variables qui vont contribuer à l'élimination des microorganismes. Par conséquent si ces deux premières étapes n'ont pas été suffisantes pour contrôler définitivement l'infection, d'autres systèmes de défense impliquant l'activation de lymphocytes B et T spécifiques, se mettront en place (Weil et Batteux, 2003).

- **Phase de résolution**

Selon **Gouilly et Petitdant (2006)** après phagocytose du foyer inflammatoire et destruction de l'agent causal, la réaction inflammatoire prend fin spontanément. En fin une réparation tissulaire par cicatrisation aboutit à un tissu conjonctif néoformé remplaçant le tissu détruit et ce par la synthèse de collagène, la multiplication cellulaire (fibroblastes) et la néogénèse vasculaire à partir des capillaires persistants ou localisés en périphérie du site (**Kidd et Urban, 2001 ; Meunier et al., 2004**).

## **2. Inflammation chronique**

**Serhan et al., (2010)** ont rapporté que l'inflammation chronique correspond à une inflammation n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée et qui évolue en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années. En parallèle les signes de début sont identiques à ceux d'une inflammation aiguë, mais les destructions tissulaires sont plus graves et ont des conséquences fonctionnelles profondes. Le mécanisme de la chronicité n'est pas toujours évident. Dans certains cas, elle tient à la persistance d'une substance pathogène que l'organisme est incapable d'éliminer, l'inflammation échoue dans sa première finalité qui est le maintien de l'intégrité du soi (**Weil et Batteux, 2003**).

### **3.3.3. Les anti-inflammatoires**

#### **1. Les anti-inflammatoires traditionnels**

Depuis longtemps les plantes sont utilisées pour la prévention ou le traitement des maladies, y compris les maladies inflammatoires telles que le rhumatisme, l'arthrose, l'œdème et l'eczéma (**Ko et al., 2014**). Leurs composés bioactifs peuvent servir de matrice pour la synthèse de nouveaux médicaments anti-inflammatoires tout en ayant des effets secondaires minimes et des effets pharmacologiques très puissants (**Agyare et al., 2013**). Des composés tels que les flavonoïdes, les tanins et les HEs, sont présumés agir en bloquant les voies des enzymes pro-inflammatoires notamment, la cyclo-oxygénase et la lipoxygénase (**Lee et al., 2003 ; Sadik et al., 2003 ; Rhind, 2012**). L'effet anti-inflammatoire des HEs a été mis en évidence par de nombreux travaux. Il est dû aux monoterpènes hydrocarbonés, sesquiterpènes hydrocarbonés et aux alcools sesquiterpéniques (**Chao et al., 2005**) notamment, thymol, carvacrol, *p*-cymène, linalool, bornéol, 1.8-cinéole (eucalyptol), menthol,  $\alpha$ -terpinéol,  $\alpha$ -pinène et  $\alpha$ -terpinène (**Veras et al., 2013 ; de Cássia da Silveira et al., 2013**).

**2. Les anti-inflammatoires conventionnels**

Les anti-inflammatoires sont nombreux et appartiennent à des familles de médicaments différents puis que se trouve des analgésiques, des corticoïdes et des antihistaminiques (**Yvan, 1997**). Selon leur mode d'action ils sont divisés en deux catégories :

- **Anti inflammatoires stéroïdiens (AIS)**

Selon **Drogoul et Germain (1998)** les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou corticoïdes sont des analogues de synthèse de la cortisone, hormone sécrétée par les glandes surrénales. Les corticoïdes ont une efficacité nettement démultipliée par rapport à la cortisone. Dans l'ordre croissant d'activité, se trouve la prednisolone, la dexaméthasone et la fluméthasone. Ils agissent sur toutes les étapes de la réaction inflammatoire. En parallèle ils possèdent un effet immunosuppresseur non négligeable. Par contre l'utilisation de ces médicaments à long terme pour maintenir leurs bienfaits s'accompagne d'un risque accru d'effets secondaires tels que les troubles dermatologiques, déficit musculo-squelettique (faiblesse, atrophie musculaire et ostéoporose), arrêt de croissance, diabète, troubles neurologiques (vertige, maux de tête, convulsions et hypertension intracrânienne bénigne) ou encore, une aggravation des infections oculaires et une perte visuelle permanente (**Russo-Marie, 1998; Buchmann, 2001 ; Bontoux et al., 2014**).

- **Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des molécules qui ne présentent pas d'analogie avec les corticoïdes ou les hormones stéroïdiennes et qui forment un groupe hétérogène de médicaments, agissant sur les conséquences de la réaction inflammatoire quelle que soit son origine (**Yvan, 1997 ; Drogoul et Germain, 1998**). Parmi ces molécules existent les anti-inflammatoires salicylés (Aspirine), les oxicams (Feldène, Tilcotil, Mobic), les dérivés propioniques (Profénid, Apranax, Naprosyne, Cébutid), indoliques (Indocid) et des dérivés arylacétiques (Voltarène) (**Sany, 2003**). De plus, les AINS possèdent trois propriétés thérapeutiques : antipyrétique, antalgique et anti-inflammatoire. Par conséquent leur action est puissante et se manifeste rapidement en quelques heures ou quelques jours mais reste réduite par rapport à celle des AIS. Ils agissent en diminuant la production des prostaglandines et des thromboxanes en inhibant l'activité de la cyclo-oxygénase (**Bontoux et al., 2014**). Les HEs ont la propriété de combattre les inflammations (**Moro Buronzo, 2008**) qui sont souvent associées à certaines maladies y compris l'hypertension, le cancer, l'accident vasculaire cérébral (**Schmid, 2006**). Principalement l'activité anti-inflammatoire est due aux

aldéhydes trouvés dans les HEs (Moro Buronzo, 2008). De même Inouye et al., (2001) ont indiqué que l'inhalation des vapeurs des HEs ont un effet anti-inflammatoire et réduit l'asthme. Il a été rapporté que l'Aloe vera est l'un des meilleures plantes connues par leur effet anti-inflammatoire (Vogler et Ernst, 1999). En effet, l'HE de cette espèce présente la plus grande activité inhibitrice de la lipoxigénase (96%) (Wei Shibamoto, 2010).

### **3.4. Activité anticancéreuse**

De nombreuses études faites par Morshedloo et al., (2017) ont indiqué que les HEs en tant qu'antioxydants naturels, ont montré une activité efficace contre la prolifération des cellules cancéreuse. Comme exemple les HEs d'*Elsholtzia ciliata* a prouvé une activité antiproliférative *in-vitro* contre les cellules du cancer de pancréas et de sein (Pudziuvelyte et al., 2017), de *Casaeria sylvestris* et *Zanthoxylum rhoifolium* ont été testées sur les cellules cancéreuses de cancer du col de l'utérus, du côlon et du poumon (Silva et al., 2007 ; Silva et al., 2008), de *Salvia libanotica* contre les lignées cellulaires du cancer du côlon (Itani et al., 2008), de *Schefflera heptaphylla* contre les lignées cellulaires cancéreuses du sein, du foie et du mélanome (Li et al., 2009) et *Tetraclinis articulata* contre les lignées cellulaires cancéreuses humaines du mélanome, du sein et de l'ovaire (Carson et Hammer, 2011). Selon Elson et al., (1999) ; Tatman et Mo (2002) ; Joo et Jetten (2009) plusieurs isoprénoides présents dans les HEs inhibent la prolifération des lignées cellulaires cancéreuses *in-vitro*, notamment le carvacrol, citral, *p*-cymène, farnésol, géraniol, d-limonène, nérolidol, l'alcool périllylique, pinène, terpinéol, thymol et verbénone. Par conséquent, les HEs et leurs composants peuvent également exercer des effets anticancéreux grâce à leurs propriétés antimutagènes, anti-angiogéniques, anti-inflammatoire (Issa et al., 2006 ; Tabanca et al., 2007).

# *Chapitre IV*

---

## **Matériel et Méthodes**

## 1. Matériels biologiques

### 1.1. Matériel végétal

#### 1.1.1. Récolte

Les feuilles de l'espèce d'*Artemisia campestris* L. ont été récoltées durant le mois d'avril 2019 dans la région de Hassi Bahbah située au Nord-Ouest de la wilaya de Djelfa (longitude : 3°03'59.87" E, latitude : 34°54'10.04" N et altitude : 879 m) (Figure n°13). Les feuilles de l'espèce de *Cistus laurifolius* L. ont été récoltées durant le mois de mars 2019 dans la Forêt de Bissa (Sidi Akkacha) située au Nord-Est de la wilaya de Chlef (longitude : 1°27'17.806 E, latitude : 36°26'30".144 N, et altitude : 959 m) (Figure n°14). Les deux espèces récoltées ont été identifiées par Belhassaini Hachmi, professeur à l'université de Sidi Bel-Abbas, Algérie. Les deux espèces ont été collectées manuellement. Un voucher spécimen de chaque espèce (A.c ONA 2018 ; C.l ONA 2018) a été déposé au niveau de Laboratoire de Microbiologie et de Biologie Végétale (Université de Mostaganem, Algérie). Les feuilles d'*Artemisia campestris* L et de *Cistus laurifolius* L ont été par la suite rincées puis séchées à l'air libre à température ambiante et à l'ombre pendant 15 jours, jusqu'à la stabilisation de leur masse afin de préserver l'intégrité des molécules (**Bendif Hamdi, 2017**). Une certaine quantité des feuilles a été récupérée avant lavage pour déterminer le taux d'humidité (**Abdelli et al., 2017**). Les coordonnées géographiques sont listées ci-dessous (Tableau n°5).

**Tableau n°5.** Coordonnées géographiques de la récolte des espèces étudiées.

Espèce	Région	Coordonnées géographiques
<i>Cistus laurifolius</i> L	Forêt de Bissa Sidi Akkacha (Chlef)	Altitude : 959 m
		Longitude : 1°27'17.806 E
		Latitude : 36°26'30".144 N
<i>Artemisia campestris</i> L	Hassi Bahbah (Djelfa)	Altitude : 879 m
		Longitude : 3° 03' 59 87" E
		Latitude : 34° 54'10 04" N

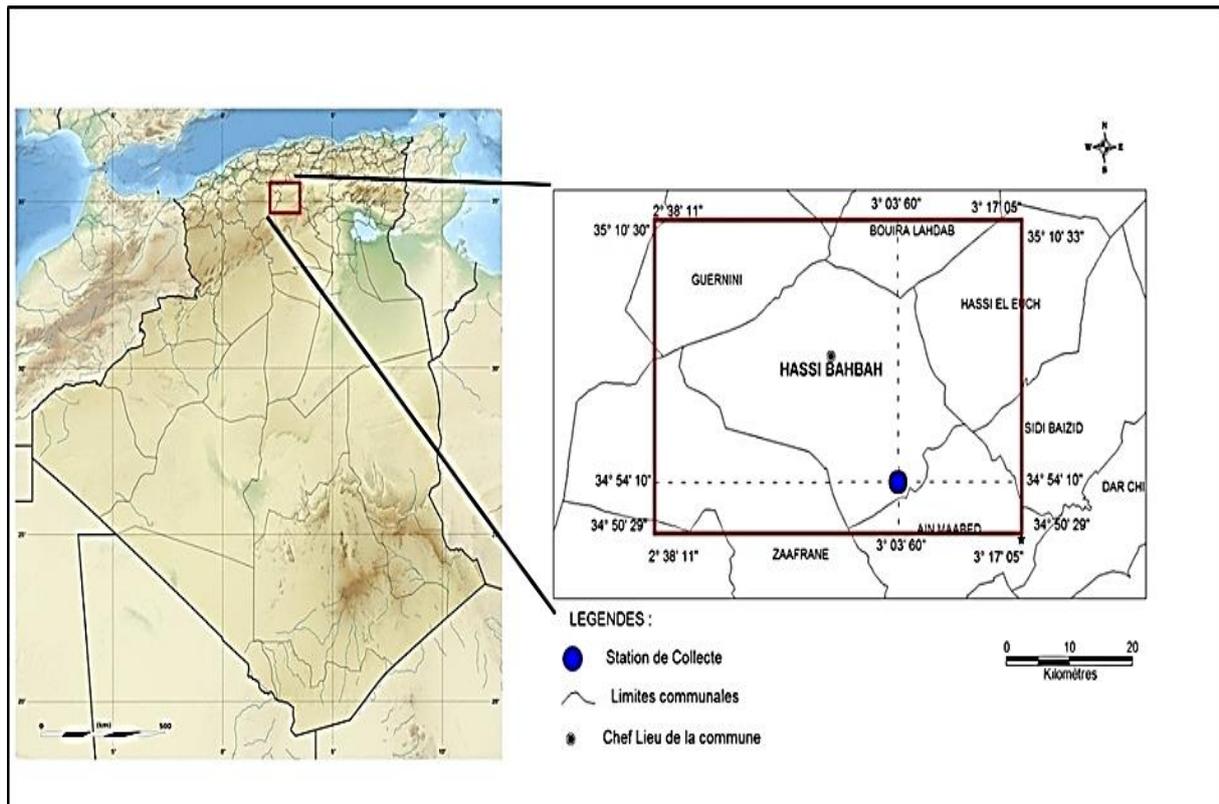


Figure n°13. Situation géographique de la station de collecte d'*Artemisia campestris* L.

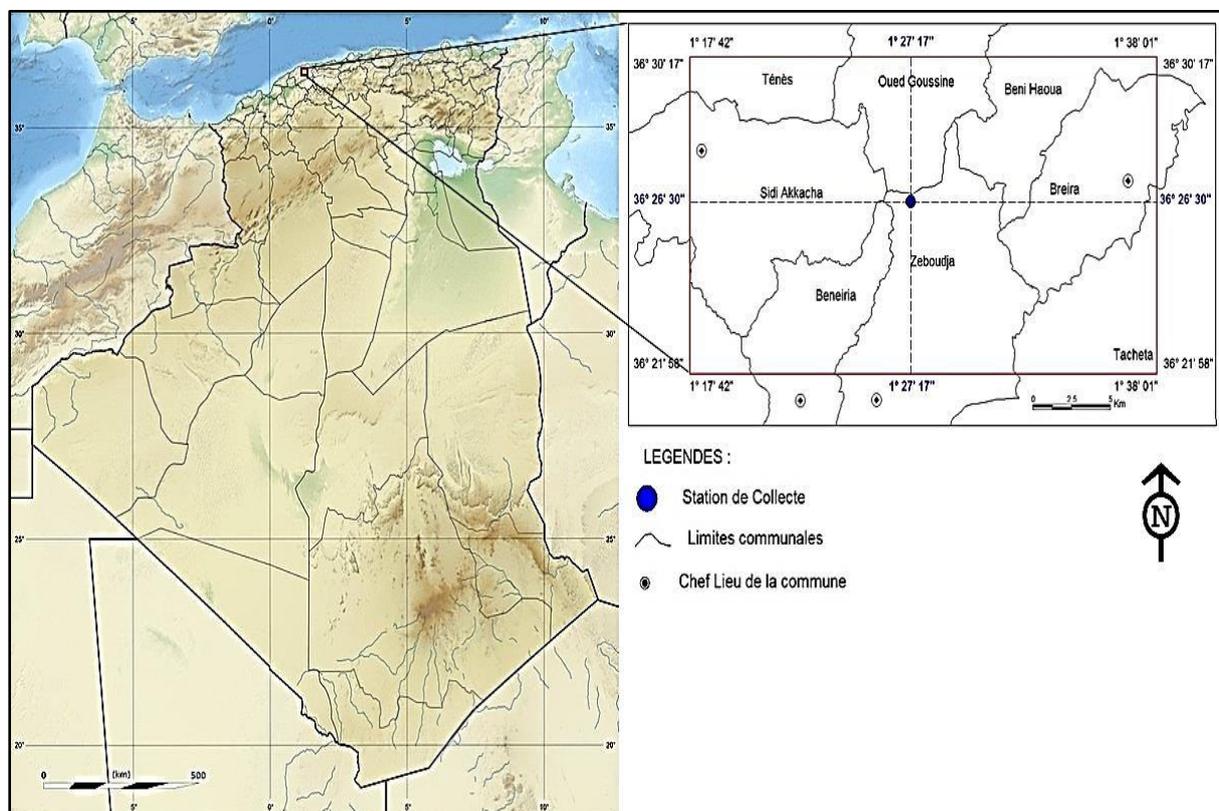


Figure n°14. Situation géographique de la station de collecte de *Cistus laurifolius* L.

### 1.1.2. Détermination du taux d'humidité

La teneur en humidité des feuilles a été déterminée par le procédé de séchage à l'étuve. Une quantité des feuilles fraîches d'une masse de  $5\text{g} \pm 0.01$  a été exposée à une température de  $105^{\circ}\text{C} \pm 5$  dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant (Twidwell et al., 2002 ; Bourkhiss et al., 2009).

**Expression des résultats :** le taux d'humidité est calculé par la formule suivante :

$$\text{H\%} = [(\text{poids } \alpha - \text{poids } \beta) / \text{poids } \alpha] \times 100$$

Où  $\alpha$  : Poids de l'échantillon (plante fraîche) en gramme ;

$\beta$  : Poids de l'échantillon (plante sèche) en gramme ;

H% : Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

## 2. Screening phytochimique

### 2.1. Principe

Le screening phytochimique est indispensable dont le principe consiste à mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans une drogue donnée. Mais il ne renseigne pas sur la nature des molécules, par contre les tests de caractérisation phytochimiques présentent des imprécisions car ils sont basés en partie sur l'analyse qualitative. Ces tests sont basés principalement soit sur ; la formation de complexes insolubles en utilisant les réactions de précipitation, soit sur la formation de complexes colorés en utilisant les réactions de coloration. Le screening phytochimique a été réalisé sur les feuilles et les tiges pour *Cistus laurifolius* L. et sur les feuilles et rameaux pour l'*Artemisia campestris* L ; en suivant la méthode décrite par Sofowora (1993) et Trease et Evans (2002).

### 2.2. Mode opératoire

#### 1. Alcaloïdes

A 10 g de poudre végétale introduite dans un erlenmeyer de 250 mL 50 mL d'une solution d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) à 10% sont ajoutés, après une macération à température ambiante pendant 24 (h) le macéra est filtré puis lavé à l'eau distillée de manière à obtenir 50 mL de filtrat.

**Caractérisation**

1 mL de filtrat est prélevé et introduit dans un tube à essai auquel 5 gouttes du réactif de Wagner sont ajoutées. 1 mL de filtrat est prélevé et introduit dans un tube à essai auquel 5 gouttes du réactif de Mayer sont ajoutées. La formation d'un précipité de couleur brune pour la première réaction et blanc jaunâtre pour la deuxième indique la présence d'alcaloïdes.

**2. Polyphénols**

5 g de poudre végétale sont introduits dans 100 mL d'eau distillée bouillante contenu dans un erlenmeyer de 250 ml et après infusion de 15 min le mélange est filtré puis rincé avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 100 mL d'infusé à 5%.

**2.1. Tanins****Réaction de coloration :**

5 mL d'infusé (5%) sont introduits dans un tube à essai auquel 1 mL d'une solution aqueuse diluée de chlorure de fer (III) ( $\text{FeCl}_3$ ) (1%) est ajouté. Une coloration verdâtre ou bleu noirâtre, caractérise la présence de tanins.

**Réaction de Stiasny (différenciation des tanins) :**

A 30 mL d'infusé à 5%, 15 mL de réactif de Stiasny sont ajoutés puis le mélange est chauffé pendant 15 min au bain-marie à 90°C. Un précipité important de couleur rose indique la présence de tanins catéchiques, le mélange est filtré et saturé par 5g d'acétate de sodium ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ), puis 1 mL d'une solution de chlorure de fer (III) ( $\text{FeCl}_3$ ) à 1% est ajouté. L'obtention d'une teinte bleu-noire témoigne de la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

**2.2. Flavonoïdes**

Il existe plusieurs tests de caractérisation permettant la mise en évidence de différents types de flavonoïdes, parmi lesquelles le test d'anthocyane.

**2.2.1. Anthocyane**

A 5 mL d'infusé, 5 mL d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) à 10% puis 5 mL d'hydroxyde d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) à 50% sont ajoutés. La présence d'anthocyanes est caractérisée par une coloration s'accroissant par acidification puis virant au bleu violacé en milieu basique.

**2.3. Dérivés anthracéniques****Préparation de l'extrait chloroformique**

Un volume de 10 mL de chloroforme est ajouté à 1g de poudre végétale ensuite le mélange est chauffé au bain-marie pendant 3 min puis filtré à chaud et complété à 10 mL si nécessaire.

**Hydrolysât**

10 mL d'eau distillée et 1 mL d'HCl concentré sont ajoutés à une partie du résidu de la poudre épuisée par le chloroforme, le mélange est chauffé dans le bain-marie bouillant pendant 15 min puis est refroidi sous un courant d'eau et filtré, il est ensuite complété à 10 mL avec de l'eau distillée.

**2.3.1. Dérivés anthracéniques libres (réaction de Bornträger)**

A 1 mL d'extrait chloroformique introduit dans un tube à essai 1 mL hydroxyde d'ammonium (NH<sub>4</sub>OH) dilué à 50% est ajoutée, puis le mélange est agité. La présence d'anthraquinones libres est caractérisée par une coloration plus ou moins rouge.

**2.3.2. Dérivés anthracéniques combinés****• O-hétérosides**

5 ml d'hydrolysât sont prélevés et agités avec 5 ml de chloroforme. Ensuite la phase organique est soutirée et introduite dans un tube à essai auquel 1 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH<sub>4</sub>OH) dilué est ajouté, le tout est agité. La phase aqueuse est conservée pour d'autres utilisations ultérieures. Une coloration rouge plus ou moins intense est révélée par une réaction positive. Si la réaction est négative ou faiblement positive, la recherche des O-hétérosides à génine réduite est entamée.

**• O-hétérosides à génine réduite**

3 à 4 gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 10% sont ajoutées à 5 mL d'hydrolysât, le mélange est chauffé au bain-marie pendant 4 mins puis refroidi et agiter avec 5 mL de chloroforme. Par la suite la phase chloroformique est soutirée et introduite dans un tube à essai auquel nous ajoutons 1 mL d'hydroxyde d'ammonium (NH<sub>4</sub>OH) dilué avec agitation. La coloration s'intensifie en présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones.

**• C-hétérosides**

La phase aqueuse qui a été conservée précédemment est reprise par 10 mL d'eau distillée puis 1 mL de FeCl<sub>3</sub> à 10 % est ajouté. Le tube à essai est maintenu dans le bain-marie bouillant pendant 30 mins puis refroidi et agité avec 5 mL de chloroforme. La phase chloroformique est soutirée et introduite dans un tube à essai auquel nous ajoutons 1 mL d'hydroxyde d'ammonium (NH<sub>4</sub>OH) dilué puis nous agitions. La présence de génines de C-hétérosides est caractérisée par une coloration rouge plus ou moins intense.

**2.4. Saponosides**

Un décocté à 1% est préparé en introduisant 1g de poudre végétale dans un erlenmeyer de 250 ml contenant 100 ml d'eau distillée bouillante puis la suspension est maintenue en ébullition moyen pendant 15 mins puis est filtrée après refroidissement et complétée à 100 mL.

**Caractérisation**

Dans une série de 10 tubes à essais numérotés de 1 à 10, des volumes allant de 1 à 10 ml de décocté à 1% y sont introduits successivement. Ensuite chaque tube est ajusté à 10 mL avec de l'eau distillée puis est agité dans le sens de la longueur pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde (soit 30 agitations). Après un temps de repos de 15 mins la hauteur de la mousse dans chaque tube est mesurée. Le tube dans lequel la hauteur de la mousse est de 1cm permet de calculer l'indice de mousse.

$$\text{Idm} = 1000/N$$

Où

- Idm : Indice de mousse ;
- N : Numéro du tube dans la hauteur de la mousse est de 1cm.

L'Idm est inférieur à 100, si la hauteur de la mousse est inférieure à 1cm dans tous les tubes, En revanche si la hauteur est supérieure à 1 cm, l'Idm est supérieur à 100.

**2.5. Stérols et triterpènes**

A 1g de poudre végétale, 20 mL d'éther sont ajoutés, après une macération de 24 h le mélange est filtré et complété à 20 mL avec de l'éther. En effet l'extrait obtenu servira en plus des stérols à la caractérisation des coumarines.

**Caractérisation (réaction de Liebermann-Buchard)**

10 ml d'extrait éthéré est évaporé à sec et repris avec 1 ml d'anhydride acétique (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>) puis 1 ml de chloroforme (CHCl<sub>3</sub>). La solution obtenue est partagée dans deux tubes. 1 à 2 ml d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentré sont ajoutés, sans agitation, à l'aide d'une pipette au fond de l'un des tubes, l'autre servira de témoin. A la zone de contact des deux liquides, la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et triterpènes.

**Coumarines**

5 ml d'extrait étheré est évaporé à sec, le résidu est repris avec 2 ml d'eau chaude. La solution est ensuite partagée entre deux tubes à essais. Dans l'un des deux, 0.5 ml d'ammoniaque (NH<sub>4</sub>OH) à 25% est ajouté. Le mélange est observé sous rayonnement ultraviolet à 366 nm. La présence d'une fluorescence intense bleu verdâtre ou violette dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque, indique la présence de coumarines, l'autre tube sert de témoin.

**2.6. Autre caractérisation**

10 g de poudre végétale sont introduits dans un erlenmeyer contenant 100 mL d'eau distillée pour préparer un décocté à 10%, le mélange est porté à ébullition pendant 15 mins.

**2.6.1. Composés réducteurs**

5 mL de décocté à 10% introduit dans un bêcheur est évaporé au bain-marie jusqu'à sec, le résidu obtenu est repris avec 1 mL de réactif de Fehling (0.5 mL de réactif A + 0.5 mL de réactif B). La présence de composés réducteurs est indiquée par l'obtention d'un précipité rouge brique.

**2.6.2. Oses et holosides**

5 mL de décocté à 10% est évaporé au bain-marie jusqu'à sec, le résidu est repris avec 2 à 3 gouttes de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré puis 3 à 4 gouttes d'alcool saturé avec du thymol 5 mins après. La présence des oses et des holosides est caractérisée par une coloration rouge.

**2.6.3. Mucilages**

1mL de décocté à 10 % et 5 mL d'éthanol absolu sont introduits dans un tube à essai. L'obtention d'un précipité floconneux après 10 mins, indique la présence de mucilages.

### 3. Huiles essentielles

#### 3.1. Procédés d'extraction

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation pour les deux plantes étudiées.

##### 3.1.1. Hydrodistillation

L'extraction des huiles essentielles des feuilles sèches d'*A. campestris* et de *C. laurifolius* a été effectuée à l'aide d'un hydro-distillateur de type-Clevenger (figure n°15). 600 mL d'eau distillée sont ajoutés à 100 g du matériel végétal dans un ballon de 2 L, l'ensemble est porté à ébullition pendant 4H à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle, traversent le réfrigérant et se condensent ainsi avant de chuter dans une ampoule de décantation, l'huile se sépare par la suite de l'eau par différence de densité. L'HE obtenue est conservée à une température de  $-18^{\circ}\text{C}$  dans des tubes en verre opaques, fermés hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière jusqu'au moment de l'analyse afin d'éviter les changements de la composition chimique (Ahmed, 2011).

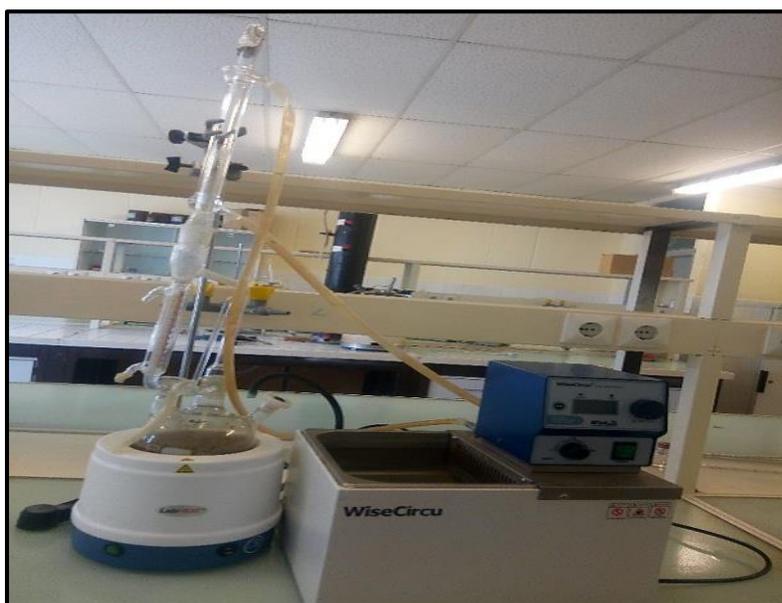


Figure n° 15. Hydro-distillateur de type Clevenger pour l'extraction des huiles essentielles.

##### 3.1.2. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse de l'HE obtenue après extraction ( $M'$ ) et la masse de la matière végétale ( $M$ ) utilisée (AFNOR, 1986). Le rendement d'extraction ( $R$ ) a été déterminé par la formule suivante (exprimé en pourcentage).

$$\text{RHE (\%)} = \frac{M'}{M} \times 100$$

Où RHE : Rendement en huile essentielle en % ;

M' : Masse d'huile essentielle en gramme(g) ;

M : Masse de la matière végétale en gramme (g).

#### 4. Analyse des huiles essentielles

L'analyse de la composition chimique des HEs des espèces étudiées a été effectuée par des techniques chromatographiques.

- La CPG (Chromatographie en Phase Gazeuse) nous a permis de séparer et de quantifier les composés.
- La CPG-SM (Chromatographie en phase gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse) nous a permis de déterminer les composés à l'aide des banques de données spectrales.

##### 4.1. Chromatographie en phase gazeuse (GC)

Les analyses ont été réalisées sur chromatographe en phase gazeuse de type Hewlett Packard Agilent 6890 équipé d'une colonne capillaire HP-5MS Phase stationnaire : 5% Phenyl 95 % dimethylpolysiloxane (Dimensions : long 30 m, d int 0.25 mm, épaisseur du film 0.25 µm). La température du four a été programmée de 60°C pendant 8min, 2°C/min jusqu'à 250°C, puis maintenue en isotherme pendant 10 mins. La durée d'analyse est de 113 min. Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été fixées à 250°C et 280°C, respectivement. Le gaz vecteur est l'hélium de grande pureté : N 6.0 ; avec un débit de 0.5 mL /min. Le volume d'échantillon d'huile essentielle injecté est de 0.2 µL en mode Split.1 ; 20.

##### 4.2. Chromatographie en phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse (GC/SM)

Les analyses par la Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC/MS) ont été effectuées par un Spectromètre de Masse Hewlett Packard Agilent 5973 de type Quadripôles. Le mode d'analyse est Scan TIC (de 30 à 550). Le délai du solvant est de 3.5 min. Les températures de la source ionique et de l'interface ont été réglées respectivement à 230°C et 280°C. Les spectres de masse ont été obtenus par un Impact Electronique « IE » (type d'ionisation) de 70 év (Intensité du filament).

Tableau n°6. Informations générales sur l'analyse effectuée par CPG-SM.

Type Column	HP-5MS
Volume d'injection	0.2 $\mu$ L
Temperature d'injection	250°C
Temperature d'interface	280°C
Mode d'injection	Split.1; 20
Gaz vector	Helium



Figure n° 16. Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG-SM).

### 4.3. Identification des composés chimiques

L'identification des composés chimiques de chacune de nos huiles essentielles étudiés a été réalisée en utilisant le logiciel ThermoXcalibur 1.2 en corrélant leurs spectres de masse avec ceux des bibliothèques ; Wiley 8<sup>ème</sup> édition, NIST08, bibliothèque (Adams, 2007), bibliothèque de terpénoïdes Mass Finder (König *et al.*, 2001) et (Babushok *et al.*, 2011). Selon Van Den Dool *et al.*, (1963), nous pouvons déterminer les indices de rétention.

## 5. Etude *in-vitro*

### 5.1. Etude de l'activité antibactérienne

#### Souches bactériennes de références testées

Pour le test d'activité antibactérienne, nous avons testé la sensibilité de six souches bactériennes de référence provenant de l'Institut Pasteur d'Alger vis-à-vis des agents antibactériens standards (Antibiotiques) et biologiques (huiles essentielles), il s'agit de quatre souches (Gram-négatives) et deux (Gram-positive) connues d'être responsables d'infections nosocomiales (tableau n°7).

**Tableau n°7.** Les souches bactériennes de références testées.

Souches	Code	Gram	Source
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Négative	Institut Pasteur d'Alger
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 35659	Négative	
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876	Positive	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Négative	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Positive	
<i>Klebsiella pneumonia</i>	ATCC 700603	Négative	

ATCC: American Type Culture Collection.

#### Antibiotiques

Les antibiotiques utilisés pour effectuer l'activité antibactérienne sont les suivants: Carbénicilline 100 (µg) (CAR), Céfazoline 30 (µg) (KZ), Chloramphénicol 30 (µg) (C), Doxycycline 30 (µg) (DXT), Erythromycine 15 (µg) (E), Gentamicine 30 (µg) (CN), Néomycine 30 (µg) (N), Oxacilline 5 (µg) (OX), Pipéracilline 30 (µg) (PRL), Polymyxine B 100 (IU) (PB), Triméthoprime-Sulfaméthoxazole 25 (µg) (SXT).

#### Préparation de l'inoculum bactérienne

Selon **Abdelli et al., (2019)** ; **Balouiri et al., (2016)** l'inoculum bactérienne est préparé à partir d'une culture jeune de 18 heures sur bouillon nutritif puis en les diluant dans l'eau physiologique stérile, la turbidité de chaque suspension est ajustée à 0.5 MacFarland qui correspond à  $(1-2) * 10^8$  UFC/mL.

**5.1.1. Etude de la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis des agents antibactériens standards (Antibiogramme)**

Le principe de l'antibiogramme repose sur l'étude de la sensibilité des souches bactériennes de références vis-à-vis des agents antibactériens standards (les antibiotiques). Cette technique consiste à déposer des disques imprégnés d'antibiotiques à tester à la surface du milieu Mueller Hinton agar préalablement ensemencé avec 100 µL de la suspension bactérienne à 10<sup>8</sup> UFC/mL afin de comparer l'effet antibactérien des HEs étudiées à celui des antibiotiques (NCCLS, 1997 ; Yakhlef *et al.*, 2011 ; Basli *et al.*, 2012). Par conséquent la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques est déterminée selon le même protocole qu'avec les disques de papier imprégnés des huiles essentielles.

**5.1.2. Effet antibactérienne des huiles essentielles étudiées (Technique de Vincent)**

L'application de cette technique repose sur le principe d'antibiogramme (NCCLS, 1997). Le milieu MHA déposé dans des boites de pétri est ensemencé avec 100 µL de la suspension bactérienne à 10<sup>8</sup> UFC/mL. Après un séchage de 30 minutes à 37°C des disques en papier Whatman vierge stériles de 6 mm de diamètre ont été imprégnés de 15 µL de chaque HE à tester et soigneusement déposés à la surface de la gélose préalablement ensemencé par la suspension de chaque souche bactérienne. Des témoins sont utilisés comme control négative. Par la suite les boites ont été incubées à 37°C pendant 24 h. Chaque test est répété trois fois. En effet, après incubation l'absence de la croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque, dont le diamètre de la zone d'inhibition est exprimé en mm (Perveen *et al.*, 2012). Le test témoin a pour but de confirmer que l'inhibition de la croissance bactérienne est due uniquement à la substance étudiée (huile essentielle). Il consiste à déposer à la surface de la gélose MH des disques en papier Whatman imbibés par DMSO « témoin négatif » (NCCLS, 1997).

**5.1.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

Selon Skandamis et Nychas (2001) la CMI est définie comme étant la plus faible concentration en HE capable d'inhiber la croissance microbienne de 90%. Dans notre étude la CMI a été déterminée par la méthode de micro-dilution en bouillon, en série diluée l'échantillon d'essai dans le bouillon est ensuite inoculé avec une souche bactérienne dans un micro-titrage avec une plaque à 96 puits. Premièrement, pour chaque ligne de la microplaque, nous avons déposé 100 µL de Bouillon MH dans les 12 puits sauf le premier dans lequel nous avons ajouté 200 µL d'HE à tester. Les deux derniers puits de la ligne servent à contrôler la

croissance et la stérilité du milieu. Nous avons pris par la suite 100 µL de premier puits en les passant au deuxième et du deuxième au troisième et ainsi de suite jusqu'au puits numéro 10 pour obtenir les dilutions successives suivantes : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 et 1/128. Puis nous avons ajouté 100 µL de la suspension bactérienne à 10<sup>6</sup> UFC/mL dans tous les puits sauf le dernier de chaque ligne. En fin les plaques sont fermées et incubées. Après incubation la lecture des résultats se fait à l'œil nu en observant les changements de la turbidité par rapport aux témoins (**Boukhatem et al., 2018**).

#### **5.1.4. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)**

La CMB correspond à la plus faible concentration d'HE dont le repiquage montre une croissance de germe inférieure ou égale à 0.01 % de survivants (**Bolou et al., 2011**). La technique de la CMB a été effectuée lorsque le contenu des micro-puits dans lesquels aucun trouble n'a été observé a servi à ensemercer le milieu gélosé MH et ce par des stries de 5 cm de long à l'aide d'une anse calibrée de 0.2 µL en commençant par le micro-puit correspondant à la CMI, ensuite la boîte de pétri est incubée à 37°C pendant 24 h (**Oussou et al., 2004 ; Konan Kouadio et al., 2013**). **Konan Kouadio et al., (2013)** ont montré que la CMB a été déterminée en comparant la densité des stries à celle d'une autre boîte de pétri préalablement préparée (boîte A). En parallèle la préparation de la boîte (A) a nécessité la préparation de l'inoculum de la souche bactérienne testée comme suit : deux colonies isolées à partir d'une culture de 18 h sur gélose MH sont inoculées dans 10 mL de bouillon MH puis incubées à 37°C pendant 3 h. Par la suite un prélèvement de 0.1 mL de la pré-culture est délayé dans un autre tube de 10 mL de bouillon MH constituant ainsi l'inoculum initial de dilution 10<sup>0</sup>. Également quatre dilutions successives sont effectuées (10<sup>-1</sup> à 10<sup>-4</sup>). Il a été rapporté qu'un ensemencement par stries de 5 cm de long à partir des cinq dilutions préparées a été réalisé à l'aide d'une anse calibrée de 0.2 µL sur la gélose MH constituant ainsi la boîte A. En effet, les dilutions 10<sup>0</sup>, 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> et 10<sup>-4</sup> correspondent respectivement à 100 %, 10 %, 1 %, 0.1 % et 0.01 % de survivants (**Bolou et al., 2011 ; Konan Kouadio et al., 2013**).

#### **5.1.5. Etude de l'effet synergique d'antibiotiques et des huiles essentielles testés**

D'après **Berenbaum (1989)** la synergie est définie comme étant l'effet de l'association significativement supérieure à la somme des activités de chaque antibiotique étudié séparément à la même concentration (c'est le cas des antibiotiques, et même principes pour l'HE ou lieu d'utiliser deux antibiotiques on utilise l'HE avec un antibiotique). Selon **Ouguirti, (2022)** le développement des nouvelles molécules antibactériennes ne permet pas

de remplacer les antibiotiques, mais ces molécules peuvent récompenser leur utilisation excessive et de lutter contre la résistance acquise par les germes pathogènes, et ce peut être accompli par la combinaison des antibiotiques avec de ces phytomolécules.

### **1. Mode opératoire**

A fin de réaliser ce test nous avons utilisé la méthode de diffusion de disque en milieu gélosé. L'effet synergique de la combinaison des HEs étudiées et des antibiotiques a été évalué à partir de disque prêt à l'emploi (disque d'antibiotique). Le milieu Mueller Hinton Agar déposé dans des boîtes de pétri est ensemencé avec 100 µL de la suspension bactérienne à  $10^8$  (UFC/mL), après un séchage de 30 minutes à 37°C, le disque d'antibiotique a été déposé à la surface de la gélose, puis 15µL de chaque l'huile essentielle étudiée a été ajouté à l'antibiotique pour évaluer l'effet de la combinaison. Par la suite les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux des antibiotiques testés sur les mêmes souches bactériennes et par la même méthode (**Toroglu, 2007**).

### **5.2. Etude de l'activité antioxydante**

L'activité antioxydante des huiles essentielles d'*A. campestris* et de *C. laurifolius* a été évaluée par trois méthodes : le test de DPPH, le test de FRAP et le test de blanchissement du β-carotène.

#### **5.2.1. Test de DPPH**

**Brand-Williams et al., (1995) ; Maataoui et al., (2006)** ont indiqué que le composé chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) est un radical organique stable de couleur violette, qui absorbe à 517 nm. Sa stabilité est due au fait qu'il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. En effet, en présence d'agents antioxydants qui sont des donneurs d'hydrogène, le composé est réduit en une forme non radicalaire DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) et vire vers la couleur jaune, ce qui entraîne la diminution de son absorbance. Parallèlement, l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants à donner des protons (Figure n°17) (**Sanchez-Moreno, 2002**).

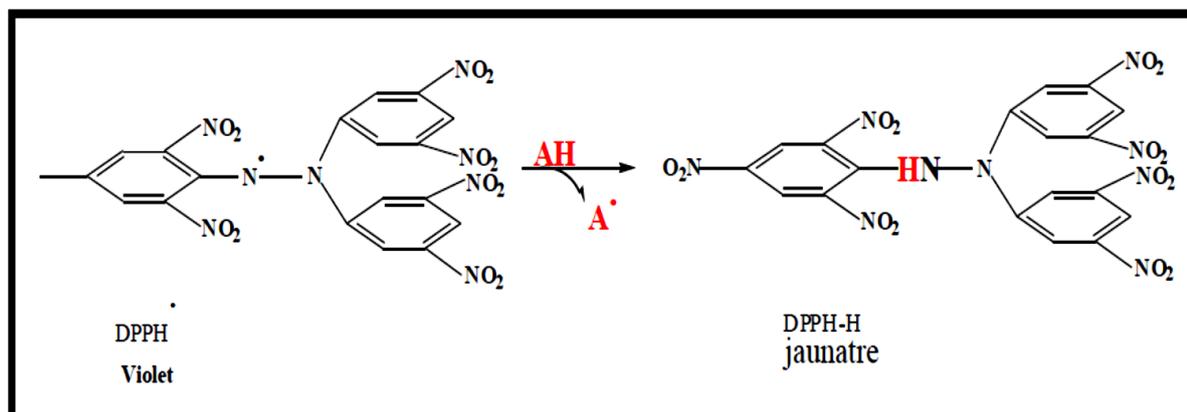


Figure n°17. Réaction de test DPPH (Molyneux, 2004).

### 5.2.1.1. Mode opératoire

Le pouvoir antioxydant des HEs a été évalué par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH. Un volume de 100  $\mu\text{L}$  de chacune des solutions éthanoliques d'huile essentielle préparées à différentes concentrations, est mélangé avec 2.9 mL d'une solution d'éthanol de DPPH° de 0.004% (p/v). Après incubation pendant 30 min à l'obscurité à température ambiante l'absorbance est mesurée à 517 nm par spectrophotomètre Biowave II WPA 7121 V1.7.0. En parallèle, nous procédons de la même manière pour l'acide ascorbique (antioxydant de référence). Un contrôle négatif est constitué de 100  $\mu\text{L}$  d'éthanol et de 2.9 mL de la solution de DPPH°. Les concentrations des HEs des deux espèces étudiées sont comprises entre 0.2 et 100 mg/mL et pour l'antioxydant standard sont comprises entre 0.1 et 1 mg/mL (Archana *et al.*, 2005).

### 5.2.1.2. Expression des résultats

D'après Fu *et al.*, (2011) l'activité antiradicalaire qui exprime la capacité de piéger le radical libre DPPH° est évaluée par le pourcentage de réduction de la solution de DPPH selon l'équation suivante :

$$\text{PR} = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

Où PR : Pouvoir de la réduction exprimé en pourcentage (%) ;

$A_C$  : Absorbance de la solution de DPPH° en absence de l'H.E et de l'acide ascorbique.

$A_E$  : Absorbance de la solution de DPPH° en présence de l'H.E ou de l'acide ascorbique

Molyneux (2004) a indiqué que la variation du pouvoir de réduction, en fonction de la concentration de l'HE et de l'acide ascorbique, permet de calculer le paramètre  $CE_{50}$ . «

Concentration Efficace » cette dernière est définie comme étant la concentration de l'HE ou de l'acide ascorbique nécessaire pour réduire 50 % de l'activité de DPPH°. En effet, Les valeurs CE<sub>50</sub> moyennes sont déterminées par les régressions linéaires de trois essais séparés où l'abscisse est représentée par la concentration des échantillons testés et l'ordonnée par le pouvoir de réduction en pourcentage (Mensor *et al.*, 2001).

### 5.2.2. Test de FRAP

Le test de FRAP principalement repose sur l'aptitude d'un antioxydant donné à réduire le fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium (K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub>) en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>) (Karagözler *et al.*, 2008). En effet cette réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique à la couleur bleu-vert du fer ferreux, dont l'intensité de cette coloration est mesurée à 700 nm par spectrophotométrie (Karagözler *et al.*, 2008).

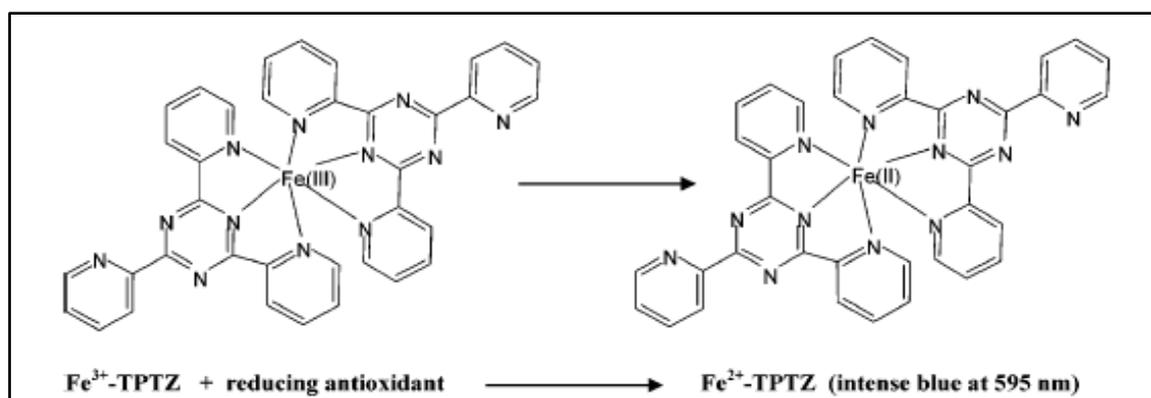


Figure n °18. Structure du FRAP et de sa forme réduite (Prior *et al.*, 2005).

#### 5.2.2.1. Mode opératoire

Selon la méthode décrite par Oyaizu (1986), le pouvoir réducteur des HEs étudiées a été déterminé. Un volume de 1 mL de chacune des solutions éthanoliques d'huile essentielle préparées à différentes concentrations, est mélangé avec 2.5 mL d'une solution de ferrocyanure de potassium K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub> à (1%) et 2.5 mL d'une solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6). Le mélange est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min et refroidi à température ambiante puis on ajoute 2.5 mL d'acide trichloracétique à (10 %) pour stopper la réaction. Par la suite le mélange est centrifugé à 3000 (tours/min) pendant 10 mins. 2.5 mL du surnageant est mélangé avec 2.5 mL d'eau distillée et 0.5 mL d'une solution aqueuse de trichlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>) à 0.1 %. Après incubation pendant 10 min la mesure de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm par spectrophotomètre Biowave II WPA 7121 V1.7.0 contre un blanc semblablement préparé en remplaçant l'échantillon d'HE par de

l'eau distillée. Un contrôle positif a été effectuée dans les mêmes conditions : des solutions d'acide ascorbique préparées à différentes concentrations. En fin, les HEs des espèces étudiées ont été testées à des concentrations comprises entre 0.2 à 10 mg/mL tandis que, celles de l'antioxydant standard sont comprises entre 0.2 et 1.2 mg/mL.

### **5.2.2.2. Expression des résultats**

Les résultats obtenus sont illustrés sous forme de graphe où l'abscisse est représentée par les différentes concentrations d'échantillon testées et l'ordonnée par les absorbances obtenues. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des fractions testées. La CE<sub>50</sub> est définie comme étant la concentration efficace à laquelle l'absorbance est de 0.5 pour réduire le pouvoir, elle est déterminée par interpolation à partir de l'analyse de régression linéaire (Oyaizu, 1986).

### **5.2.3. Test du blanchissement du $\beta$ -carotène**

Zargar *et al.*, (2011) ont montré que la capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du  $\beta$ -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique qui attaquent simultanément le  $\beta$ -carotène et ayant comme résultat le blanchissement de celle-ci et la disparition de sa couleur orange.

#### **5.2.3.1 Mode opératoire**

Le test du blanchissement du  $\beta$ -carotène a été déterminé en suivant la méthode décrite par Dapkevicius *et al.*, (1998). Au début 0.2 mg du  $\beta$ -carotène est dissout dans 0.5 mL de chloroforme, la solution obtenue est introduite dans un ballon contenant 25  $\mu$ L d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Le chloroforme est complètement évaporé au Rota-vapeur, par la suite 100 mL d'eau distillée saturée en oxygène est ajouté avec agitation vigoureuse pendant 30 mins. 4 mL de l'émulsion résultante est transféré dans des tubes contenant 200  $\mu$ L de la solution éthanolique d'HE dont la concentration est de 200  $\mu$ g/mL. En suite ce système d'émulsion a été incubé pendant 120 mins à 50°C. Parallèlement le même procédé est suivi avec l'antioxydant de référence (BHT) utilisé comme contrôle positif et ainssi que le blanc contenant de l'éthanol à la place des HEs. Après incubation : l'absorbance est lue à 470 nm.

**5.2.3.2. Expression des résultats**

L'activité antioxydante relative de l'échantillon (AAR) après 120 minutes est calculée selon la formule suivante :  $AAR (\%) = (A_{\text{échantillon}} / A_{\text{BHT}}) \times 100$ .

A : Absorbance de l'échantillon après 120 min.

A : Absorbance de BHT après 120 min.

**6. Etude *in-vivo* (toxicité aiguë, activité anti-inflammatoire)**

L'étude *in-vivo* a été réalisée sur des souris *Swiss albinos* afin d'évaluer la toxicité aiguë des huiles essentielles par administration orale et leurs activités anti-inflammatoires par le test de l'œdème plantaire induit par injection d'un agent phlogogène.

**a. Matériel animal**

Les deux sexes des souris *Swiss albinos* ayant un poids de 25 à 30 g et provenant de l'institut Pasteur d'Alger, ont été utilisées pour les tests *in-vivo*. Ces animaux ont été misés dans des cages en polypropylène et alimentées de façon régulière avec un accès libre à l'eau. Deux semaines avant l'expérimentation, les souris ont été acclimatées à l'environnement du laboratoire, avec des conditions contrôlées de température ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) et un cycle lumière/obscurité de 12 h.

**b. Préparation des solutions à tester**

Selon **Faria et al., (2011)** les HEs étudiées ont été mises en suspension dans un mélange d'eau distillée et de Tween 80 à 1% de façon à obtenir une solution de 100 mg/mL à administrer par voie orale aux animaux. Des agents additionnels comprenant la carragénine (1%) et le diclofénac (10 mg/Kg) ont été dissous dans du sérum physiologique (0.9% p/v) avant utilisation.

**6.1. Toxicité aiguë****6.1.1. Notion de la toxicité**

Selon **Traoré et al., (1999)** les effets toxiques d'une substance varient considérablement selon l'organe cible, sa nature et son mécanisme d'action. Ces effets constituent la résultante d'interactions biochimiques entre la substance toxique et/ou ses métabolites et les structures de l'organisme. Par conséquent, une meilleure connaissance de ces caractéristiques permet d'améliorer l'évaluation des risques potentiels pour la santé et

facilite le développement de mesures rationnelles dans la prévention et le traitement (**Traoré et al., 1999**).

### **6.1.2. Principe**

La détermination de la toxicité aigüe consiste à administrer oralement par prise unique, différentes doses d'échantillon à tester aux animaux et d'observer régulièrement pendant une période allant de 24 h à une semaine, des signes probables de toxicité tels que les salivations, les convulsions, le coma et la mort (**Paschapur et al., 2009**). D'après **Traoré et al., (1999)** cette méthode est basée sur la détermination de la dose létale qui tue 50% des animaux d'expérience (DL50) ainsi que la dose maximale sans effet toxique (DME) c'est-à-dire la dose la plus élevée pour laquelle aucun effet toxique n'est relevé par rapport au lot témoin.

### **6.1.3. Mode opératoire**

L'étude de la toxicité aigüe a été effectuée conformément à la ligne directrice de l'Organisation de la Coopération Economique et Développement (OECD) code 423 (**OECD, 2001a**). Les souris (femelles) ont été mises à jeun pendant 16 h avant l'expérimentation avec accès libre à l'eau, chaque HE étudiée a été administrée par voie orale à des groupes de souris (n = 3) avec les doses suivantes : 50, 300 et 2000 mg/kg. Concernant le groupe témoin, n'a reçu que le véhicule (10 mL/kg de Tween 80 à 1%). L'observation des animaux traités a été faite continuellement pendant 2 h avant de leur donner à manger et à boire afin de déceler des changements dans leurs réponses autonomiques ou comportementales en comparaison avec le groupe témoin (agitation, respiration, asthénie, mort). La surveillance pour toute mortalité a été poursuivie pendant 48 heures et ensuite pendant 7 jours. Si aucun mort n'a été enregistré dans les groupes traités, le test est alors répété avec de nouveaux lots d'animaux (n = 3) à des doses plus élevées, allant jusqu'à 5000 mg/kg.

### **6.1.4. Effet anti-inflammatoire des huiles essentielles**

#### **Test de l'oedème plantaire induit par carragénine**

L'étude de l'effet anti-inflammatoire des HEs étudiées a été réalisée selon le protocole décrit par **Winter et al., (1962)**. Les souris des deux sexes ont été soumises à un jeun pendant 16 h avant l'expérimentation avec un accès libre à l'eau. Ces animaux ont été réparties en 5 lots de 6 animaux chacun (n=6).

- Lot I (témoin ou contrôle) a reçu 10 mL/kg de Tween 80 à 1%.
- Lot II (standard) a reçu 10 mg/kg de diclofénac (un anti inflammatoire de référence)

- Les lots III, IV et V (expérimentaux), ont reçu respectivement des doses de 100, 200 et 400 mg/Kg d'HE à tester. Après 30 mins de traitement par administration orale, l'oedème a été induit par injection de 50 µL de carragénine (1% p/v) au niveau de la voute plantaire de la patte postérieure droite. L'épaisseur de la patte (mm) a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse digital avant injection ( $V_0$ ) puis chaque heure pendant 6 h après induction de l'inflammation (**Vasudevan et al., 2006**).

Le % d'inhibition de l'oedème a été calculé selon la formule suivante (**Lanhers et al., 1992**) :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(V_t - V_0)_{\text{témoin}} - (V_t - V_0)_{\text{traité}}] \times 100 / (V_t - V_0)_{\text{témoin}}$$

Nous considérons

$V_0$  : Volume de la patte avant injection de la carragénine ;

$V_t$  : Volume de la patte à un intervalle de temps déterminé après injection de la carragénine.

L'analyse statistique des HEs testées a été réalisée par un logiciel (Stat Box 6.4). En utilisant ANOVA suivie du test de Newman et Keuls.

# *Chapitre V*

---

## **Résultats et discussion**

## 1. Matériel végétal

### 1.1. Taux d'humidité

L'évaluation de l'humidité des feuilles de *Cistus laurifolius* L. a révélé une teneur de 48.6%, ce qui signifie que celle de la matière sèche est de 51.4% (figure n°19).

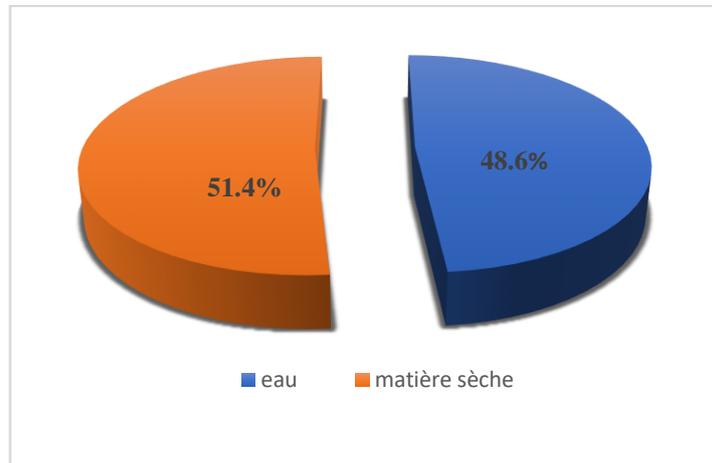


Figure n° 19. Taux d'humidité de l'espèce *Cistus laurifolius*.

La détermination de l'humidité des feuilles d'*Artemisia campestris* L. a présenté une teneur en eau de 71.60%, ce qui signifie que la teneur en matière sèche est de 28.40% (figure n°20).

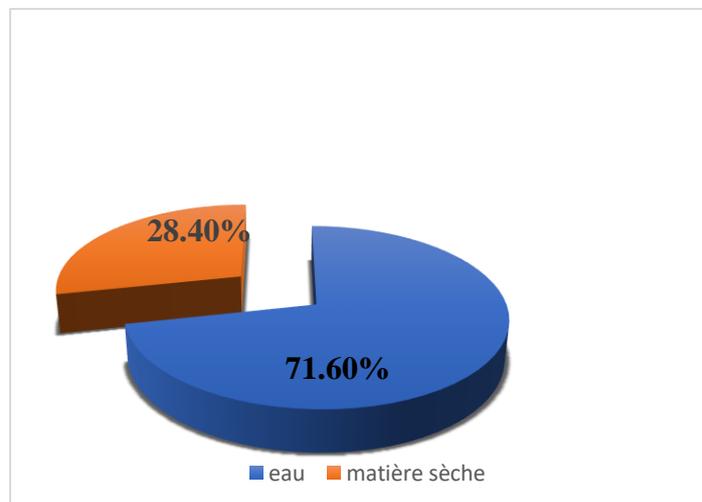


Figure n° 20. Taux d'humidité de l'espèce d'*Artemisia campestris*.

**Besombes, (2008)** indique que les variations rencontrées dans la teneur en eau de nos plantes étudiées, peuvent être dues à des facteurs environnementaux tels que ; les conditions climatiques et la répartition géographique. D'après **Hopkins et al., (2003)** les variations de la teneur en eau sont justifiées par l'impact de plusieurs facteurs, notamment, les conditions

physiologiques. La plante *Cistus laurifolius* provient d'une région à étage bioclimatique humide. Tandis que, *Artemisia campestris* est une plante qui provient d'une région à étage bioclimatique semi-aride.

## 1.2. Screening phytochimique

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique, des parties aériennes traitées des deux espèces par des réactions qualitatives de caractérisation, a permis de mettre en évidence la présence de différents groupes chimiques. Les résultats obtenus sont représentés dans les tableaux n° 8 et 9.

**Tableau n°08.** Résultats du screening phytochimique d'*Artemisia campestris*.

Composés phytochimiques recherchés		Feuilles	Rameaux
<b>Alcaloïdes</b>	Réactif de Mayer	+++	+++
	Réactif de Wagner	+++	+++
<b>Tanins</b>	Réaction avec FeCl <sub>3</sub>	+++	+++
	Tanins galliques	+++	+++
	Tanins catéchiques	-	-
<b>Flavonoïdes</b>	Anthocyanes	-	-
	Dérivés anthracéniques libres	++	+
<b>Dérivés Anthracéniques</b>	Dérivés anthracéniques Combiner	O-hétérosides O-hétérosides à génine réduite	+++ ++
		C-hétérosides	+++ ++
<b>Saponosides</b>		+++	+++
<b>Stérol et triterpene</b>		++	+
<b>Coumarines</b>		+++	++
<b>Autre caractérisation</b>	Composés réducteurs	++	++
	Oses et holosides	+++	++
	Mucilages	-	-

(+) : Présents ; (++) : abondants ; (+++) : très abondants ; (-) : absents.

Concernant l'espèce d'*A. campestris* L., les résultats du criblage phytochimique mentionnés dans le tableau n°08 montrent la présence dans les deux parties de la plante divers composés avec une grande abondance pour la plupart. Nous remarquons la présence des alcaloïdes, des tanins (Réaction avec FeCl<sub>3</sub>, Tanins galliques), dérivés anthracéniques libres, des dérivés anthracéniques combinés (O-hétérosides, O-hétérosides à génine réduite, C-

hétérosides), des stérols et des triterpènes, des saponosides, des coumarines, des composés réducteurs, des oses et holosides. Tandis que, d'autres constituants incluant les tanins catéchiques, les anthocyanes, et les mucilages sont absents. Une étude faite par **Alghazeer et al., (2010)** sur les feuilles d'*A. campestris* a révélé une présence très abondante des alcaloïdes, des saponines, des flavonoïdes, une abondance des terpènes et l'absence des anthraquinones, tanins et les coumarines, alors que notre étude indique leur présence en abondance et l'absence des flavonoïdes. De nombreuses études phytochimiques réalisées par **Rauter et al., (1989)** ; **Joao et al., (1998)** et **Akrout et al., (2001)** sur *Artemisia campestris* ont révélé la présence des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins. De plus, des travaux fait par **Naili et al., (2010)** et **Ali Esmail (2015)** ont prouvé la présence des alcaloïdes, des saponines, des terpènes et des flavonoïdes dans l'espèce d'*A. campestris*. Nos résultats ont montré que les composés suscités, à l'exception des flavonoïdes, sont présents dans notre plante.

**Tableau n°09.** Résultats du screening phytochimique de *Cistus laurifolius*.

Composés phytochimiques recherchés		Feuilles	Tiges	
<b>Alcaloïdes</b>	Réactif de Mayer	++	++	
	Réactif de Wagner	+++	+++	
<b>Tanins</b>	Réaction avec FeCl <sub>3</sub>	+++	+++	
	Tanins galliques	+++	+++	
	Tanins catéchiques	++	++	
<b>Flavonoïdes</b>	Anthocyanes	-	-	
	Dérivés Anthracéniques libres	-	-	
<b>Dérivés Anthracéniques</b>	O-hétérosides	++	+	
	Dérivés Anthracéniques combinés	O-hétérosides à génine réduite	+++	++
	C-hétérosides	++	++	
<b>Saponosides</b>		-	-	
<b>Stérol et triterpene</b>		++	+	
<b>Coumarines</b>		++	-	
<b>Autre caractérisation</b>	Composés réducteurs	++	++	
	Oses et holosides	+++	++	
	Mucilages	++	++	

(+) : Présents ; (++) : abondants ; (+++) : très abondants ; (-) : absents.

D'après les résultats du criblage phytochimique de l'espèce *Cistus laurifolius* L. mentionnés dans le tableau n°09, nous remarquons que les tiges et les feuilles contiennent les alcaloïdes, les tanins, les dérivés anthracéniques combinés, les stérols et triterpènes, les

coumarines, les composés réducteurs, les oses et les holosides et les mucilages avec des intensités plus ou moins variables. En revanche, d'autres constituants incluant les anthocyanes, les dérivés Anthracéniques libres et les saponosides sont absents. Selon une étude faite par **Sadhu et al., (2006)** sur l'extrait éthanolique des feuilles de *Cistus laurifolius*, plusieurs composés phytochimiques tels que : les tanins, stérols, glycosides et composés phénoliques principalement des flavonoïdes ont été isolés. Ces résultats sont similaires aux notre, à l'exception des flavonoïdes qui ont été absents dans notre étude. Les composés phytochimiques sont connus de posséder diverses propriétés biologiques qui peuvent contribuer à l'utilisation d'*A. campestris* et de *C. laurifolius* comme remèdes en médecine traditionnelle.

Il a été rapporté que les alcaloïdes (**McDevitt et al.,1996**) sont plus efficaces sur la peau et les muqueuses car ils sont expectorants, tandis que, les flavonoïdes de couleur jaune se trouvent dans de nombreuses plantes et peuvent être utilisés pour traiter l'athérosclérose et l'hypertension (**Luis et al., 2006**). De plus, les saponines et les alcaloïdes sont signalés comme des composés les plus actifs alors que les activités antimicrobiennes sont attribuées à de nombreuses espèces végétales (**Harrison et Bartels, 2006**). Les alcaloïdes ont été aperçus comme étant cytotoxiques, antihypertensifs et anti-arhythmiques (**Saxena et al., 2013**). Ils sont capables d'assurer la survie et la protection des plantes contre différents agents agresseurs comme les microorganismes, les insectes et les herbivores. De même, ils peuvent agir contre d'autres plantes susceptibles d'être nuisibles par le biais de leur activité allélopathique (**Molyneux et al., 1996**).

**De Bruyne et al., (1999) ; Dolara et al., (2005) ; Geetha et Geetha (2014)** ont montré que les tanins peuvent exercer des effets astringents, antidiarrhéiques, diurétiques, hémostatiques, antioxydants, anti-inflammatoires et antimicrobiens. **Kokate (1997) ; Ayoola et al., (2008) et Bruneton (2009)** ont indiqué que les flavonoïdes sont connus pour leurs effets anti-allergiques, hépato-protecteurs, antispasmodiques, hypocholestérolémiants, diurétiques, antiviraux et cytotoxiques. Les flavonoïdes jouent un rôle très important en protégeant les plantes contre le stress hydrique et leur tolérance aux métaux lourds présents dans les sols (**Winkel-Shirley, 2001**). Ils sont largement distribués dans le règne végétal et possèdent une grande variété d'activités biologiques, essentiellement leur rôle dans la diminution de diverses maladies telles que : l'athérosclérose, l'ostéoporose, le cancer et la maladie d'Alzheimer (**Bae et al.,1999 ; Ohsaki et al., 1999**).

D'après **Nyarko et Addy, (1990)** les composés réducteurs tels que les glycosides sont capables d'abaisser la tension artérielle. En outre, les saponosides sont connus pour leurs activités antifongiques, anti-inflammatoires, analgésiques, hémolytiques, immunostimulantes, hypocholestérolémiantes, anticarcinogéniques, antioxydantes et antivirales (**Morrissey et Osbourn, 1999 ; Takechi et al., 1999 ; Traore et al., 2000 ; Roux et Catier., 2007**). De même, les anthraquinones possèdent des activités antimicrobiennes et anti-inflammatoires (**Just et al., 1998 ; Wuthi-udomlert et al., 2010**). Ainsi d'autres phyto-constituants tels que les coumarines qui ont en plus, la propriété d'être anticoagulantes (**Somboro et al., 2011**). Les terpènes possèdent des propriétés anti-carcinogéniques, anti-malariales, antiulcéreuses, antimicrobiennes et diurétiques (**Langenheim, 1994 ; Dudareva et al., 2004**).

## 2. Huiles essentielles

### 2.1. Rendement en huiles essentielles

Le tableau n°10 ci-dessous représente les rendements moyens en huiles essentielles des feuilles sèches de *Cistus laurifolius* et d'*Artemisia campestris* extraites par hydrodistillation.

**Tableau n°10.** Les rendements en huiles essentielles de *C. laurifolius* et d'*A. campestris*.

Huile essentielle	<i>Cistus laurifolius</i> L.	<i>Artemisia campestris</i> L.
Rendement (%)	2 (%)	4.9 (%)

A partir de ces résultats nous remarquons que les feuilles sèches d'*Artemisia campestris* ont donné un rendement en huile essentielle de 4.9 % qui est le taux le plus élevé comparé à celui obtenu par *Cistus laurifolius* (2 %). Une étude réalisée en Tunisie par **Akrout et al., (2010)** sur l'espèce d'*A. campestris* a montré un rendement moins important de celui trouvé par notre échantillon d'huile essentielle et qui est de l'ordre de 1.2 %. D'autre part, des résultats très inférieurs aux nôtres ont été obtenus par **Touil et al., (2017)** sur l'huile essentielle d'*A. campestris* correspondant à des taux respectifs de 0.37 % (plante prélevée au printemps) et 0.41 % (plante prélevée en été). Le rendement et la qualité des HEs de cette espèce sont influencés par la saison de récolte (**Abad et al., 2012**). De même, une autre étude menée par **Bertella, (2019)** sur *A. campestris* a donné des résultats très inférieurs aux nôtres (0.29 %). Tandis que, une étude effectuée par **Boudjouref, (2011)** sur l'extrait chloroformique d'*A. campestris* a montré également un rendement légèrement proche de celui de notre et qui est de l'ordre de 3.4 %. De nombreux travaux, effectués sur *A. campestris*,

montrent des rendements en huiles essentielles très variables et très faibles comparés aux nôtres. Ils sont respectivement de 0.1 % (Dob et al., 2005), 0.41 % (Aloui et al., 2016), 1.20 % (Akrouf et al., 2011), 1.4 % (Fabien et al., 2002) et 1.5 % (Neffati et al., 2011). Également ils existent plusieurs facteurs pouvant influencer le rendement tels que la zone géographique de collecte, le climat, la génétique de la plante, la partie utilisée, le stade de développement, le degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode et le matériel d'extraction utilisés (Sefidkon et al., 2001 ; Vekiari et al., 2002). Ainsi que l'ensoleillement, les facteurs édaphiques, la température, l'altitude, la région de la culture peuvent influencer le rendement en l'HE (Achak, 2006 ; Massei et al., 2006).

Une étude effectuée par Ustun et al., (2016) sur l'extrait éthanolique des feuilles de *Cistus laurifolius* a montré un rendement de l'ordre de 32.35 % qui est très supérieur à celui de notre. De plus, d'autre étude menée par Bechlaghem, (2020) sur trois espèces du genre *Cistus*, a permis d'obtenir des rendements moyens en HEs qui sont des ordres de 0.003, 0.02 et 0.08 % sont respectivement de *Cistus monspeliensis*, *Cistus albidus* et *Cistus ladaniferus*. Ces résultats restent inférieurs à celui trouvé pour notre huile essentielle de ciste qui est de 2%. Selon Kelen et Tepe, (2008) les dissimilitudes dans les rendements des HEs révélées chez *Cistus laurifolius* et *Artemisia campestris* peuvent être liées à la période de récolte car elle est primordiale en termes de rendement et de qualité de l'HE. Par conséquent, le rendement en HE d'une plante est influencé par des paramètres intrinsèques (les stades de croissance) et extrinsèques (la pédoclimatique) (Touil et al., 2017). En effet, le rendement en HE est un paramètre primordial pour leur exploitation industrielle tels que les industries alimentaires et pharmaceutiques (Renata, 2013).

## 2.2. La composition chimique

La composition chimique de l'HE d'*A. campestris* analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG - SM), l'indice de rétention et le pourcentage des composés identifiés de cette HE sont regroupés dans le tableau n°11.

**Tableau n° 11.** Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris*.

N°	Composés	IR	Aire (%)
1	Furfural	800	0.14
2	Camphene	948	0.15
3	$\alpha$ -Phellandrene	1000	0.74
4	1.8-Cineole	1034	13.31
5	cis-p-Menth-2-en-1-ol	1104	1.18
6	$\beta$ -thujone	1111	6.97
7	Cis-Pinocarveol	1116	0.58

8	$\alpha$ -thujone	1122	3.91
9	Chrysanthénone	1122	13.95
10	<i>cis</i> -Chrysanthénol	1146	0.21
11	Camphor	1154	41.95
12	<i>trans</i> -pinocarveol	1167	1.96
13	Myrtenol	1177	0.75
14	$\gamma$ -terpinène	1184	2.62
15	<i>trans</i> -Carveol	1195	0.14
16	<i>cis</i> -Carveol	1200	0.49
17	Piperitone	1214	0.42
18	Neral	1224	0.38
19	Geraniol	1230	0.60
20	<i>trans</i> -Myrtanol	1245	0.24
21	Geraniol	1250	0.37
22	Bornyl acetate	1260	0.72
23	Lavandulyl acetate	1276	0.17
24	Thymol	1286	0.74
25	Carvacrol	1310	0.77
26	<i>trans</i> -Carvyl acetate	1318	1.30
27	$\alpha$ -Cubebene	1324	2.07
28	Methyl eugenol	1402	0.87
29	<i>Ar</i> -Curcumene	1479	0.52
30	Cedrol	1581	0.43
31	Humulene epoxide II	1597	0.21
32	$\alpha$ - Muurolol, epi	1630	0.58
33	$\beta$ -Eudesmol	1640	0.56
	Total		100

IR : Indice de Rétention

D'après les résultats obtenus représentés dans le tableau n°11, nous constatons que l'huile essentielle des feuilles sèches d'*Artemisia campestris* renferme trente-trois composés volatiles représentant un total de 100 %. Les principaux composés de l'HE d'*A. campestris* sont : le camphor (41.95 %) et la chrysanthénone (13.95 %), suivis du 1.8-cinéole (13.31 %). D'autres composants se trouvent également en faibles quantités tels que :  $\beta$ -thujone (6.97 %),  $\alpha$ -thujone (3.91 %),  $\gamma$ -terpinène (2.62 %),  $\alpha$ -cubebene (2.07 %) et *trans*-carvyl acétate (1.30 %). La forte prédominance du camphor indique qu'il représente le chémotype de l'huile essentielle d'*A. campestris* (**Laguerre, 2015**). En revanche, **Akrout et al., (2010)** ont montré que l'huile essentielle d'*A. campestris* collecté de Beni-Khedache (région montagneuse du sud de la Tunisie) est caractérisée par le  $\beta$ -pinène à 45.8 % comme le constituant le plus dominant alors que le camphor n'est pas présent. D'autre part, **Dob et al., (2005)** ont constaté que celle de Djelfa (Algérie) est représentée principalement par le (Z, E) -Farnesol (10.3 %) alors que le camphor aussi n'est pas présent. Par comparaison, les deux constituants majeurs ( $\beta$ -pinène et

Z, E -Farnesol) présents dans les études précitées sont absents dans notre huile essentielle d'*A. campestris*.

Une autre étude réalisée par **Belhattab et al., (2011)** sur les feuilles d'*A. campestris* provenant de la région de Bousaada (Algérie) a révélé la présence de l' $\alpha$ -pinène (18.4%) comme le constituant majeur, alors que le camphor représente seulement 9.2 %. Cependant, **Judzentiene et al., (2014)** et **Bertella, (2019)** ont rapporté que le profil des composés de l'HE d'*A. campestris* est caractérisé par la prédominance du germacrène-D. En revanche, ce dernier est absent dans notre cas. **Maarfia et al., (2018)** ont montré que l'HE d'*A. campestris* récoltée dans la région de Batna (Algérie) est caractérisée par la prédominance de 2-naphtalène acétaldéhyde, 1,4-dihydro- $\alpha$ ,  $\alpha$ -diméthyl-1,4-dioxo- (22.1 %) alors que le camphor n'est pas présent. Selon **Judzentiene et al., (2010)** de nombreuses études, réalisées sur *A. campestris* provenant de la France, l'Italie et le Portugal, ont rapporté que l'HE est représentée par le chémotype  $\gamma$ -terpinène, *Ar*-curcumène et  $\beta$ -pinène respectivement. Par comparaison, les deux premiers composés sont présents dans notre huile essentielle en faibles quantités tandis que le dernier est absent.

D'autres travaux effectués par **Akrouf et al., (2001)** ; **Juteau et al., (2002)** et **Chalchat et al., (2003)** ont signalé la présence de l' $\alpha$ -pinène comme composant majeur des huiles essentielles d'*A. campestris*. De plus, **Aloui et al., (2016)** ont constaté que le chémotype de l'HE de cette espèce était le  $\beta$ -pinène (32.95%). Alors que ces deux composants sont absents dans notre échantillon. De nombreux chémotypes étaient identifiés comme des principaux composés tels que : spathulenol (**Chalchat et al., 2003**) ;  $\gamma$ -terpinene (**Juteau et al., 2002**) ;  $\alpha$ -pinene (**Bellomaria et al., 2001**) ;  $\beta$ -pinene (**Silvestre et al., 1999**). Des analyses faites par **Touil et al., (2017)** ont montré que le constituant majeur de l'HE d'*A. campestris* identifié en été et en hiver était l' $\alpha$ -pinène dont les teneurs sont 39.71 et 29.55 % respectivement. Tandis que, ce qui a été identifié au printemps était le  $\tau$ -Muurolene (37.12 %). Par contre les deux constituants sont absents dans notre HE.

La composition chimique de l'huile essentielle de *Cistus laurifolius* L. déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG - SM), l'indice de rétention et le pourcentage des composés identifiés sont regroupés dans le tableau n°12.

Tableau n° 12. Composition chimique de l'huile essentielle de *Cistus laurifolius*.

N°	Composé	IR	Aire (%)
1	$\alpha$ -Pinene	932	0.34
2	Camphene	948	0.83
3	Limonene	1026	0.40
4	1.8-Cineole	1033	0.48
5	$\beta$ -Phellandrene	1038	6.23
6	(E)- $\beta$ -ocimene	1058	0.57
7	<i>cis</i> -linalool oxide	1062	0.70
8	3-Nonen-1-ol	1085	0.28
9	3-Nonanone	1088	0.29
10	Terpinolene	1092	0.37
11	$\beta$ -thujone	1114	1.73
12	<i>trans</i> -Sabinal	1131	1.55
13	<i>cis</i> -Chrysanthenol	1145	0.54
14	Camphor	1152	2.69
15	Lavandulol	1155	0.68
16	<i>cis</i> -Verbenol	1159	1.96
17	<i>trans</i> -Pinocarveol	1166	4.54
18	Myrtenol	1176	1.31
19	Ethyl octanoate	1179	1.11
20	$\gamma$ -Terpinene	1185	12.29
21	<i>trans</i> -Carveol	1195	1.44
22	<i>cis</i> -Carveol	1200	2.30
23	Piperitone	1214	3.34
24	Borneol	1230	14.69
25	Isononyl alcohol	1241	3.29
26	Geranial	1249	2.37
27	Carvone	1256	1.27
28	Thymol	1286	0.93
29	Carvacrol	1310	1.16
30	$\alpha$ -Cubebene	1326	0.95
31	neryl acetate	1344	0.79
32	$\delta$ -Element	1355	0.19
33	decanoic acid	1365	0.76
34	eugenol	1372	0.25
35	$\alpha$ -Copaene	1388	0.40
36	Aromadendrène	1469	0.51
37	$\alpha$ -Humulene	1489	0.67
38	$\gamma$ -Murolene	1497	0.21
39	delta-Cadinene	1516	5.51
40	elemicin	1521	2.05
41	isobornyl isovalerate	1531	0.58
42	$\gamma$ -Cadinene	1541	0.29
43	Cedrol	1582	1.16
44	humulene epoxide II	1600	1.16
45	1,10-di-epi-Cubenol	1605	0.62

46	$\alpha$ - Muurolol, epi	1629	2.28
47	$\alpha$ -Cardanol	1637	0.27
48	$\beta$ -Eudesmol	1643	1.12
49	bulnesol	1653	0.48
50	tridecanoic acid	1661	0.77
51	Chamazulene	1714	5.13
52	$\alpha$ -Simental	1726	3.75
53	benzyl salicylate	1834	0.39
	Total		99.97

IR : Indice de Réention

D'après les résultats d'analyse de la composition chimique présentés dans le tableau n°12 nous constatons que l'huile essentielle des feuilles sèches de *Cistus laurifolius* L. renferme cinquante-trois composés volatiles représentant un total de 99.97 %. Les principaux composés de l'HE de *C. laurifolius* étaient ; le bornéol (14.69 %) et  $\gamma$ -terpinène (12.29 %). D'autres composants sont également présents en faibles quantités tels que :  $\beta$ -phellandrene (6.23%), delta-cadinene (5.51 %), piperitone (3.34 %) camphor (2.69%) et *cis*-cavéole (2.30%). La forte prédominance du bornéol indique qu'il représente le chémotype de l'HE de *C. laurifolius* (**Laguerre, 2015**).

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus pour *Cistus laurifolius* originaire de Turquie (**Muzaffer et al., 2004**), en effet, le bornéol a été identifié comme étant le composant majeur de l'huile essentielle présent à un taux de 6.1%. **Kobold et al., (1986)** ont trouvé que l'huile essentielle des feuilles de *Cistus laurifolius* est caractérisée par l' $\alpha$ -pinène (25.2%) et le camphene (23.2%) comme constituants principaux alors que le borneol n'est pas présent. Par comparaison, notre l'huile essentielle contient l' $\alpha$ -pinène et le camphene à des taux nettement plus faibles. Une étude réalisée par **Bechlaghem, (2020)** a montré que le chémotype des huiles essentielles de différentes espèces du genre *Cistus* étaient : le bornéol (12.5 %), épi- $\alpha$ -bisabolol (11.4 %) et épi-13-oxide de manoyl (28.6 %) pour *C. ladaniferus*, *C. albidus* et *C. monpeliensis* respectivement. Par comparaison, notre échantillon contient le borneol (14.69 %) à une concentration légèrement proche, tandis que les deux derniers constituants sont absents.

Le 1.8-cinéole ne présente pas une très forte activité antibactérienne. Par contre, il a un effet synergique en potentialisant l'activité antibactérienne d'autres composés. Il a été montré que ce composé augmente la perméabilité de la paroi, en causant un déséquilibre dans la membrane des bactéries et facilite ainsi la pénétration d'autres composés plus actifs dans ces dernières (**Franchomme et al., 2001**). Le 1.8-cinéole présente également des effets antifongiques sur quelques espèces tels que *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*

(Vilela et al., 2008 ; Morcia et al., 2012), il possède aussi des propriétés antivirales notamment contre l'Herpès simplex virus de type 1 et le virus bronchitique dont il inhibe les réplifications intracellulaires (Astani et al., 2010 ; Yang et al., 2010). Le bornéol est utilisé comme analgésiant, anesthésiant, antalgique avec inhibition du relargage des catecholamines (Liu et al., 2004) et anti-inflammatoire (Almeida et al., 2013).

Il a été rapporté que les variations de la composition chimique rencontrées dans les huiles essentielles des espèces étudiées d'un point de vue qualitatif et quantitatif peuvent être attribuées à un ou plusieurs facteurs. Par conséquent, ces facteurs peuvent influencer la voie de la biosynthèse des plantes et avoir des conséquences sur la proportion relative des principaux composés caractéristiques (Ennajar et al., 2009 ; Oliva et al., 2010 ; Viuda-Martos et al., 2011). Les facteurs climatiques et la disponibilité de l'eau dans le sol ont un effet sur le métabolisme secondaire du végétal et par conséquent, modifier la composition chimique des huiles essentielles par saison de l'année (Freire et al., 2006).

### **3. Etude de l'activité antibactérienne**

#### **3.1. Activité antibactérienne vis-à-vis les agents antibactériens standards**

L'évaluation de la sensibilité des souches bactériennes de références testées par antibiogramme nous a permis d'obtenir les résultats ci-après (tableau n°13). Les bactéries sélectionnées au cours de cette étude sont celles qui causent un problème d'antibiothérapie et qui sont responsables d'infections nosocomiales, pour cela, le profil de susceptibilité à un panel de 11 antibiotiques, est porté dans l'annexe n°2.

La classification des souches bactériennes en catégories « Sensible, S », « Intermédiaire, I » et « Résistante, R » est définie par le comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM, 2014, 2018), ce qui permet de définir le phénotype des différentes souches étudiées.

**Tableau n°13.** Résultats de l'activité antibactérienne des antibiotiques exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.

Souches	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. mirabilis</i> ATCC 35659	<i>B. cereus</i> ATCC 10876	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>K. pneumonia</i> ATCC 700 603	
Agents antibactériens	CN	24.33±0.57 (S)	16±1.00 (R)	21±1.00 (S)	16.33±0.57 (R)	24.33±1.15 (S)	18.66±0.57 (I)
	C	0	0	19.33±0.57 (I)	0	0	0
	E	0	0	0	0	0	0
	SXT	31±1.00 (S)	11.66±0.57 (I)	21±1.00 (S)	0	34.33±0.57 (S)	10±1.00 (R)
	CAR	0	0	0	0	0	0
	PB	16.66±0.57 (I)	16±1.00 (I)	12.33±0.57 (R)	17±1.00 (S)	15±1.00 (R)	17±0.00 (S)
	KZ	0	0	8.66±0.57 (R)	0	0	0
	N	20±1.00 (S)	20.33±0.57 (S)	26.33±0.57 (S)	15.33±0.57 (R)	22.66±0.57 (S)	14.33±1.15 (R)
	PRL	0	0	0	25.66±0.57 (S)	0	0
	OX	0	0	0	0	0	0
	DXT	16.66±0.57 (I)	16.66±0.57 (I)	12±1.00 (R)	11.66±0.57 (R)	17.33±0.57 (I)	11.66±0.57 (R)

ATCC American Type Culture Collection. ATB : Antibiotique. Toutes les valeurs (zone d'inhibition incluant le diamètre du disque de 6 mm) exprimées en moyenne de trois essais ± écart type.

A partir des résultats de l'antibiogramme présentés dans le tableau n°13, nous constatons que les souches bactériennes testées ont présenté des degrés de sensibilité différents vis-à-vis les antibiotiques utilisés. En effet, toutes les bactéries ont montré une résistance aux erythromycine, carbénicilline, oxacilline et céfazoline. Les diamètres des zones d'inhibitions varient entre 8.66 et 34.33 mm (inclue le diamètre de disque), la plus grande zone d'inhibition a été enregistrée avec le triméthoprime-sulfaméthoxazole vis-à-vis la souche de référence *S. aureus* ATCC 6538. De plus, nous remarquons une certaine résistance des Gram-négatifs aux chloramphénicol et céfazoline pour les quatre souches de référence (*E. coli* ATCC 25922, *P. mirabilis* ATCC 35659, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumonia* ATCC 700 603) ainsi à la pipéracilline pour les trois souches de référence (*E. coli* ATCC 25922, *P. mirabilis* ATCC 35659, *K. pneumonia* ATCC 700 603) et des Gram-positif (*S. aureus* ATCC 6538) à chloramphénicol. Une étude faite par **Ouguirti, (2022)** a prouvé une certaine résistance des

Gram-négatifs aux aminosides (néomycine, amikacine) pour les deux souches *E. coli* (clinique et référencée) et à l'acide nalidexique pour les deux souches de *P. aeruginosa* (clinique et de référence) et *K. pneumoniae* ATCC700603. En revanche, nos résultats montrent une sensibilité de la souche de référence *E. coli* ATCC 25922 à la néomycine. De même **Chebaibi et al. (2011, 2016)** ont trouvé une résistance des Gram-négatif (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* et *P. aeruginosa*) aux bêta-lactamines et aux aminosides (amikacine, tobramycine) et des Gram-positif (*S. aureus*) à l'érythromycine. Cependant, une sensibilité intermédiaire est observée avec la polymyxine B et la doxycycline vis-à-vis certaines souches. En effet, une forte sensibilité de certaines souches bactériennes à testées a été enregistrée avec la gentamicine, triméthoprime-sulfaméthoxazole et la néomycine.

### 3.2. Pouvoir antibactérien des huiles essentielles

#### 3.2.1. Technique de diffusion en milieu gélosée (méthode de Vincent)

L'évaluation de l'activité antibactérienne des HEs de *C. laurifolius* et d'*A. campestris* effectuée par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé, nous a permis d'obtenir les résultats mentionnés dans le tableau n°14. D'après ces résultats nous constatons que l'HE de ciste a exercé un pouvoir antibactérien très important comparé à celui de celle de l'armoise. D'ailleurs, les diamètres des zones d'inhibitions sont compris entre  $18.33 \pm 0.57$  mm et  $24.33 \pm 0.57$  mm pour l'armoise et entre  $17.66 \pm 0.57$  mm et  $30.66 \pm 0.57$  mm pour le ciste. Les diamètres des zones d'inhibitions générés par les HEs étudiées sont très variables selon la souche testée. De même, nous constatons que les souches bactériennes les plus sensibles vis-à-vis les HEs testées sont *E. coli* ATCC 25922, *P. mirabilis* ATCC 35659 et *B. cereus* ATCC 10876.

**Tableau n°14.** Résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*A. campestris* et de *C. laurifolius* exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.

Souches	HE d' <i>A. campestris</i>	HE de <i>C. laurifolius</i>
<i>E. coli</i> ATCC 25922	$24.33 \pm 0.57$	$20 \pm 1$
<i>P. mirabilis</i> ATCC 35659	$18.33 \pm 0.57$	$17.66 \pm 0.57$
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	$21 \pm 1$	$30.66 \pm 0.57$
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0	0
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	0	0
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700 603	$21.33 \pm 1.15$	0

Toutes les valeurs (zone d'inhibition incluant le diamètre du disque de 6 mm) sont exprimées en moyenne de trois essais  $\pm$  écart type. ATCC : American Type Culture Collection.

L'HE des feuilles sèches d'*A. campestris* s'est avérée avoir un effet contre quatre souches bactériennes testées, la plus grande zone d'inhibition a été obtenue contre *E. coli* ATCC 25922 (24.33 mm) suivi de *K. pneumonia* ATCC 700603 (21.33 mm), puis *B. cereus* ATCC 10876 avec une valeur de 21 mm et enfin contre *P. mirabilis* ATCC 35659 avec un diamètre de 18.33 mm, celles-ci sont supérieures aux zones d'inhibitions obtenus avec la polymyxine B, chloramphénicol et avec la doxycycline seuls. Cependant, l'effet de l'HE est inférieur à celui enregistré avec la gentamicine, triméthoprime-sulfaméthoxazol et la néomycine. En revanche, l'HE d'*A. campestris* est inactive contre *P. aeruginosa* ATCC 27853 et *S. aureus* ATCC 6538 (Tableau n°14). **Dorman et Deans (2000)** et **Burt (2004)** ont trouvé que *P. aeruginosa* est connue pour sa très forte résistance à l'action de la plupart des huiles essentielles. Selon **Bertella, (2019)** les diamètres des zones d'inhibitions obtenus en testant l'HE d'*A. campestris* sur *S. aureus*, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* sont respectivement de : 10.7 mm, 15.7 mm, 11.3 mm, 11.3 mm, 9.3 mm et < 8 mm. Ces résultats sont plus faibles par rapport aux nôtres. **El Abed et al., (2014)** et **Naili et al., (2010)** ont révélé des effets antibactériens de l'extrait méthanolique des feuilles d'*A. campestris* vis-à-vis des souches bactériennes tels que *E. coli* (17 et 10 mm), *B. cereus* (25 mm), *S. aureus* (20 et 27 mm) et *P. aeruginosa* (9 mm). Alors que, notre huile essentielle était active seulement contre les deux premières bactéries.

Une autre étude réalisée par **Khebri, (2011)** a montré que les diamètres des zones d'inhibitions obtenus en testant l'HE d'*A. campestris* sur *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* étaient inférieurs à 6 mm. Par comparaison, notre HE a prouvé une activité importante contre les deux premières bactéries. D'après **Akrout et al., (2010)** l'HE des feuilles d'*A. campestris* a exhibé une activité contre *E. coli*, *K. pneumoniae* et *S. aureus* et les diamètres d'inhibition obtenus sont respectivement de 18 mm, 10 mm et 10 mm. En revanche, les mêmes auteurs ont rapporté l'inefficacité de l'HE de l'espèce contre *P. aeruginosa*. En effet, ce qui est en accord avec nos résultats. Pour l'espèce de *C. laurifolius*, l'HE des feuilles sèches a prouvé un effet antibactérien contre trois souches bactériennes testées. En effet, la plus grande zone d'inhibition a été obtenue contre *B. cereus* ATCC 10876 (30.66 mm), suivi de *E. coli* ATCC 25922 (20 mm) puis *P. mirabilis* ATCC 35659 (17.66 mm), ces zones d'inhibitions sont supérieures à celles obtenues avec la gentamicine, chloramphénicol, polymyxine B, néomycine et la doxycycline seuls. Cependant, l'effet de l'HE de *C. laurifolius* est inférieur à celui enregistré avec triméthoprime-sulfaméthoxazol. Par ailleurs, elle est inactive contre *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 6538 et *K. pneumonia*

ATCC700603 (tableau n°14). Des travaux antérieurs ont confirmé que les huiles essentielles de *Cistus* possèdent une activité antimicrobienne puissante contre plusieurs bactéries gram-positives et gram-négatives (Demetzos et al., 1997 ; Bouamama et al., 1999 ; Greche et al., 2009 ; Barrajon-Catalan et al., 2010 ; Rauwald et al., 2010 ; Zohra and Atik, 2011 ; Tomás-Menor et al., 2013). De plus, Kintziou et al., (2001) ont constaté que l'huile essentielle des feuilles de *Cistus laurifolius* possède une activité antimicrobienne importante ce qui concorde avec nos résultats. Alors que les travaux portés par El Karkouri et al., (2021) ont montré que l'HE de *Cistus ladanifer* a donné un diamètre d'inhibition de  $42 \pm 0.11$  mm pour la souche *E. coli* ce qui est nettement supérieur au nôtre. Une étude effectuée par Guvenc et al., (2005) sur trois extraits (aqueux, méthanolique et chloroformique) des feuilles de *Cistus laurifolius*, a montré que ces extraits ont donné des diamètres d'inhibitions de 12 mm, 8 mm et 8 mm respectivement contre la souche *S. aureus* ATCC 29213 mais inactifs contre *E. coli* ATCC 25922 et *P. aeruginosa* ATCC 27853. Ces résultats sont différents aux nôtres, l'huile essentielle de cette espèce s'est avérée active contre *E. coli* mais inactif contre *S. aureus*.

De même, Ustun et al., (2016), en travaillant sur l'extrait éthanolique des feuilles de *Cistus laurifolius*, ils ont trouvé une activité contre *E. coli* ATCC 35218, *P. mirabilis* ATCC 7002, *P. aeruginosa* ATCC 10145, *S. aureus* ATCC 25923. Alors que, notre HE était active seulement contre les deux premières bactéries. Plusieurs études *in-vitro* ont démontré que les espèces de *Cistus* possèdent des propriétés antimicrobienne (Kalus et al., 2009 ; Akkol et al., 2012). Diverses composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes, proanthocyanidines) et terpènes ont été isolés des espèces de ciste et les propriétés thérapeutiques sont généralement attribués à ces composants (Barrajon-Catalan et al., 2010 ; Tomás-Menor et al., 2013). En effet, les huiles essentielles riches en composés phénoliques possèdent des activités antimicrobiennes très élevées (Ultee et al., 2002). Fillippi et al., (2006) ont montré que le pouvoir antibactérien des huiles essentielles peut être attribué à leurs composants majeurs tels que les alcools terpéniques.

### 3.2.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB)

L'évaluation des paramètres antibactériens (CMI et CMB) des HEs de *C. laurifolius* et d'*A. campestris* a été effectuée seulement sur les souches ayant présenté une sensibilité par le test d'aromatogramme. La CMI des HEs des deux plantes étudiées a été déterminée par la technique de la micro-dilution. Il a été rapporté que si le rapport d'activité CMB/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal à 4, cette dernière est qualifiée comme

substance bactéricide et si le rapport est supérieur à 4, elle est alors dite bactériostatique (Marmonier, 1990). Les tableaux n°15 et 16 représentent les résultats obtenus.

**Tableau n° 15.** Valeurs des paramètres antibactériens de l'huile essentielle d'*A. campestris*

Souches	HE d' <i>Artemisia campestris</i>			
	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	CMB/CMI	Activité
<i>E. coli</i> ATCC 25922	15	30	2	Bactéricide
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	30	60	2	Bactéricide
<i>P. mirabilis</i> ATCC 35659	60	60	1	Bactéricide
<i>K. pneumonia</i> ATCC 700 603	60	120	2	Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

Nous constatant que l'HE d'*A. campestris* a exercé une activité importante contre quatre souches bactériennes testées (tableau n°14). Selon les résultats du tableau n°15 les valeurs obtenues de la CMI et CMB sont comprises entre 15-60 (mg/mL) et 30-120 (mg/mL) respectivement. Une étude menée par Bertella, (2019) a montré que l'HE des feuilles d'*A. campestris* était active contre *Bacillus cereus* tandis que les valeurs de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide ont atteint les 20 et 80 (mg/mL) respectivement. Par comparaison, la valeur de la CMI (30 mg/mL) obtenue pour notre HE est supérieure, alors que la CMB (60 mg/mL) est inférieure qu'à celle d'obtenue dans l'étude précité. En effet, une activité inhibitrice de l'HE d'*Artemisia maritima*, a été démontrée contre *E. coli* et *B. subtilis*, alors que les valeurs de la CMI ont été, respectivement, de l'ordre de 1.87 (mg/mL) et 3.75 (mg/mL) (Zaman et al., 2022). Selon Sbayou et al., (2014) une activité bactéricide de l'huile essentielle de l'armoise blanche vis-à-vis les souches testées étaient entre 1.25 à 10 ( $\mu$ L/mL) a été trouvé. Cependant, ces résultats sont nettement supérieurs a celle de trouvé par les nôtres.

**Tableau n° 16.** Valeurs des paramètres antibactériens de l'huile essentielle de *C. laurifolius*

Souches	HE de <i>Cistus laurifolius</i>			
	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	CMB/CMI	Activité
<i>E. coli</i> ATCC 25922	40.63	81.25	2	Bactéricide
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	40.63	162.5	4	Bactéricide
<i>P. mirabilis</i> ATCC 35659	81.25	81.25	1	Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

L'HE de *C. laurifolius* a exercé une activité contre trois souches bactériennes testées (tableau n°14). D'après les résultats du tableau n°16, les valeurs obtenues de CMI et CMB sont comprises entre 40.63-81.25 (mg/mL) et 81.25-162.5 (mg/mL) respectivement. Une activité bactéricide de l'HE de *Cistus ladanifer*, a été démontrée contre *E. coli* (**El Karkouri et al., 2021**). Ce qui est en accord avec nos résultats. Une étude menée par **Osman et al., (2006)**, a prouvé que l'extrait chloroformique des feuilles de *Cistus laurifolius* était active contre *Helicobacter pylori*, alors que la valeur de la concentration minimale inhibitrice est de 3.9 (mg/mL). Par ailleurs, une activité inhibitrice de l'extrait éthanolique des feuilles de *Cistus laurifolius* a été démontrée vis-à-vis les souches testées, les valeurs de CMI sont comprises entre 32-64 (µg/mL) (**Ustun et al., 2016**). En revanche, les résultats trouvés dans les études précitées sont nettement supérieurs à ceux révélés vis-à-vis les souches bactériennes testées dans notre travail.

Selon les résultats présentés dans les tableaux n°15 et 16, nous remarquons que les HES d'*A. campestris* et de *C. laurifolius*, sont bactéricides envers les souches bactériennes testées. Nos huiles essentielles étudiées possèdent des effets bactéricides vu le rapport de CMB/CMI. Cette activité peut être principalement due aux taux de monoterpènes oxygénés et hydrocarbures sesquiterpéniques (**Rahman et al., 2016**), spécialement le pourcentage élevé du camphor et du borneol. **Goudjil et al., (2016)** ont montré que ces composants sont capables de détruire l'intégrité cellulaire en entraînant une altération de la perméabilité membranaire, la membrane perd aussi sa structure et devient plus perméable aux ions, la lésion de la membrane cellulaire peut également permettre la dissipation du gradient pH et la diminution du potentiel membranaire. Selon **Burt, (2004)** et **Bhavaniramy et al., (2019)** certaines études ont exhibé que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles peut être supérieure à celle de leurs composés majoritaires testés séparément. En effet, cette dominance par rapport à un seul composant majoritaire confirme bien l'effet de synergie que pourrait apporter les constituants mineurs à l'activité des huiles essentielles (**Lahlou, 2004** et **Kordali et al., 2005**).

### 3.2.3. Effets synergiques des antibiotiques et des huiles essentielles

L'évaluation, de l'effet synergique des antibiotiques et des HES d'*A. campestris* et de *C. laurifolius* effectuée par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé, nous a permis d'obtenir les résultats résumés dans les tableaux n°17 et 18. Il a été rapporté que pour la recherche d'agents antibactériens plus efficaces afin de traiter les infections, la thérapie

combinée devient une stratégie importante car les interactions synergiques peuvent potentiellement augmenter l'efficacité, réduire la toxicité, guérir plus rapidement et prévenir l'émergence de la résistance (Olajuyigbe et Afolayan, 2012). D'après Ranjan et al., (2012) l'effet est considéré comme synergique si les combinaisons présentent une élévation du diamètre de la zone d'inhibition est de 5 mm. Des effets antibactériens variables sont obtenus en associant les HEs des deux espèces étudiées aux antibiotiques. Les diamètres des zones d'inhibitions enregistrées avec certaines souches sont supérieurs à celle de l'antibiotique seul.

**Tableau n° 17.** Effet synergique des antibiotiques et de l'huile essentielle d'*A. campestris*

Souches	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. mirabilis</i> ATCC 35659	<i>B. cereus</i> ATCC 10876	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>K. pneumonia</i> ATCC 700 603
CN	14.66 ± 0.57	16 ± 1	0	20.33 ± 0.57	14.33 ± 0.57	13 ± 0.00
C	24.33 ± 0.57	9.33 ± 0.57	15.66 ± 0.57	16.33 ± 0.57	0	21 ± 1.00
E	34.66 ± 0.57	16.33 ± 0.57	0	0	0	12.66 ± 0.57
SXT	18 ± 1	0	16 ± 1	0	10.33 ± 0.57	14 ± 0.00
CAR	23.33 ± 0.57	12.33 ± 0.57	0	0	0	0
PB	18 ± 0	17 ± 1	15.66 ± 1.15	21 ± 1.00	15.33 ± 0.57	14.33 ± 0.57
KZ	20.66 ± 1.15	0	11 ± 1	15 ± 0.00	0	0
N	9.33 ± 0.57	0	11.33 ± 0.57	9.33 ± 0.57	12.66 ± 0.57	0
PRL	0	0	0	0	0	0
OX	20 ± 1	11.33 ± 0.57	0	0	13.66 ± 0.57	9.66 ± 0.57
DXT	20 ± 0	12.66 ± 0.57	13.66 ± 0.57	10.33 ± 0.57	0	15.33 ± 0.57

Synergie (HE *A. c* + ATB)

Toutes les valeurs (zone d'inhibition incluant le diamètre du disque de 6 mm) exprimées en moyenne de trois essais ± écart type. ATCC : American Type Culture Collection. HE *A. c* : Huile Essentielle d'*Artemisia campestris* ; ATB : Antibiotique.

Selon les résultats mentionnés dans le tableau n°17 nous remarquons que, la combinaison de l'HE d'*A. campestris* avec les antibiotiques gentamicine et chloramphénicol a montré un effet synergique contre cinq bactéries testées, les diamètres des zones d'inhibitions sont compris entre 9.33 et 24.33 mm. L'application d'érythromycine avec l'HE d'*A. campestris* a conduit à un effet synergique contre trois bactéries testées : *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *P. mirabilis* ATCC 35659, suivi par la doxycycline vis-à-vis cinq bactéries et la triméthoprim-sulfaméthoxazol vis-à-vis quatre bactéries testées (tableau n°17). Un effet synergique a été observé vis-à-vis toutes les souches bactériennes lorsque nous

utilisons la polymyxine B avec l'HE d'*A. campestris*, les diamètres des zones d'inhibitions sont compris entre 14.33 et 21 mm. La combinaison de l'HE d'*A. campestris* avec la pipéracilline est inactive contre toutes les souches testées. L'association de l'HE d'*A. campestris* avec l'antibiotique céfazoline a montré un effet synergique contre uniquement trois bactéries. Enfin, la combinaison de cette huile avec l'antibiotique carbénicilline est inactive contre quatre bactéries testées (tableau n°17). La combinaison de l'huile essentielle de l'armoise blanche avec la néomycine a contribué à la potentialisation des diamètres des zones d'inhibition, elle a exercé un effet synergique contre toutes les souches bactériennes testées avec des diamètres compris entre 29 à 45 mm à l'exception de *P. aeruginosa* (Ouguirti, 2022), ce qui est nettement supérieur au nôtre (9.33 et 12.66 mm). Une étude faite par Bekka-Hadji et al., (2022) a montré que l'association de l'HE de l'armoise blanche avec l'oxacilline ayant un effet synergique contre la souche de *S. aureus* et le diamètre de la zone d'inhibition est de 20.8 mm. Cette valeur est légèrement supérieure au nôtre (13.66 mm). La combinaison de la gentamicine avec chaque HE des quatre plantes tel que : *Aniba rosaeodora*, *Melaleuca alternifolia*, *Origanum vulgare* et *Pelargonium graveolens* montre un effet synergique important (Rosato et al., 2010). De plus, il a été démontré que l'HE de *Melaleuca alternifolia* possède un effet synergique contre *S. aureus* lorsqu'elle est associée à la tobramycine (Arrigo et al., 2011).

Tableau n° 18. Effet synergique des antibiotiques et de l'huile essentielle de *C. laurifolius*.

Souches	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. mirabilis</i> ATCC 35659	<i>B. cereus</i> ATCC 10876	<i>P.</i> <i>aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>K. pneumonia</i> ATCC 700 603	
Synergie (HE de <i>C.l.</i> + ATB)	CN	24.33 ± 0.57	0	0	19.33 ± 0.57	25.33 ± 0.57	25 ± 0.00
	C	24 ± 1.00	0	34 ± 1.00	0	0	21.33 ± 0.57
	E	30.33 ± 0.57	0	0	0	0	0
	SXT	0	0	21.33 ± 1.15	0	0	16.33 ± 0.57
	CAR	0	0	38.33 ± 0.57	9.33 ± 0.57	0	0
	PB	0	0	10 ± 1.00	16.33 ± 0.57	15.33 ± 0.57	19.66 ± 0.5
	KZ	34.33 ± 1.15	0	10.33 ± 0.57	0	8.66 ± 0.57	0
	N	18 ± 1.00	0	28.66 ± 0.57	18.33 ± 0.57	12.33 ± 0.57	17 ± 1.00
	PRL	21.33 ± 0.57	0	0	22.66 ± 0.57	0	0
	OX	23.33 ± 0.57	0	22.33 ± 0.57	0	18.66 ± 0.57	18.33 ± 0.57
	DXT	0	0	19.66 ± 0.57	0	0	13.33 ± 0.57

Toutes les valeurs (zone d'inhibition incluant le diamètre du disque de 6 mm) exprimées en moyenne de trois essais ± écart type. ATCC : American Type Culture Collection. HE *C.l.* : Huile Essentielle de *Cistus laurifolius* ; ATB : Antibiotique.

D'après les résultats mentionnés dans le tableau n°18 nous observons que, la combinaison de l'HE de *C. laurifolius* avec les antibiotiques gentamicine, oxacilline et polymyxine B a montré un effet synergique contre quatre souches bactériennes testées, les diamètres des zones d'inhibitions sont variés entre 18.66 et 25.33 mm. L'application d'érythromycine avec l'HE de *C. laurifolius* a conduit à un effet synergique vis-à-vis une seule souche bactérienne (*E. coli* ATCC 25922), le diamètre est de 30.33 mm. Suivi par doxycycline, triméthoprime-sulfaméthoxazol, pipéracilline et carbénicilline contre deux souches bactériennes (tableau n°18). Un effet synergique a été observé contre cinq souches bactériennes lorsque nous utilisons la néomycine avec l'HE de *C. laurifolius*, les diamètres des zones d'inhibitions sont variés entre 12.33 et 28.66 mm. L'association de l'HE avec l'antibiotique céfazoline a montré un effet synergique contre trois bactéries, les diamètres d'inhibitions sont compris entre 8.66 et 34.33 mm. Enfin, la combinaison de l'HE avec l'antibiotique chloramphénicol est douée contre trois souches bactériennes, les diamètres d'inhibitions sont variés entre 21.33 et 34 mm (tableau n°18).

Les HEs de *C. sylvatica*, *C. vardarensis* et *C. nepeta* en association avec des antibiotiques (gentamicine et ciprofloxacine) exercent un effet synergique. Les effets combinés suggèrent que les HEs des espèces étudiées pourraient être utilisées comme adjuvants potentiels des antibiotiques (Milenkovića et al., 2018). De plus, la combinaison de l'HE de *T. willdenowii* avec la ticarcilline, l'imipénem, gentamicine et la tobramycine a augmenté l'activité antimicrobienne des antibiotiques testés. Un effet synergique a également été révélé contre certaines bactéries lorsque l'HE de *C. coronarium* est associée à quatre antibiotiques testés (Moussaoui et al., 2016). Sikkema et al., (1995) ont montré que la capacité des huiles essentielles à renforcer l'effet antibactérien de l'antibiotique peut être attribuée à des composants hydrophobes dans les HEs qui peuvent interagir avec les lipides membranaires, ce qui perturbe sa structure et augmente sa perméabilité, de sorte que l'antibiotique peut facilement traverser la barrière membranaire, en renforçant son efficacité antibactérienne. Pei et al., (2009) ont trouvé que l'augmentation de la taille des zones d'inhibition résultant de l'association de l'huile essentielle et de l'antibiotique indiquent l'amélioration du potentiel bactéricide de l'HE et de l'antibiotique en tant qu'agent antibactérien combiné ; ces variations ont été jugées comme étant due aux différents mécanismes d'action. La combinaison de l'HE des plantes médicinales et des antibiotiques standards a un effet potentiel pour développer de nouveaux agents antimicrobiens, un traitement et une réduction de la résistance aux médicaments qui permettront de trouver le traitement de plusieurs maladies causées par des micro-organismes (Moussaoui et al., 2016).

En conséquence, il est possible que les composés mineurs augmentent le pouvoir antibactérien en jouant un éventuel rôle de synergie (Rahman et al., 2016). La sensibilité d'*Escherchia coli* et *Staphylococcus aureus* et la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* vers les huiles essentielles ont été montrées par (Bouhdid et al., 2008). Harnandez et al., (2005) ; Bouhdid et al., (2008) ont indiqué que la majorité des huiles essentielles testés pour leurs propriétés antibactériennes ont montré un effet plus prononcé contre les bactéries Gram positif (+). La cause est attribuée aux différences structurales entre les parois cellulaires. Nikaido & Vaara (1985) ; Trombetta et al., (2005) ont démontré que les bactéries Gram négatifs possèdent une membrane externe composée de chaînes de lipopolysaccharides. Tandis que, cette couche forme une barrière de perméabilité hydrophile qui restreint la diffusion de composés hydrophobes tels que ceux présents dans les HEs. En effet, la résistance des bactéries Gram négatifs aux huiles essentielles a été attribuée à leur membrane externe hydrophile qui peut bloquer la pénétration de composés hydrophobes dans la membrane cellulaire cible (Wan et al., 1998). Quelques travaux ne révèlent aucune activité antimicrobienne sélective vis-à-vis des Gram positifs ni des Gram négatifs (Guesmi & Boudabous, 2006).

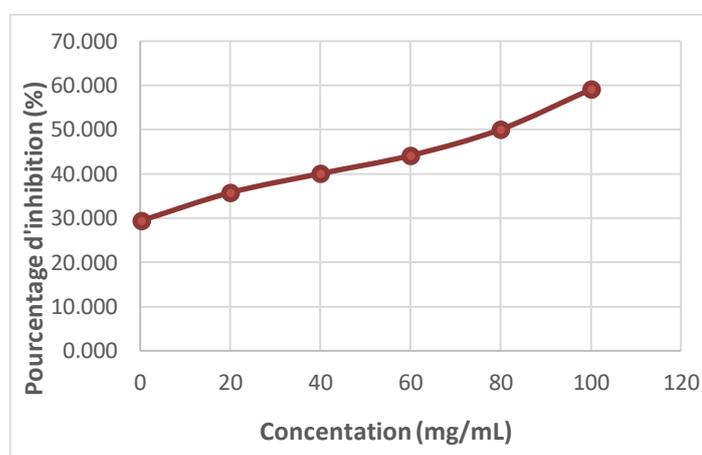
L'activité biologique d'une HE est liée à sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires et les effets synergiques entre ces derniers et les composés mineurs (Oussalah et al., 2006). Burt (2004) ; Borugă et al., (2014) ont démontré que des constituants minoritaires dans les huiles essentielles également pourraient avoir une part de contribution à l'activité antimicrobienne par synergie avec les composés majeurs. De même Cowan, (1999) a montré que la méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne, l'effet de la matrice biologique, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée et le type des micro-organismes ciblés sont des facteurs qui peuvent largement influencer l'activité antibactérienne. Ce qui pourrait expliquer la variation entre même espèce de différente région du monde. Cependant, l'effet antibactérien des huiles essentielles étudiés dans notre travail peut être attribuée à sa richesse en composés principaux tels que ; camphor, 1,8-cineole (*A. campestris*) et borneol,  $\gamma$ -terpinene (*C. laurifolius*). D'après Bhavaniramya et al., (2019), l'effet antibactérien des huiles essentielles peut être supérieure à celle de leurs composés majoritaires testés séparément. Inouye et al., (2001) ont montré que le carvacrol peut déstabiliser la membrane cytoplasmique et agit comme un échangeur de protons réduisant ainsi le gradient de pH à travers la membrane cytoplasmique. En effet, les pinènes peuvent détruire l'intégrité cellulaire en inhibant la respiration et les processus de transport ionique (Uribe et al., 1985).

#### 4. Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles

Prior et al., (2005) ont indiqué que jusqu'à présent il n'y a pas une technique universelle par laquelle l'activité antioxydante est évaluée qualitativement et quantitativement. Dans notre étude nous avons utilisé trois méthodes complémentaires pour étudier l'activité antioxydante des huiles essentielles de nos plantes.

##### 4.1. Test de DPPH

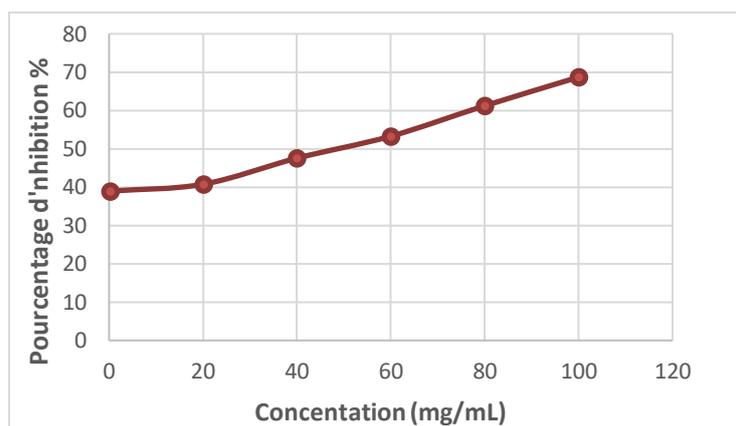
La détermination de la capacité des huiles essentielles de *C. laurifolius* et d'*A.campestris* à piéger le radical libre DPPH a été réalisée par la mesure de son absorbance en présence de ces dernières à différentes concentrations. Les figures n° 21, 22 et 23 et le tableau n°19 représentent les résultats obtenus.



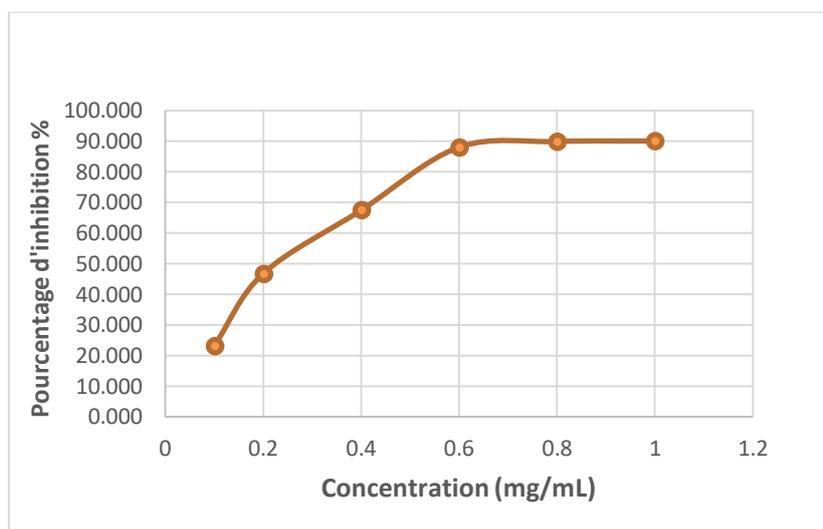
**Figure n° 21.** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. laurifolius*.

La figure n°21 montre une augmentation des pourcentages d'inhibition (PI) du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'HE de *C. laurifolius*, à la plus faible concentration (0.2 mg/mL) l'huile essentielle de ciste a présenté un PI de 29.40 % tandis qu'à la plus grande concentration (100 mg/mL), le PI a atteint 59.09 %.

La figure n°22 indique qu'il ya une proportionnalité entre les pourcentages d'inhibition (PI) du radical libre DPPH et les concentrations de l'HE d'*A. campestris*. Pour la concentration la plus faible (0.2 mg/mL) l'HE de l'armoise a présenté un PI de 38.96 %, tandis qu'à la plus grande concentration (100 mg/mL) le PI a atteint 68.70 %. Ceci montre que l'espèce d'*A. campestris* possède un potentiel antioxydant important par rapport à l'espèce de *C. laurifolius*.



**Figure n° 22.** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. campestris*.



**Figure n° 23.** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique

La capacité antiradicalaire de l'acide ascorbique a été évaluée afin de la comparer à celles des HEs des espèces étudiées. D'après les résultats illustrés dans la figure n°23 nous constatons que la réduction du DPPH a été beaucoup plus importante pour l'acide ascorbique que celles des HEs d'*A. campestris* et de *C. laurifolius*. En effet, le PI a atteint les 50 % à partir de la concentration 0.2 mg/mL. Par conséquent, à partir de cette concentration une augmentation extrêmement intense a été observée. De plus, la concentration 0.8 mg/mL a révélé un PI de 89.88 %. La variation du PI a commencé à plus ou moins se stabiliser à partir de 0.8 mg/mL, aboutissant à une réduction de 90.07 % pour la grande concentration (1 mg/mL). En conséquence, l'antioxydant de référence a provoqué une réduction presque totale du DPPH en sa forme non radicalaire DPPH-H.

**Tableau n °19.** Valeurs de la concentration efficace 50 (CE<sub>50</sub>) des huiles essentielles étudiées et de l'acide ascorbique obtenues par le test de DPPH.

Huile essentielle	<i>Cistus laurifolius</i>	<i>Artemisia campestris</i>	Acide ascorbique
CE <sub>50</sub> (mg/mL)	74.76 ± 0.03	44.38 ± 0.025	0.27 ± 0.0001

Dung et al., (2008) ont montré que la CE<sub>50</sub> exprime la quantité d'antioxydant requise pour réduire 50 % du radical libre. Donc elle est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante d'un composé. Par conséquent, plus la valeur de CE<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydante est grande. Leur évaluation permet de déterminer et de comparer l'efficacité de nos échantillons. Nous constatons d'après les résultats du tableau n°19 que pour les HEs, la plus faible valeur de CE<sub>50</sub> est celle de l'armoise (44.38 mg/mL). En revanche, la plus grande valeur a été obtenue par l'HE de ciste (74.76 mg/mL). En effet, l'activité antioxydante de l'HE de *C. laurifolius* s'est avérée faible par rapport à celle de l'*A. campestris* et celle de l'acide ascorbique reste la plus importante puisque sa CE<sub>50</sub> a été la plus basse (0.27 mg/mL).

#### 4.2. Test de FRAP

La détermination de l'aptitude des HEs des deux plantes à réduire le fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>) a permis d'obtenir les résultats illustrés dans les figures n°24, 25, 26 et le tableau n°20. D'après les résultats obtenus nous constatant que le pouvoir réducteur, exprimé en absorbance à 700 nm, est proportionnel à l'augmentation des concentrations de chacune des solutions testées. L'HE de l'armoise a présenté une plus forte activité que celle de ciste. Ceci est reflété par l'obtention des densités optiques (DO) élevées à des concentrations très faibles. A la concentration 10 mg/mL la DO maximale a été de 2.29 pour l'HE d'*A. campestris* (figure n°24). De même, pour l'HE de *C. laurifolius*, à la concentration 10 mg/mL la DO maximale est de 1.97 (figure n° 25). A partir des résultats illustrés dans la figure n°26 nous remarquons que la réduction du fer par l'acide ascorbique a été plus importante que celle des HEs (la plus grande absorbance notée est de 2.43 à la concentration 1.2 mg/mL).

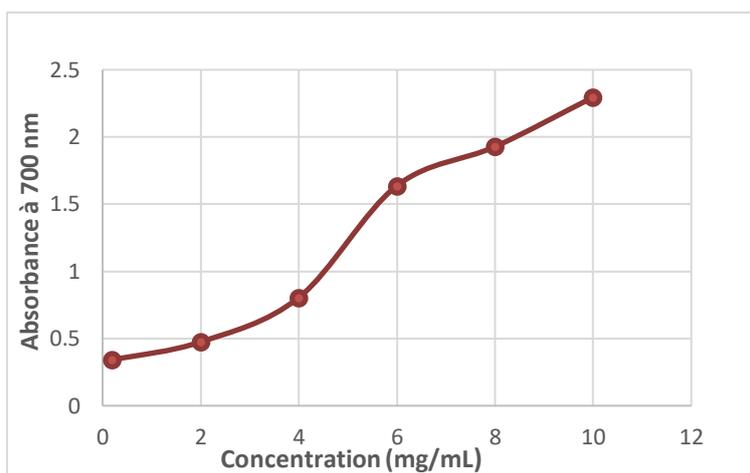


Figure n° 24. Pouvoir réducteur de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris*.

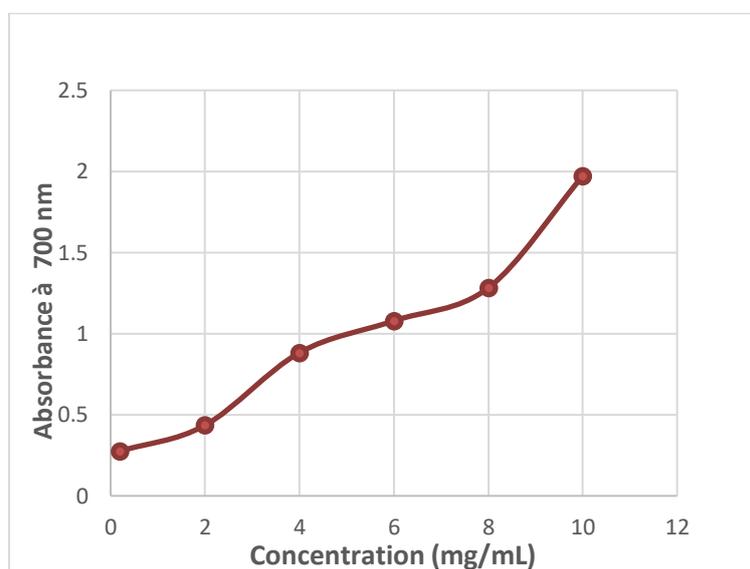


Figure n° 25. Pouvoir réducteur de l'huile essentielle de *Cistus laurifolius*.

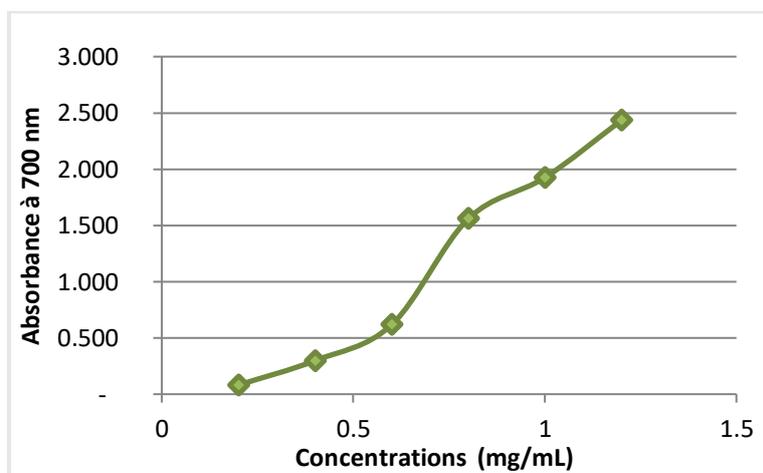


Figure n°26. Pouvoir réducteur de l'antioxydant de référence (l'acide ascorbique).

L'évaluation de l'efficacité des huiles essentielles est déterminée à partir de la CE<sub>50</sub>. Nous monterons d'après le tableau n°20, que l'HE d'*A. campestris* présente la valeur la plus faible en CE<sub>50</sub> (1.60 mg/mL). Bien que cette valeur reflète la capacité d'HE à réduire le fer ferrique en fer ferreux correspondant à une absorbance de 0.5. En effet, cette concentration reste très élevée par rapport à celle de l'acide ascorbique (0.44 mg/mL). Par contre, pour l'HE de *C. laurifolius* la CE<sub>50</sub> est de 2.04 (mg/mL).

**Tableau n° 20.** Valeurs de la concentration efficace 50 des huiles essentielles étudiées et de l'acide ascorbique obtenues par le test de FRAP.

Huile essentielle	<i>Cistus laurifolius</i>	<i>Artemisia campestris</i>	Acide ascorbique
CE <sub>50</sub> (mg/mL)	2.04 ± 0.2	1.60 ± 0.3	0.44 ± 0.01

L'étude de l'activité antioxydante des HEs nécessite au moins l'utilisation de deux tests différents. En conséquence, à cause de la complexité des processus d'oxydation-réduction et des différences entre les systèmes d'essai étudiés, un seul test ne reflètera donc pas tous les résultats de l'activité antioxydante (Schlesier et al., 2002 ; Prior et al., 2005 ; Li et al., 2009). D'après les résultats obtenus nous montrons que l'HE d'*A. campestris* possède un pouvoir antioxydant important comparé à celui de HE de *C. laurifolius* alors qu'il est nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique. Par conséquent, nos résultats sont similaires avec ceux précédemment rapporté par Bakchiche et Gherib, (2014). Une étude faite par Touil et al., (2017) a montré que l'HE d'*A. campestris* possède une activité antioxydante plus importante à celle hexibé par notre huile essentielle (CE<sub>50</sub> déterminée est de 21.33 ± 1.44 mg/mL par le test de DPPH). D'autre travaux effectués par Aniya et al., (2000) et Djeridane et al., (2006) sur l'espèce d'*A. campestris* ont prouvé un grand effet antioxydant.

Nos résultats obtenus par le test de DPPH montrent que l'HE d'*A. campestris* est plus active à celle trouvé par Bertella, (2019) (CE<sub>50</sub> = 53.44 mg/mL) ou encore, celle révélé par Akrouit et al., (2011) (CE<sub>50</sub>= 94.5 mg/mL). Cependant, elle est moins importante que celle obtenue par l'étude de Aloui et al., (2016). Une autre étude menée par Noui et al., (2021) a trouvé que l'HE d'*A. campestris* possède une forte activité antioxydante (CE<sub>50</sub> notée à 2713 ± 293 µg/mL par le test de DPPH). Alors que ces résultats sont nettement supérieurs par rapport aux notre. En effet, l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia* joue un rôle primordial dans la protection contre les maladies oxydatives (Singh et al.,2010). De nombreux travaux antérieurs réalisés par Amensour et al., (2010) ; Barrajon-Catalan et al., (2010) ; Guimarães et al., (2010) et Zidane et al., (2013) ont rapporté que non seulement les

HEs, mais aussi tous les produits dérivés du *Cistus* (extraits aqueux, alcooliques et hydroalcooliques) possèdent une activité antioxydante importante. Une étude menée par **Yigit et al., (2021)** a révélé que l'huile essentielle de *Cistus laurifolius* possède un très bon effet antioxydant ( $CE_{50}$  trouvées sont respectivement  $5.55 \pm 1.42 \mu\text{g/mL}$  et  $4.27 \pm 0.17 \mu\text{g/mL}$  par le test de DPPH et de FRAP), par comparaison les résultats obtenus par le test de DPPH et du FRAP dans notre cas sont nettement inférieurs.

**Esra et al., (2012)** ont prouvé que l'extrait éthanolique des feuilles de *Cistus laurifolius* a révélé une activité antioxydante importante et les pourcentages d'inhibitions obtenus, pour les concentrations 500,1000 et 2000  $\mu\text{g/mL}$  sont respectivement de 14.34, 22.23 et 28.92 %. Tandis que, ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par les nôtres. De plus, des résultats similaires trouvés par **Kupeli et Yesilada (2006)** et **Sadhu et al., (2006)** ont révélé que l'extrait éthanolique des feuilles de *Cistus laurifolius* avait un meilleur effet antioxydant. Une autre étude effectuée par **Amensour et al., (2010)** a montré que les extraits éthanoliques et méthanoliques des feuilles de *Cistus ladaniferus* provenant du Maroc (testée par plusieurs méthodes, y compris : test de DPPH, FRAP, ABTS) possèdent un fort potentiel antioxydant.

#### 4.3. Test du blanchissement du $\beta$ -carotène

Selon **Kartal et al., (2007)** l'aptitude des HEs à inhiber la peroxydation des lipides a été évaluée par la technique de décoloration du  $\beta$ -carotène, cette dernière est habituellement employée pour estimer l'activité antioxydante des substances dans les émulsions, accompagnée de l'oxydation. Les résultats obtenus montrent que le standard testé (BHT) inhibe l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du  $\beta$ -carotène à une concentration de 200 ( $\mu\text{g/mL}$ ) avec un pourcentage d'inhibition de 80.48 %, par rapport aux HEs testées. Ces résultats sont légèrement proches à celui trouvé par **Metoui et al., (2017)** en testant l'acide ascorbique (86.65 %). De plus, le pourcentage de l'activité antioxydante relative de l'HE d'*A. campestris* est de  $54.04 \pm 0.04\%$ , il est supérieur à ceux trouvés avec l'HE de *C. laurifolius*, qui a montré un pourcentage de  $37.61 \pm 0.005 \%$ , pour la concentration 200 ( $\mu\text{g/mL}$ ). **Metoui et al., (2017)** ont testé l'activité antioxydante de l'HE d'*A. campestris* par la méthode de blanchissement de  $\beta$ -carotène, ils ont trouvé une valeur de 82.2 %. Alors que ces résultats étaient supérieurs aux nôtres. Une autre étude réalisée par **Noui et al., (2021)** a montré que l'HE d'*A. campestris* prouve un bon effet antioxydant par le test de  $\beta$ -carotène. Selon **Ferreira et al., (2006)** le test d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique couplée à celle du  $\beta$ -carotène, paraît très utile comme un modèle de la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques.

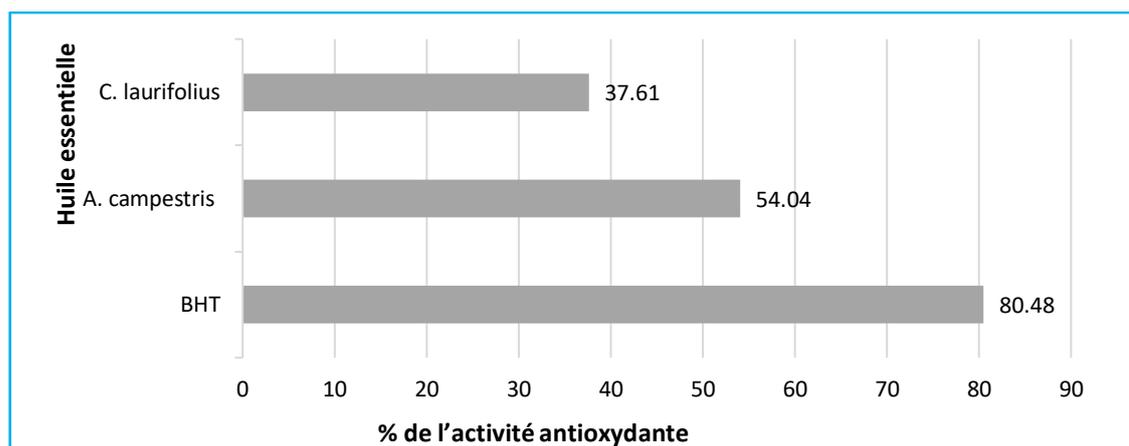


Figure n°27. Pourcentage de l'activité antioxydante relative des huiles essentielles et BHT.

Safaei-Ghomi *et al.*, (2009) ont rapporté que le pouvoir antioxydant des HEs ne peut pas être attribué uniquement aux composants majoritaires mais aussi aux composants minoritaires par effet synergique. Par conséquent, les composés majeurs testés séparément donnent des résultats inférieurs comparés à l'activité antioxydante de la totalité d'une HE. En effet, les composés antioxydants fonctionnent synergiquement les uns avec les autres pour produire un large spectre d'activité et génèrent un système de défense efficace contre les radicaux libres (Lu et Foo, 2001). Ce type d'activité des HEs dépend de leur composition chimique et plus précisément de la concentration et de la structure des molécules dotées de propriétés antioxydantes (Kamal-Eldin et Appelqvist, 1996 ; Číž *et al.*, 2010). De même le type de substrat, la température, la lumière, l'état physique du système et des microcomposants agissant comme pro-oxydants ou synergistes (Kamal-Eldin & Appelqvist, 1996). Également, la méthode utilisée est un facteur qui peut influencer fortement cette activité (Miguel *et al.*, 2007). Des travaux antérieurs réalisés sur *Salvia eremophila* et *Psammogeton canescens*, ont démontré qu'il y avait une étroite corrélation entre l'absence des composés phénoliques et la faible activité antioxydante des HEs (Ebrahimabadi *et al.*, 2010 et Gholivand *et al.*, 2010).

La  $CE_{50}$  est inversement liée à la capacité antioxydante des HEs, car elle exprime la quantité d'antioxydante requise pour diminuer la concentration du radical libre à 50 %. Plus la valeur de  $CE_{50}$  est basse, plus l'activité antioxydante est importante (Laib et Barkat, 2011). Selmi *et al.*, (2016) ont montré que la capacité des HEs à piéger le radical DPPH peut être due au fort pourcentage des composés oxygénés tels que le camphre, 1.8 cineole et autres qui sont connus par leur activité antioxydante. La comparaison des résultats reste non fiable à raison des différents paramètres adoptés lors de l'analyse et les protocoles modifiés qui

utilisent différentes concentrations de DPPH, différents solvants (méthanol, éthanol...) et aussi différents temps de réaction (15, 30 et 60 min) (Boukhalkhal et al., 2018). Il a été rapporté que la différence de l'activité de l'HE, d'une méthode à l'autre, peut être due aux différents mécanismes, tels que la prévention de l'initiation, décomposition du peroxyde, prévention de l'abstraction continue de l'hydrogène, piégeage des radicaux libres, capacité de réduction et liaison de catalyseurs. Il est important d'utiliser plusieurs méthodes d'analyse et différents substrats pour évaluer l'efficacité des antioxydants (Boukhalkhal et al., 2018). Les activités antioxydantes des extraits des plantes ont été rapportés par un nombre considérable de chercheurs (Zengin et al., 2016 ; Barak et al., 2019 ; Inan et al., 2020 et Lee et al., 2020).

## 5. Etude *in-vivo*

### 5.1. Toxicité Aiguë

L'évaluation de la toxicité aiguë des huiles essentielles d'*A. campestris* et de *C. laurifolius* a été réalisée par administration orale chez des souris *Swiss albinos* fournies par l'Institut Pasteur Algérie. D'après les résultats obtenus après 24 heures, nous observons que, pour les HEs d'*A. campestris* et *C. laurifolius*, l'administration orale des différentes doses utilisées n'a pas modifié le comportement des souris testés, ainsi aucun changement des réponses autonomes n'a été observée, de même aucune mortalité n'a été signalée. Mais, lorsque les souris ont été traitées avec la dose de 5000 mg/kg (pour les deux huiles essentielles), une respiration très rapide (manifestation d'une tachypnée) et une asthénie pendant les premières heures après traitement a été observée. La toxicité orale aiguë effectuée dans notre travail est basée sur la méthode par classe de toxicité aiguë décrite par la ligne directrice OECD code-423(OECD, 2001a). Cette dernière est un processus séquentiel qui est validé *in-vivo* à l'échelle internationale (Schlede et al., 1995). Cette méthode n'utilise que trois animaux d'un seul sexe par étape afin de réduire la variabilité et de minimiser le nombre d'animaux utilisés (OECD, 2001b). Dans notre cas ce sont les femelles qui ont été testées.

D'après Lipnick et al., (1995) les relevés de la littérature sur les tests DL<sub>50</sub> classiques ont montré qu'il y a peu de différence dans la sensibilité entre les sexes. Les deux huiles essentielles étudiés sont inclassables (DL<sub>50</sub> > 5000 mg/Kg). Dib et al., (2017) ont publié que la dose 2 g/kg de l'HE d'*A. campestris* utilisée pour l'étude de la toxicité orale aiguë est révélée non toxique ce qui supporte nos résultats. Sefi et al., (2010) ont trouvé que plusieurs études supplémentaires sur *A. campestris* indiquant que l'administration intrapéritonéale de l'extrait aqueux à des souris présente une toxicité avec une DL<sub>50</sub> = 2.5 (g/kg) de poids

corporel. Une autre étude effectuée par **Judzentiene, (2010)** sur HE d'*A. campestris*, a montré des résultats similaires au notre. **Sebai et al., (2014)** ont mentionné qu'aucun signe de toxicité n'a été détecté lors de l'administration de l'extrait d'*A. campestris* à une dose de 3.2 g/Kg ce qui confirme la sureté de cette espèce. Il faut signaler qu'il existe très peu de données dans la littérature concernant la toxicité de l'huile essentielle de *Cistus laurifolius*. **Esra et al., (2007)** ont rapporté qu'il n'y a pas de preuve de toxicité aigüe de l'extrait aqueux et éthanolique des feuilles de *Cistus laurifolius* chez les souris *Swiss albinos*, ce qui confirme nos résultats.

## 5.2. Activité anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'HE d'*A. campestris* a été réalisée par le test d'œdème plantaire induit par injection de carraghénane chez les souris *Swiss albinos*. Les résultats de l'évaluation de l'effet anti-inflammatoire de l'œdème de la patte induit par le carragénine chez la souris sont illustrés dans le tableau n°21 et la figure n°28.

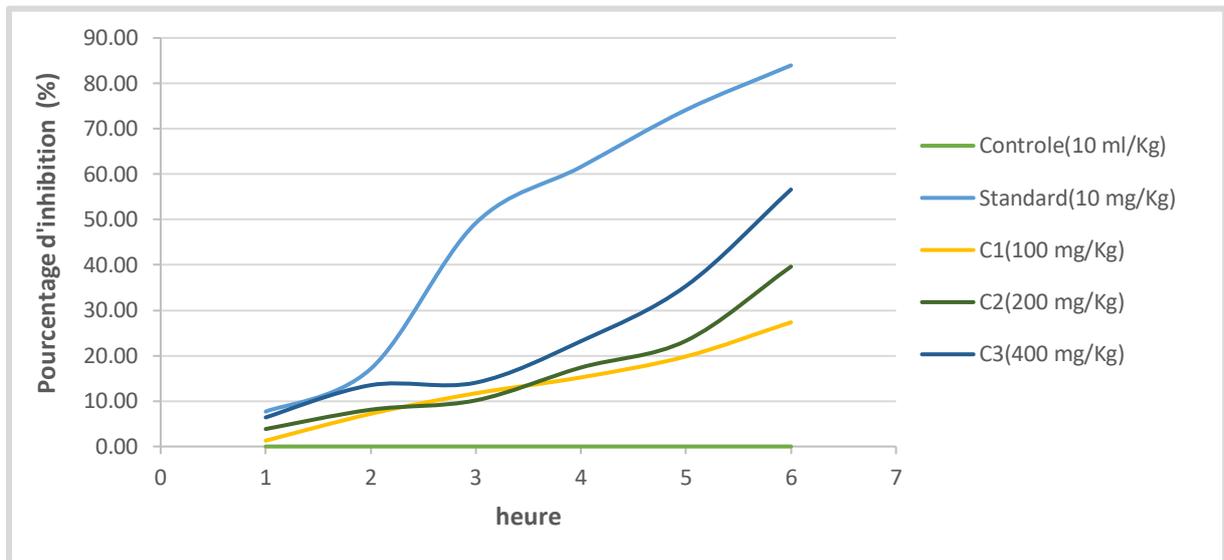
**Tableau n°21.** Effet anti-inflammatoire de l'HE d'*A. campestris* sur l'œdème de la patte induit par le carraghénane chez la souris *Swiss albinos*.

Heure	Diamètre de la patte en millimètre (mm)				
	Contrôle	Standard	Huile essentielle d' <i>Artemisia campestris</i>		
/	(10 mL/Kg)	(10 mg/Kg)	C1(100 mg/Kg)	C2(200 mg/Kg)	C3 (400 mg/Kg)
0 H	2.15±0.05	2.03±0.05	1.98±0.09	1.86±0.05	1.95±0.05
1 H	2.93±0.1	2.75±0.05	2.75±0.05	2.61±0.04	2.68±0.07
2 H	3.26±0.08	2.95±0.05	3.01±0.09	2.88±0.04	2.91±0.07
3 H	3.43±0.08	2.68±0.09	3.11±0.04	3.01±0.07	3.05±0.05
4 H	3.53±0.08	2.56±0.05	3.15±0.05	3±0.08	3.01±0.07
5 H	3.31±0.07	2.33±0.08	2.91±0.07	2.75±0.05	2.70±0.06
6 H	3.21±0.07	2.2±0.08	2.75±0.08	2.50±0.08	2.41±0.07

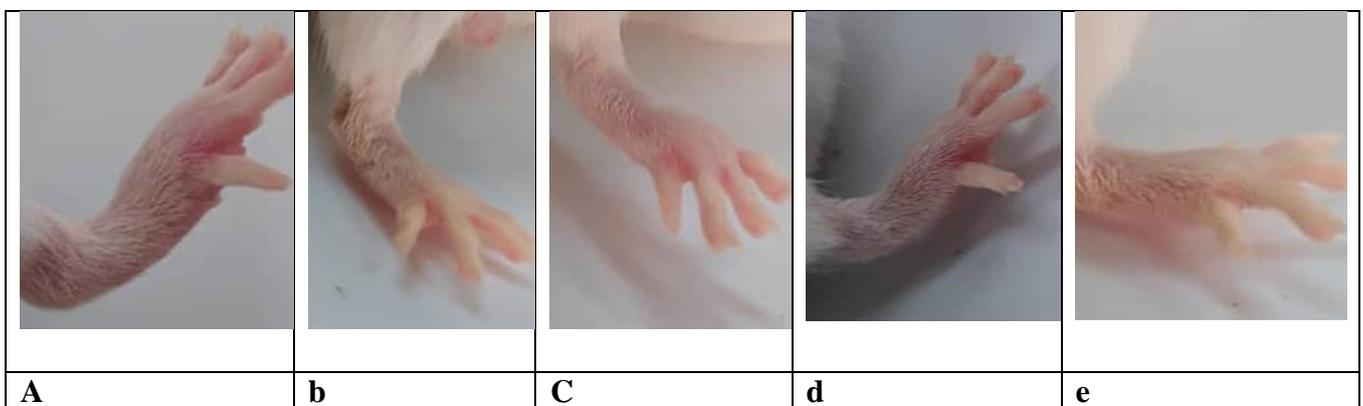
Valeurs exprimées en Moyenne ± (n = 6) ; Contrôle : véhicule (Tween 80 à 1%) ; Standard : Diclofénac

D'après le tableau n°21 nous remarquons, en fonction des heures, une augmentation progressive du volume de l'œdème plantaire suite à l'injection de l'agent phlogogène, atteignant à 4 heures son seuil maximal dans le groupe témoin (3.53 mm). L'HE d'*A. campestris* utilisée à différentes doses pour le traitement des souris a montré une diminution de l'œdème à partir de quatre heures par rapport au témoin et pour le diclofénac, le même phénomène a été remarqué mais à partir de trois heures par rapport au témoin. En effet, l'activité anti-inflammatoire est attribuée aux composants principaux de l'HE d'*A. campestris* (camphor et le 1.8-cinéole). De même, il existe des constituants mineurs tels que :  $\gamma$ -terpinène et  $\alpha$ -cubebene pouvant contribuer à l'activité anti-inflammatoire. D'une part, l'HE d'*A.*

*campestris* a montré un pourcentage d'inhibition de 27.36, 39.62 et 56.60 % pour les doses 100, 200 et 400 mg/kg de poids corporel respectivement après 6 heures, d'autre part ; ces pourcentages étaient inférieurs à ceux qui ont été observés avec le diclofénac (83.96 %).



**Figure n°28.** Le pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte par le diclofénac et l'HE d'*A. campestris* pendant 6 heures après injection de carraghénane. (C : Concentration mg/Kg)



**Figure n°29 :** Effet de l'HE d'*A. campestris* sur l'œdème plantaire 6 heures après injection de la carragénine chez la souris (a, b, c, d, e voir annexe 07).

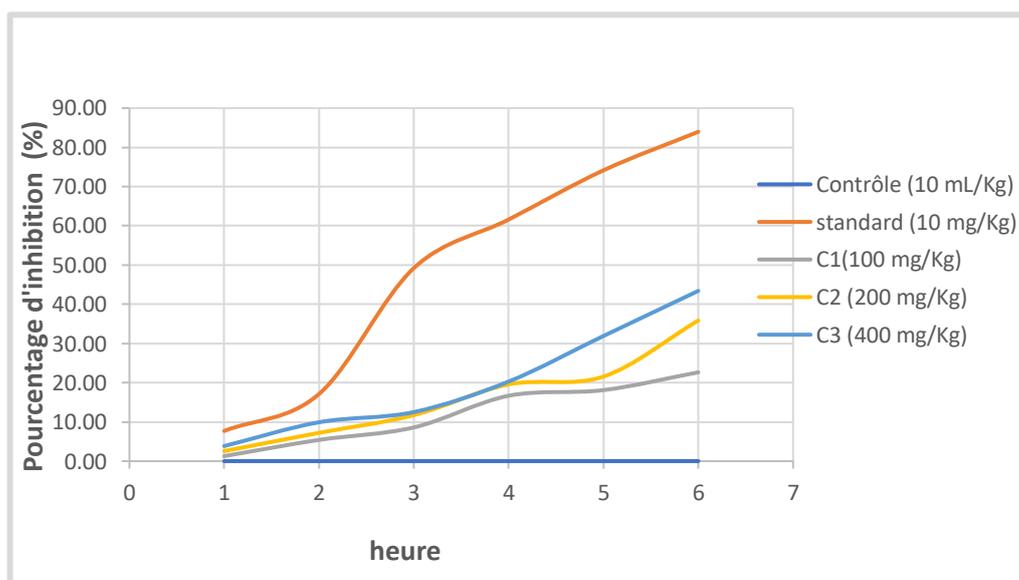
L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'HE de *C. laurifolius* a été réalisée par le test d'œdème plantaire induit par injection de carraghénane chez la souris. Les résultats de l'évaluation de l'effet anti-inflammatoire de l'œdème de la patte induit par le carraghénane chez la souris, sont illustrés dans le tableau n°22 et la figure n°30. Selon le tableau n°22 nous remarquons, en fonction des heures, une augmentation progressive du volume de l'œdème plantaire suite à l'injection de l'agent phlogogène, atteignant à 4 heures son seuil maximal dans le groupe témoin (3.53 mm).

**Tableau n°22.** Effet anti-inflammatoire de l'HE de *C. laurifolius* sur l'œdème de la patte induit par le carraghénane chez la souris *Swiss albinos*.

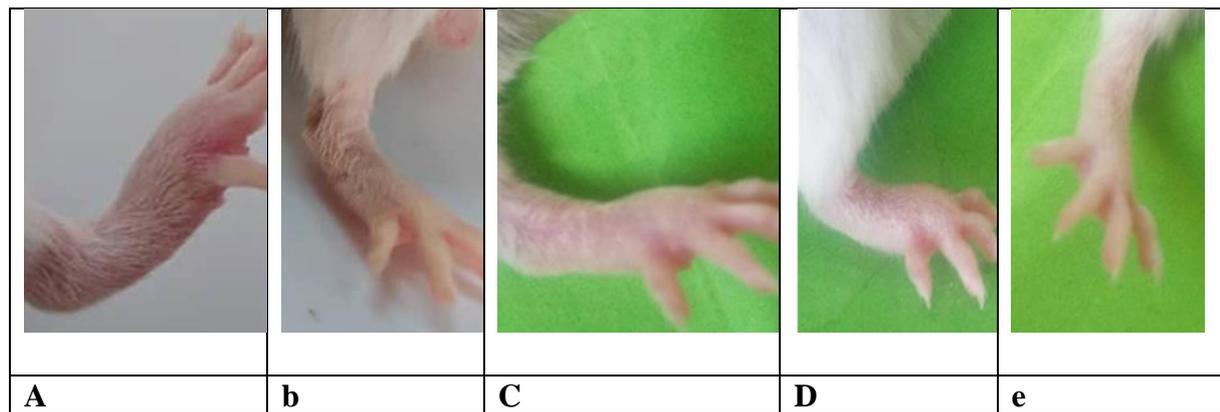
Diamètre de la patte en millimètre (mm)					
Heure	Contrôle	Standard	Huile essentielle de <i>Cistus laurifolius</i>		
/	(10 mL/Kg)	(10 mg/Kg)	C1(100 mg/Kg)	C2 (200 mg/Kg)	C3(400 mg/Kg)
<b>0H</b>	2.15±0.05	2.03±0.05	1.98±0.07	2.00±0.08	1.96±0.08
<b>1H</b>	2.93±0.1	2.75±0.05	2.75±0.05	2.76±0.12	2.71±0.07
<b>2H</b>	3.26±0.08	2.95±0.05	3.03±0.05	3.03±0.08	2.96±0.08
<b>3H</b>	3.43±0.08	2.68±0.09	3.15±0.1	3.13 ±0.05	3.08±0.07
<b>4H</b>	3.53±0.08	2.56±0.05	3.13±0.01	3.12±0.07	3.06±0.05
<b>5H</b>	3.31±0.07	2.33±0.08	2.93±0.05	2.92±0.07	2.75±0.05
<b>6H</b>	3.21±0.07	2.2±0.08	2.80±0.08	2.68±0.07	2.56±0.08

Valeurs exprimées en Moyenne ± (n = 6) ; Contrôle : véhicule (Tween 80 à 1%) ; Standard : Diclofénac

L'HE de *C. laurifolius* utilisée à différentes doses pour le traitement des souris a révélé une diminution de l'œdème à partir de quatre heures par rapport au témoin et pour le diclofénac le même phénomène a été remarqué mais à partir de trois heures par rapport au témoin. En effet, l'activité anti-inflammatoire est attribuée aux composants principaux de l'HE de *C. laurifolius* (borneol et  $\gamma$ -tèrpinène). Il existe des constituants mineurs tels que : delta-cadène et camphor pouvant contribuer à l'activité anti-inflammatoire. D'une part, l'HE de *C. laurifolius* a montré un pourcentage d'inhibition de 22.6, 35.85 et 43.40 % pour les doses 100, 200 et 400 mg/kg de poids corporel respectivement après 6 heures, d'autre part ; ces pourcentages étaient inférieurs à ceux qui ont été observés avec le diclofénac standard 83.96%.



**Figure n° 30.** Le pourcentage d'inhibition (%) de l'œdème de la patte par le diclofénac et l'HE de *C. laurifolius* pendant 6 heures après injection de carraghénane. C : Concentration (mg/Kg).



**Figure n° 31 :** Effet de l'huile essentielle de *C. laurifolius* sur l'œdème plantaire 6 heures après injection de la carragénine chez la souris (**a, b, c, d, e** voir annexe 07).

**Reanmongkol et al., (2009)** ont montré que l'œdème induit par injection de carraghénane est un modèle largement utilisé pour évaluer l'activité anti-inflammatoire. En effet, l'injection de carraghénane provoque la libération de plusieurs médiateurs chimiques qui sont responsables du processus inflammatoire. De plus, ce phénomène est caractérisé par une réponse biphasique : la phase initiale (1-2 h) dépend de la libération de médiateurs chimiques tels que la sérotonine, la bradykinine et l'histamine. La phase tardive (3-6 h) est soutenue par la libération des prostaglandines, des leucotriènes, des lysozymes, des protéases et d'oxyde nitrique (NO) (**DiRosa et al., 1971 ; Olajide et al., 1999 ; Posadas et al., 2004**). D'après **Havsteen, (2002)** les eicosanoïdes (leucotriènes et prostanoïdes) induisent la biosynthèse d'élastase, collagénase et d'autres composés.

Ces enzymes décomposent les protéines structurales en peptides provoquant une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité vasculaire et de la pression hydrostatique. Cela entraîne, par conséquent, la formation d'un œdème et la migration des neutrophiles vers les tissus endommagés. Ces derniers produisent des radicaux libres dérivés de l'oxygène tels que l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), le radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ) et le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) qui contribuent à la réponse inflammatoire en causant des dommages cellulaires (**Posadas et al., 2004 ; Kumar et Kuttan, 2009**). Les ROS (espèces réactives de l'oxygène) sont impliquées dans la physiopathologie des maladies inflammatoires (cancer, diabète, athérosclérose, arthrite et maladies infectieuses). De plus, ils induisent la libération de cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  et IL-6) et l'activation d'enzymes pro-inflammatoires (cyclo-oxygénases, lipoxigénase et monoxyde d'azote synthase) impliquées dans le processus inflammatoire (**Gupta et al., 2005**). **Tanas et al., (2010)** ont montré que la lipoxigénase

catalyse la biosynthèse des leucotriènes qui sont des médiateurs pro-inflammatoires. En même temps, les ROS oxydent les lipides insaturés de la membrane cellulaire conduisant à la formation de peroxydes lipidiques cytotoxiques impliqués dans le processus inflammatoire. Par conséquent, l'activation de la lipoxigénase et la formation de peroxydes lipidiques sont provoquées par l'injection de carraghénane. D'après **Nussler et Billiar, (1993)** ; **Nantel et al., (1999)** les cyclooxygénases-2 (COX-2), enzymes inductibles par les cytokines (facteur de nécrose tumorale alpha « TNF $\alpha$  » et interleukines IL-6 et IL-1 $\beta$ ) sont présentes dans les cellules inflammatoires activées et jouent un rôle crucial dans l'inflammation en libérant le médiateur prostanoloïde (prostaglandines et thromboxane). Il a été constaté que l'inductible oxyde nitrique synthase (iNOS) génère de l'oxyde nitrique (NO) est considéré comme ayant un rôle central dans les réponses inflammatoires (**Fialkow et al., 2007**). En effet, il est reconnu que l'expression du iNOS et des COX-2 est maximale au cours de la deuxième phase (3-6 heures) de l'œdème plantaire (**Loram et al., 2007** ; **Eddouks et al., 2012**). Alors que cette phase est sensible à la majorité des médicaments anti-inflammatoires cliniquement efficaces (**Vinegar et al., 1969**). Par conséquent, l'inhibition de la production du NO et des prostaglandines par suppression de l'expression du iNOS et des COX-2 était bénéfique dans le traitement des maladies inflammatoires (**Sawatzky et al., 2005**).

A travers nos résultats, nous avons constaté que les HEs testées à différentes doses et plus particulièrement celle de l'*A. campestris*, possédaient un effet anti-inflammatoire considérable, ce qui leur a permis, d'inhiber l'inflammation comparé au groupe témoin (tableaux n°22 et 23) ceci à partir de 4 heures. **Medila et al., (2017)** ont démontré que l'extrait éthanoloïque des feuilles d'*A. campestris* a diminué l'œdème à partir de la deuxième heure après administration de l'extrait par rapport au groupe témoin, les pourcentages d'inhibitions étaient de 34.61 et 67.15 % pour les doses de 150 et 300 mg/kg. Par comparaison, ces résultats restent légèrement proches à celles trouvées par notre l'HE. En outre, l'activité était importante à la dose de 300 mg/kg, par rapport à l'activité produite par l'anti-inflammatoire standard (acide acétylsalicylique). Cependant, nos résultats montrent que l'activité de diclofénac était puissante (83.96%) à celle trouvée par l'HE d'*A. campestris* pour la plus grande dose (400 mg/Kg). Une étude effectuée par **Ghissi et al., (2016)** a révélé que l'extrait aqueux des feuilles d'*A. campestris* administré par voie intrapéritonéale montre un effet anti-inflammatoire dans l'œdème de la patte induit par le carraghénane chez le rat. Ces résultats sont en accord avec les nôtres. Des résultats similaires trouvés par **Boudjouref et al., (2019)** ont prouvé que les extraits des feuilles d'*A. campestris* testant *in-vivo* exercent une activité anti-inflammatoire très puissante.

Par conséquent, l'effet anti-inflammatoire pourrait être dû en partie à la présence des composés phénoliques et des flavonoïdes dans les extraits (**Ghissi et al., 2016**). Selon **Boudjouref et al., (2019)** très peu de travaux ont été réalisés sur l'étude des propriétés anti-inflammatoires d'*A. campestris*. En effet, les extraits éthanoliques des feuilles d'*A. campestris* possèdent un degré variable d'activité anti-inflammatoire. Alors que cet effet pourrait s'expliquer par l'inhibition de la synthèse de substances pro-inflammatoires (**Medila et al., 2017**). Une étude menée par **Esra et al., (2007)** sur l'extrait éthanolique des feuilles de *Cistus laurifolius* a révélé une activité anti-inflammatoire importante pour les doses de 250 et 500 (mg/kg) chez des souris *Swiss albinos*. Ces résultats sont en accord à ceux trouvés par notre HE à la dose de 400 mg/kg. Cependant, l'extrait aqueux n'a montré aucun effet contre l'œdème de la patte induit par la carraghénane chez la souris (**Esra et al., 2007**). De plus, une activité anti-inflammatoire des extraits éthanoliques des feuilles de *Cistus laurifolius* a été constaté par **Yesilada et al., (1997b)** et **Kupeli et Yesilada, (2007)**, ce qui confirme nos résultats. Les feuilles de *Cistus laurifolius* ont été utilisées traditionnellement en Turquie pour le traitement des troubles inflammatoires, notamment les douleurs rhumatismales, la fièvre élevée, l'inflammation urinaire et l'ulcère gastroduodéal. Cette plante serait également utile pour le traitement du cancer (**Kumar Sadhu et al., 2006**). Des travaux antérieurs réalisées par **Barrajón-Catalán et al., (2010)** et **Tomás-Menor et al., (2013)** ont prouvé que diverses composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes, pro-anthocyanidines) et terpènes isolés à partir des espèces de *Cistus* ont des propriétés thérapeutiques.

**Kim et al., (2004)** ; **Mujumdar et al., (2004)** et **Panthong et al., (2004)** ont rapporté que de nombreux remèdes à base de plantes sont efficaces tels que les propriétés anti-inflammatoires distinctifs. De plus, plusieurs études ont démontré que les flavonoïdes ont des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils peuvent moduler le fonctionnement du système immunitaire en inhibant l'activité d'enzymes qui pourraient être responsables de l'inflammation (**González-Gallego et al., 2007**). Ils peuvent ainsi induire l'inhibition de l'histamine (**Kim et al., 2004**). Il a été prouvé que les HEs qui sont riches en  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -pinène et phellandrène ont une activité anti-inflammatoire (**Sayyah et al., 2003** ; **Chao et al., 2005** ; **Miguel et al., 2010**). Plusieurs études ont trouvé que l'activité anti-inflammatoire peut être expliquée en partie par la présence des composés polyphénoliques comme les tanins et les flavonoïdes (**Bruneton, 1999**).

# *Conclusion*

---

## *Conclusion*

---

Dans les dernières décennies, il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle, pour le traitement de diverses maladies. Les produits naturels notamment d'origine végétale, ont toujours été une source importante de molécules thérapeutiques ayant des activités biologiques. La présente étude a été menée dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne notamment les deux espèces végétales poussant à l'état spontané dans l'Algérie qui sont *Artemisia campestris* et *Cistus laurifolius*. Dans cette étude, nous avons identifié la composition chimique des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse et étudiée leur toxicité aigue ainsi que certaines activités biologiques tels que ; l'activité antibactérienne, l'activité antioxydante et l'activité anti-inflammatoire.

Au terme de ce travail différents résultats ont été obtenus, d'une part, le screening phytochimique des parties aériennes des deux espèces étudiées a révélé la présence de différentes familles de métabolites secondaires. Essentiellement les alcaloïdes, tannins, stérols et triterpènes, coumarines et saponosides. Ces composants, de part leurs diverses propriétés biologiques, contribuent à l'utilisation de ces deux plantes comme remèdes en médecine traditionnelle. L'extraction des huiles essentielles d'*A. campestris* et de *C. laurifolius* par hydro-distillation, a donné des rendements respectifs de 4.9 % et 2 %. La CPG-MS de l'HE d'*A. campestris* a permis d'identifier 33 composés volatiles dont le composé dominant est le camphor avec 41.95 %. Également, d'autres constituants se trouvent à des taux appréciables, il s'agit notamment du  $\gamma$ -terpinène (2.62 %),  $\alpha$ -cubebène (2.07 %). Tandis que, la CPG-MS de l'HE de *C. laurifolius* a permis de révéler 53 composés volatiles dont le composé majoritaire est le borneol avec 14.69 %. D'autres composants, également se trouvent à des taux appréciables, il s'agit du delta-cadinene (5.51 %), camphor (2.69%).

L'évaluation de l'activité antibactérienne a montré, par la méthode d'aromatogramme, un grand effet inhibiteur d'HE d'*A. campestris* sur les quatre souches bactériennes de référence testées. La souche la plus sensible est *B. cereus* ATCC 10876. La plus grande zone d'inhibition qui a été enregistrée a donné un diamètre de 24.33 mm. De plus, l'HE de *C. laurifolius* a montré un effet inhibiteur sur les trois souches bactériennes de référence testées. La souche la plus sensible est *Bacillus cereus* ATCC 10876. La plus grande zone d'inhibition qui a été enregistrée a révélé un diamètre de 30.66 mm. La technique de la micro-dilution en milieu liquide a permis d'obtenir les concentrations minimales inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB). Les valeurs sont comprises entre 15 et 60 mg/mL pour la CMI et de 30 et 120 mg/mL pour la CMB concernant l'HE d'*A. campestris*, tandis que, pour l'HE de *C. laurifolius*, les valeurs obtenues sont comprises entre 40.63 et 81.25 mg/mL pour la CMI et de 81.25 et 162.5

## Conclusion

---

mg/mL pour la CMB. L'effet antibactérien exercé par l'HE d'*A. campestris* pourrait être attribué au comphor (41.95 %),  $\gamma$ -terpinène (2.62 %) et  $\alpha$ -Cubebène (2.07 %). Tandis que, celui de *C. laurifolius* pourrait être liée au borneol (14.69%), delta-cadinene (5.51 %) et camphor (2.69 %). Pour plus de comparaison aux huiles essentielles, les antibiotiques n'étaient pas tous efficaces contre les souches bactériennes de références testées, certains étaient même inactifs contre plus de deux souches tels que : pipéracilline et céfazoline. La synergie entre les huiles essentielles testés et les antibiotiques standard montre un effet antibactérien important sur différentes souches bactériennes de référence testées (les diamètres des zones d'inhibitions sont compris entre 9.33 et 34.66 mm pour l'HE de l'armoise et 8.66 et 38.33 mm pour l'HE de ciste).

L'évaluation du pouvoir antioxydant, par le test de DPPH, le test de FRAP et le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène, a montré que les HES d'*A. campestris* et de *C. laurifolius* possédaient une activité antioxydant importante. En effet, les deux HES étudiées ont révélé un pouvoir de piéger le radical libre DPPH, les valeurs de la  $CE_{50}$  obtenues sont 44.38 mg/mL pour HE d'*A. campestris* et 74.76 mg/mL pour HE de *C. laurifolius*. Par ailleurs, les  $CE_{50}$  obtenues par le test de FRAP sont 1.60 mg/mL pour l'HE de l'armoise et 2.04 mg/mL pour celle de ciste. Le test du blanchissement du  $\beta$ -carotène d'HE d'*A. campestris* a donné un pourcentage de l'activité antioxydante de 54.04 % qui est supérieur, à celui trouvé avec l'HE de *C. laurifolius*, qui a montré un pourcentage de 37.61%.

L'étude *in-vivo* réalisée sur des souris *Swiss albinos* a trouvé d'une part, que les huiles essentielles administrées par voie orale ne présentaient pas de risque de toxicité aigüe, toutes les  $DL_{50}$  ont été supérieures à 5000 mg/Kg (Dose maximale). D'autre part, le test de l'oedème plantaire induit par la carragénane a permis de mettre en évidence l'effet anti inflammatoire des huiles essentielles d'*A. campestris* et de *C. laurifolius*. L'HE d'*A. campestris* a révélé un pourcentage d'inhibition de 27.36, 39.62 et 56.60 % pour les doses de 100, 200 et 400 mg/kg du poids corporel respectivement après 6 heures. Tandis que, l'HE de *C. laurifolius* a montré un pourcentage d'inhibition de 22.64, 35.85 et 43.40 % pour les doses de 100, 200 et 400 mg/kg du poids corporel respectivement après 6 heures, ces pourcentages étaient inférieurs à ceux obtenus avec le diclofénac standard 83.96 % (l'anti-inflammatoire de référence).

Dans notre étude, l'ensemble des résultats obtenus constitue une première étape dans la recherche des molécules de source naturelle biologiquement active et comme perspective il serait intéressant d'approfondir ce travail en :

## *Conclusion*

---

- Utilisant d'autres techniques d'extractions des huiles essentielles pour améliorer le rendement et la composition chimique.
- Etudiant les huiles essentielles des autres parties des plantes tels que ; les fleurs, les racines, les écorces et les baies.
- Isolant et caractérisant les composants responsables des différentes activités biologiques ;
- Etudiant les mécanismes d'action et les facteurs influençant l'efficacité des huiles essentielles ;
- Elargissant le spectre des activités biologiques que peuvent posséder les huiles essentielles en évaluant d'autres activités tant au niveau *in-vitro* qu'*in-vivo* tels que l'activité antitumorale, antivirale, insecticide.....

*Références*

*Bibliographiques*

---

**Abad M.J., Bedoya L.M., Apaza L. & Bermejo P, 2012**, The *Artemisia L.* genus: a review of bioactive essential oils. *Molecules*. 17(3), 2542-2566 p.

**Abdelli W., Bahri F., Romane A., Höferl M., Wannerd J., Schmidtc E., and Jirovetzc L, 2017**, Chemical Composition and Anti-inflammatory Activity of Algerian *Thymus vulgaris* Essential Oil. *Natural Product Communications*. 611-614p.

**Abdelli W., Bahri F., Sysak A., Szumny A., Pawlak A., & Obmińska-Mrukowicz B, 2019**, Chemical composition, antimicrobial and cytotoxic activity of essential oils of Algerian *Thymus vulgaris* L. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 76 (6), 1051-1059.

**Achak N, 2006**, Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région tensift Al haouz-Marrakech. Thèse de Doctorat. Université Kaddy ayad. Maroc. 240 p.

**Adams R.P, 2001**, Identification of essential oil components by Gas Chromatography /Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Pub. Corp., Carol Stream, IL.

**Adams R.P, 2007**, Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectorscopy (4th ed). Al-lured Pub. Corp.

**Adams R.P, 1995**, Identification of essentiel oil components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured publishing, Carol stream.

**AFNOR (Association Française de Normalisation), 1986**, Recueil des normes françaises.

**Akkol E.K., Orhan I.E., Yesilada E, 2012**, Anticholinesterase and antioxidant effects of the ethanol extract, ethanol fractions and isolated flavonoids from *Cistus laurifolius* L. leaves. *Food Chem*, 131, 626-631p.

**Akrout Ahmed., Alarcon Gonzalez L., El Jani H., Campra Madrid P, 2011**, Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. *Food Chem. Toxicol.*, 49, 342-347p.

**Akrout A., Chemli R., Chreïf I., Hammami M, 2001**, Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *Flavour. Frag. J.*, 16(5), 337-339p.

**Akrout A., Chemli R., Simmonds M., Kite G., Hammami M., Chreif I, 2003**, Seasonal variation of the essential oil of *Artemisia campestris* L., *J. Essent. Oil. Res.*, 15, 333-336p.

**Akrout A., El Jani H., Amouri S. et Neffati M, 2010**, Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia helba Alba* Asso, and *Thumus capitatus* Hoff. Et Link. Growing wild in the southern of Tunisia. *Recent Res. Sci. Technol.* 2 (1), 29-39p.

**Akrout A., Mighri H., Krid M., Thabet F., Turki F., El-Jani H., & Neffati M, 2012**, Chemical composition and antioxidant activity of aqueous extracts of some wild medicinal plants in Southern Tunisia. *J. Life Sci. Med. Sci.* 2(1), 1-4p.

**Akrout A., Neffati M., Chemli R., Aouni M., Jerraya R., Dammak M., & Dar A, 2007,** Composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L. Revue des Régions Arides, Numéro spécial, Actes du séminaire international « Les Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales », SIPAM 2006, Djerba, Tunisie p. 231-240p.

**Allahverdiyev A., Duran N., Ozguven M., Koltas S, 2004,** Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis* L. against Herpes simplex virus. *Phytomedicine*, 11, 657-661p.

**Almeida J.R.G., da S., Souza G.R., Silva J.C, 2013,** Borneol, a Bicyclic Monoterpene Alcohol, Reduces Nociceptive Behavior and Inflammatory Response in Mice. *The Scientific World Journal*, 808460.

**Ali Esmail A, 2015,** The pharmacological importance of *Artemisia campestris*- a review. *Asian J. Pharm. Res. Vol 5, Issue 2*, 88-92.

**Aloui Z., Chokri M., Meriam H., Neffati N., Bassoumi Jamoussi I., Essafi-Benkhadir K., Boussaid M., Guizani I., and Karoui H., 2016,** Asteraceae *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba* Essential Oils Trigger Apoptosis and Cell Cycle Arrest in *Leishmania infantum* Promastigotes. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.

**Al-Snafi A.E, 2015,** The phamacological Importance of. *Artemisia campestris*. Areview. 90-91p.

**Alghazeer R.O., Naili M.B., Saleh N.A and Al-Najjar A.Y, 2010,** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnacea). *Arabian Journal of Chemistry*, 3, 79-84.

**Andrade B.F.M.T., Barbosa L.N., Probst I.S., Júnior A.F, 2014,** Antimicrobial activity of essential oils. *J. Essent. Oil Res.*, 26 (1), 34-40p.

**Angell M., Kassirer J.P, 1998,** Alternative medicine-The risks of untested and unregulated remedie. *N Engl J Med*, 339(12), 839-841p.

**Aniya Y., Shimabukuro M., Shimoji M., Kohatsu M., Gyamfi M.A., Miyagi C., Kunii D., Takayama F. et Egashira S, 2000,** Antioxidant and hepatoprotective actions of the medicinal herb *Artemisia campestris* from the Okinawa Islands. *Biol. Pharm.Bull.* 23(3), 309-312.

**Anthony J.P., Fyfe L., Smith H, 2005,** Plant active components: a resource for antiparasitic agents? *Trends Parasitol.*, 21, 462-468p.

**Aprotosoai A.C., Spac A.D., Hancianu M., Miron A., Tanasescu V.F., Dorneanu V., Stanescu U, 2010,** The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Farmacologia*, 58(1), 46-54p.

**Archana B., Dasgupta N., De B, 2005,** *In-vitro* study of antioxidant activity of *Syzygies cumini* fruit. *Food Chem*, 90(4), 727-733p.

**Aronne G., Micco V, 2001,** Seasonal Dimorphism in the Mediterranean *Cistus incanus* L. *subsp. incanus*. *Ann Bot.* 87, 789-794p.

**Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A., Witier P, 1995**, Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, *Edition Masson, Paris*, 700p.

**Arrigo M., Ginestra G., Mandalari G., Furneri P.M., Bisignano G, 2011**, Synergism and post antibiotic effect of tobramycin and *Melaleuca alternifolia* (teatree) oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Phytomedicine*. 17, 317-322.

**Arruda D.C., D’Alexandri F.L., Katzin A.M., Uliana S.R.B, 2005**, Antileishmanial activity of the terpene nerolidol. *Antimicrob. Agents Chemother*, 49, 1679-1687p.

**Aruna K., et Sivaramakrishnan V.M, 1996**, Anticarcinogenic effects of the essential oils from cumin, poppy and basil. *Phytother. Res.*, 10, 577-580p.

**Astani A., Reichling J., Schnitzler P, 2010**, Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. *Phytother Res*. May ;24(5) : 673-9.

**Audigie C.L., Dupon G., and Zongain F, 1995**, Principes des méthodes d’analyse biochimique. T1, 2ème ED. Doin, Paris. 44p.

**Auldrige M.E., McCarty D.R., Klee H.J, 2006**, Plant carotenoid cleavage oxygenases and their apocarotenoid products. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 9, 315-321p.

**Awadh A.N.A., Jülich W.D., Kusnick C. et Lindequist U, 2001**, Screening of Yemeni medicinal plants for antibacterial and cytotoxic activities. *Journal of Ethnopharmacology*. 74, 173-179p.

**Ayoola G.A., Coker H.A.B., Adesegun S.A., Adepoju-Bello A.A., Obaweya K., Ezennia E.C., Atangbayila T.O, 2008**, Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1019-1024p.

**Baba Aissa F, 1991**, Les plantes médicinales en Algérie. Coédition Bouchene et Addiwane, Alger, Algérie.

**Babushok V.I., Linstrom P.J., Zenkevich I.G, 2011**, Retention Indices for Frequently Reported Compounds of Plant Essential Oils. *J. Phys. Chem. Ref. Data* Vol. 40, No.4.

**Bakchiche B., Gherib A., Smail A., Maatallah M., Miguel M. G, 2014**, Chemical composition of essential oils of *Artemisia campestris* and *Juniperus phoenicea* from Algeria. *Inter. J. Innov. App. Stud.*, 9(4), 1434-1436p.

**Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M, 2008**, Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-475p.

**Balouiri M., Sadiki M., & Ibsouda S. K, 2016**, Methods for *in-vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.

**Barak T.H., Celep E., Inan Y., Yesilada E, 2019**, Influence of *in-vitro* human digestion on the bioavailability of phenolic content and antioxidant activity of *Viburnum opulus* L. (European cranberry) fruit extracts. *Ind. Crops Prod*. 131, 62-69p.

- Barrajón-Catalán E., Fernández-Arroyo S., Saura D., Guillén E., Fernández-Gutiérrez A., Segura-Carretero A., Micol V, 2010**, Cistaceae aqueous extracts containing ellagitannins show antioxidant and antimicrobial capacity, and cytotoxic activity against human cancer cells. *Food Chem. Toxicol.* 48, 2273-2282p.
- Basli A., Chibane M., Madani K., et Oukil N, 2012**, Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 10, 2-9p.
- Baudry C., Brezellec H, 2006**, Microbiologie-immunologie : Cahiers du préparateur en pharmacie. 2ème édition, Groupe Liaisons, 126p.
- Bechlaghem K, 2020**, Etudes chimiques et biologiques des extraits préparés à partir de quelques espèces de Cistacées poussant en Algérie. Université de Tlemcen (Algérie).
- Bekka-Hadji F., Bombarda I., Djoudi F., Bakour S., Touati A, 2022**, Chemical composition and synergistic potential of *Mentha pulegium* L. and *Artemisia herba alba* Asso. Essential Oils and Antibiotic against Multi-Drug Resistant Bacteria. *Molecules*, 27, 1095.
- Belaiche P, 1979**, Traité de phytothérapie et d'arurrathéraçke. T « rrer 1. ET) Mah, ine, Park.
- Belaqziz R, 2007**, Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude de certaines lamiacées. Synthèse chimio-enzymatique de thiols d'intérêt organoleptique. Thèse de doctorat, Université de Marrakech, Maroc, 171p.
- 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), 429-432p.
- Bellomaria B., Valentini G., Biondi E, 2001**, Chemotaxonomy of *Artemisia variabilis* Ten. and *Artemisia campestris*. ssp. *glutinosa* (Ten.) Briq. et Cavill. (Asteraceae) from Italy. *J Essent Oil Res* 13, 90-94p.
- Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F., Aouni M, 2007**, Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *J Pharmaco. Bio.* 45 (5), 421-428p.
- Benamara-Bellagha M, 2015**, Organisation du génome et étude palynologique de quelques espèces algériennes du genre *Centaurea* L. Thèse, Université Constantine 1.
- Benbelaïd F., Khadir A., Bendahou M., Zenati F., Bellahsene C., Muselli A., Costa J., 2016**, Antimicrobial activity of *Rosmarinus eriocalyx* essential oil and polyphenols: An endemic medicinal plant from Algeria. *J. Coast. Life Med.*, 4(1), 39-44p.
- Bendif H, 2017**, Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques *in vitro* des extraits actifs de quelques Lamiaceae : *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord & Fourr. Thèse de Doctorat. Ecole normale supérieure de kouba-alger. Alger, 199p.

- Benini C., Danflous J.P., Wathelet J.P., Patrick D.J., et Fauconnier M.L., 2010**, Activité antibactérien et antifongique des produits à base d'huiles essentielles. *Revue hygiène*, 87-94p.
- Beniston N., et Beniston W., 1984**, Fleurs d'Algérie. *Entreprise Nationale du Livre. Alger.* 97-99p.
- Benzeggouta N., 2005**, Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Mémoire de magister, Université de Constantine, Algérie, 110p.
- Berche P., Gaillard J.L., Simonet M., 1989**, Bactériologie : bactéries des infections humaines.
- Berche P., Gaillard J.L., Simonnet M., 1991**, Les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leur prévention. Bactériologie des infections humaines de la biologie à la clinique. *Flammarion*, Paris, 64-71p.
- Berenbaum M.C., 1989**, What is synergy? *Pharmacol Rev* 1989; 41, 93-141p.
- Berger M.M., 2006**, Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20, 48-53p.
- Berrouane N., 2014**, Étude de l'effet protecteur de l'extrait d'*Artemisia campestris* sur le stress oxydant induit chez le rat par le tétrachlorure de carbone (ccl4), magister en sciences agronomiques, alimentation et nutrition, Ecole nationale supérieur Agronomique El-Harach Alger. 148 P.
- Berset C., Cuvelier M.E., 1996**, Méthodes d'évaluation du degré d'oxydation des lipides et de mesure du pouvoir antioxydant. *Science des Aliments*, 16, 219-245p.
- Bertella A., 2019**, Study of the antimicrobial and antioxidant activity of the essential oils of *Artemisia Herba alba*, *Artemisia campestris* & *Rosmarinus tournfortti*, Doctoral Thesis, Ahmed Ben-Balla Oran University 1, Algeria.
- Berthelot P.H., et Lucht F., 1998**, Investigation d'épidémie d'infection nosocomiale, les différents types d'enquête épidémiologique et leur méthodologie d'analyse. *Med Mal Inf.* 28, 469-73p.
- Besombes C., 2008**, Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, France, 289p.
- Bharti P., Bai S., Seasotiya L., Malik A., Dalal S., 2012**, Antibacterial activity and Chemical Composition of Essential Oils of Ten Aromatic Plants against selected Bacteria. *Int. J. Drug Dev. & Res.*, 4 (4), 342-351p.
- Bolou G.E.K., Attioua B., N'Guessan A.C., Coulibaly A., N'Guessan J.D., Djaman A.J., 2011**, Evaluation *in-vitro* de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch. Sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*. *Bulletin de l'Société Royale des Sciences de Liège*, 80, 772-790p.

**Bonsignore L., Casu L., Loy G., Deidda D., Genco F, 2004**, Analysis of the Essential Oil of *Oenanthe crocata* L. and Its Biological Activity. *J. Essent. Oil Res.*,16(3), 266-269p.

**Borugă O., Jianu C., Mișcă C., Golet I., Gruia A.T., Horhat F.G, 2014**, *Thymus vulgaris* essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Medicine and Life*, 7(3), 56-60p.

**Bouchonnet S., Hoppilliard Y., Kargar-Grisel T, 1999**, Les différents types de spectromètres de masse utilisés pour l'analyse des composés organiques et bio-organiques. *Spectra Analyse*, 207, 11-25p.

**Bouchonnet S., Libong D, 2002**, Le couplage chromatographique en phase gazeuse spectrométrie de masse. Département de chimie, Laboratoire des mécanismes réactionnels. *Ecole Polytechnique, PALAISEAU Cedex*.

**Boudjlal A., Henchiri C., SARI M, 2013**, Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An Ethnopharmacology survey. *Journal of ethnopharmacology*, 395-402p.

**Boudjouref M, 2019**, Antioxydant and anti-inflammatoire activités of *Artemisia campestris* extracts, Doctoral Thesis, Ferhat Abbas Sétif University 1, Algeria.

**Boudjouref M, 2011**, Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. *Men. Mag. Bio.*, Université de Sétif. 99p.

**Bouhassira D., Calvino B, 2009**, Douleurs : Physiologie, physiopathologie et pharmacologie. Arnette, 384p.

**Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S., Abrini J, 2006**, *Thymus* essential oils: chemical composition and *in-vitro* antioxydant and antibacterial activities. In: Congrès International de Biochimie. Agadir, Morocco. 1-4p.

**Bouhdid S., Skali S.N., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Amensour M., Abrini J, 2008**, Antibacterial and antioxydant activities of *Origanum compactum* essential oil. *Afr. J. Biotechnol.*, 7(10), 1563-1570p.

**Boukhalkhal S., Gourin N., Pinto D.C.G.A., Silva A. M. S., Yousfi M, 2018**, Variability of the chemical composition and the antioxydant activity of the essential oils of two subspecies of *Artemisia campestris* L. Growing in Algeria. *J. Food Meas. Charact.*1-14p.

**Boukhatem T., Chadli R., Bouchama A., Hamed D, 2018**, Cytotoxicity test on *Artemia Salina*, antibacterial and antifungal activities of *Cystoseira Stricta* extracts from the coast of Mostaganem, western Algeria. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 9 (12), 3190-3196.

**Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhsine M., Chaouch A., Satrani B, 2009**, Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl). *AgroSolutions*, 20(1), 45-48p.

**Bouvet P.J.M., et Crimont P.A.D, 1989**, Acinetobacter. In : Le MINOR L et VERON M, eds. Bactériologie Médicale. Paris: Flammarion, 599-604p.

- Braga P.C., Dal Sasso M., Culici M., Gasastri L., Marceca M.X., Guffanti E.E, 2006,** Antioxidant potential of thymol determined by chemiluminescence inhibition in human neutrophils and cell free systems. *Pharmacology* 76, 61-68p.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C, 1995,** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol*, 28(1), 25-30p.
- Bruneton J, 1999,** Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants, Lavoisier Publishing, Paris, 367-370p.
- Bruneton J, 2009,** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition, Tec &Doc, Lavoisier, Paris, 1292p.
- Bruneton J, 1993,** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. *Tec. & Doc.* Lavoisier, 2ème édition, Paris. 915p.
- Buchbauer G, 2000,** The detailed analysis of essential oils leads to the understanding of their properties. *Perfum Flavor*, 25, 64-67p.
- Buchbauer G., Jirovetz L, 1994,** Aromatherapy- Use of fragrances and essential oils as medicine, *Flavnur, and Fragrance J.*, 9, 217-222p.
- Burt S, 2004,** Essential oils: Antibacterial properties and potential applications in food: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253p.
- Butler M.S., Buss A.D, 2006,** Natural products--the future scaffolds for novel antibiotics? *Biochemical pharmacology* 71, 919-929p.
- Barrajon-Catalan E., et al., 2010,** Cistaceae aqueous extracts containing ellagitannins show antioxidant and antimicrobial capacity, and cytotoxic activity against human cancer cells. *Food Chem. Toxicol*, 48 (8-9), 2273-2282.
- Bhavaniramya, S., Vishnupriya, S., Al-Aboody, M. S., Vijayakumar, R., & Baskaran, D. (2019).** Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain & Oil Science and Technology*, 2(2), 49-55.
- Bouamama H., et al., 1999,** Antibacterial and antifungal activities of *Cistus incanus* and *C. monspeliensis* leaf extracts. *Therapie* 54 (6), 731-733.
- Calcagno F., Lacroix R, 2011,** Pharma-memo infectiologie. Vernazobres-Greco, Paris, 246p.
- Calvez J, 2010,** Stress et prise alimentaire-Application à l'étude de l'effet anti-stress d'un extrait de levure chez le rat. Thèse de doctorat. AgroParisTech. France. 257p.
- Carette A.S, 2000,** La lavande et son huile essentielle. Thèse de doctorat, Université de Toulouse, France, 100p.
- Carson C.F., Cookson B.D., Farrelly H.D., Riley T.V, 1995,** Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J. Antimicrob. Chemother*, 35, 421-424p.

**Carson F.A., et Hammer K, 2011**, Chemistry and Bioactivity of Essential Oils. In: Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents. John Wiley & Sons. Islande. 336p.

**Catoni R., Gratani L., Varone L, 2012**, Physiological, morphological and anatomical trait variations between winter and summer leaves of *Cistus* species. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 207(6), 442-449.

**Chaieb K., Hajlaoui H., Zmantar T., Ben Kahla-Nakbi N., Rouabhia M., Mahdouani K., Bakhrouf A, 2007**, The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytother. Res.*, 21, 501-506p.

**Chaieb M., Noumi Z., Ouled Dhaou S., Derbel S., 2010**, The status of Asteraceae in the arid and saharian flora of North African region: case of Tunisia. *Pak. J. Bot.*, 42, 1417-1422p.

**Chalchat J.C., Cabassu P., Petrovic S.D., Maksimovic Z.A., Gorunovic M.S, 2003**, Composition of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Serbia. *J. Essent. Oil. Res.*, 15, 251-253p.

**Chami N., hami F., Bennis S., Trouillas J., Remmal A, 2004**, Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *Brazilian J Infections Disease*, 217-226.

**Chao L.K., Hua K.F., Hsu H.Y., Cheng S.S., Liu J.Y., Chang S.T, 2005**, Study on the anti-inflammatory activity of essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7274-7278p.

**Chalus-Dancla E., Cloeckaert A., Payot S., Baucheron S, 2002**, Les multiples façons de faire de la résistance aux antibiotiques. In : Antibiothérapie bovine. Acquis et consensus (coordonné par C Legrand), Le Point Vétérinaire, Maisons-Alfort, 53-67p.

**Chier A., Juteau F., Bessiere J.M., Masotti V., Viano J, 2002**, Impact du séchage sur la composition de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* var. *glutinosa* », *Société française de chimie Section ACA XVe*.

**Chkarnat M, 2013**, Plantes médicinales et vénéneuses. BL0024.29 :34P.

**Chraief I., Hammami M., Chekir-Ghedira L, 2008**, Chemical Composition, Mutagenic and Antimutagenic Activities of Essential Oils from (Tunisian) *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba*. *J. Essent. Oil Res.*, 20, 471-477p.

**Číž M., Čížová H., Denev P., Kratchanova M., Slavov A., Lojek A, 2010**, Different methods for control and comparison of the antioxidant properties of vegetables. *Food Control*, 21, 518-523p.

**Clevenger, J.F, 1928**, Apparatus for the Determination of Volatile Oil. *The Journal of the American Pharmaceutical Association*, 17(4), 345-349p.

**Clos J, 2012**, Immunité chez les animaux et les végétaux : Aspects fondamentaux et physiopathologiques. Lavoisier, Paris, 432p.

**Çolak ÖF., Kaygusuz O., and Işıloğlu M, 2017**, Two *Lactarius* species mycorrhizal with *Cistus laurifolius* in Turkey. *Current Research in Environmental & Applied Mycology* 7(1), 26-32p.

**Comandini O., Contu M., Rinaldi A.C, 2006**, An overview of *Cistus* ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*. 16, 381-395p.

**Cos P., Arnold J.V., Dirk V.B. et Louis M., 2006**, Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in “vitroproof-of-concept”. *Journal of Ethnopharmacology*, 106, 290-302p.

**Cosentino S., Barra A., Pisano B., Cabizza M., Pirisi F.M, Palmas F, 2003**, Composition and antimicrobial properties of *Sardinian Juniperus* essential oils against foodborne pathogens and spoilage microorganisms. *J. Food Protect.*, 66, 1288-1291p.

**Cousins M.J., Power I, 1999**, Acute and postoperative pain. In: Textbook of pain (edited by P.D Wall., R Melzack), Edinburgh, Churchill Livingstone. 447-491p.

**Cox S.D., Mann C.M., Markham I.L., Dell H.C., Custafson J.E., Warmhgt&n J.R., Wyllie S.G, 2000**, The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca1tf1cira* (ka re ad)'. *J «f Applied Mi ob'iGkfgy*; 88, 17&-17p.

**Crespo M.E., Jiménez J., Navarro C, 1991**, Special methods for the essential oils of the genus *Thymus*. In: Modern Methods of Plant Analysis, (edited by H.F. Linskens and J.F. Jackson). Essential oils and waxes. Springer-Verlag, Berlin. Vol 12, New series, 41-46p.

**Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G, 2000**, Natural products (secondary metabolites). In: Biochemistry and Molecular Biology of Plants (Eds Buchanan B., Gruissem W., et Jones R.), American Society of Plant Biologists, Rockville, MD, USA, 1250-1268p.

**CASFM, 2014**, Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie.  
**CASFM, 2018**, Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie.

**Dapkevicius A., Venskutonis R., Van Beek T.A., Linssen J.P.H, 1998**, Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of Science Food and Agriculture*, 77(1), 140-146p.

**Davies J.E, 1997**, Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. *Ciba Found Symp*, 207, 15-27p.

**Davies N.W,1990**, Gas chromatographic retention indexes of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowas 20M phases. *Journal of Chromatography A*, 503, 1-24p.

**Dayer J.M., Schorderet M, 1998**, Physiopathologie de la fièvre, de la douleur et de l'inflammation : Analgésiques, antipyrétiques, anti-inflammatoires et immunosuppresseurs. In : Pharmacologie, des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques (coordonné par M Schorderet), 3èmeédition, Frison-Roche, Slatkine, Paris-Genève. 569-581p.

**De Billerbeck V.G, 2000**, Activité fongique de l'huiles essentielles de *Cymbopogon nardus* / sur *Aspergillus niger*/ Evaluation d'un bioréacteur pour l'étude de l'effet des substances volatiles en phase vapeur. Institut national polytechnique de Toulouse, 236p.

**De Billerbeck V.G, 2002**, Essais d'utilisation d'huiles essentielles en traitement de l'air, les contaminants biologiques des biens culturels. Museum National d'histoire naturelle et éd. Scientifiques et médicales, 345-358p.

**De Bruyne T., Pieters L., Deelstra H., Vlietinck A, 1999**, Condensed vegetables tannins: Biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical System Ecology*, 27, 445-459p.

**De Maack F., et Sablier M, 1994**, Couplages chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Dossier : P2614. Vol papier n° : TA3. Bases documentaires, Techniques d'analyse.

**De Morais S.M., Facundo V.A., Bertini L.M., Barreira Cavalcanti E.S., Júnior J.F.D.A., Ferreira S.A., De Brito E.S., De Souza N.M.A, 2007**, Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from Piper species. *Biochem. Syst. Ecol.*, 35, 670-675p.

**Deans S.G., et Ritchie G., 1987**, Antibacterial properties of plant essential oils. *Int. J. Food Microbiol.*, 5, 165-180p.

**Deba F., Xuan T.D., Yasuda M., Tawata S, 2008**, Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control*, 19,346-352p.

**Degryse A.C., Delpla I., et Voinier M.A., 2008**, Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Atelier santé environnement -IGS- EHESP, 87p.

**Demetzos C., et Loukis A, 1995**, Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cistus creticus* L. *J. essent. Oil. Res.*, 7, 407-410p.

**Demetzos C., et al., 1997**, Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cistus creticus* subsp. *Eriocephalus*. *Planta Medica*, 63(5), 477-479.

**Demoré B., Grare M., Duval R.E, 2012**, Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. In : Pharmacie clinique et thérapeutique (coordonné par J Calop., S Limat., C Fernandez et G Aulagner), 4<sup>ème</sup> édition, Elsevier Masson, Paris.801-844p.

**Desjobert J.M., Bianchini A., Tommy P., Costa J., and Bernardini A.F, 1997**, Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*, 25 (6),13-16p.

**Desmares C., Laurent A., et Delerme C, 2008**, Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. AFSSAPS. Anatole, France, 18p.

**Dethier M, 1996**, Contribution à l'étude des plantes aromatiques du Burundi. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, France, 182p.

**Díaz C., Quesada S., Brenes O., Aguilar G., Ciccio J. F., 2008**, Chemical composition of *Schinus molle* essential oil and its cytotoxic activity on tumour cell lines. *Nat. Prod. Res.*, 22, 1521-1534p.

**Dib I., Fauconnier M.L., Sindic M., Belmekki F., Assaidi A., Berrabah M., Mekhfi H., Aziz M., Legssyer A., Bnouham M and Ziyayat A, 2017**, Chemical composition, vasorelaxant, antioxidant and antiplatelet effects of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Oriental Morocco. *BMC Complementary and Alternative Medicine* DOI 10.1186/s12906-017-1598-2.

**DiRosa M., Giroud J.P., Willoughby D.A, 1971**, Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. 217-226p.

**Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Vidal N., Lesgards J., Stocker P., 2007**, Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol.*, 224, 801-809p.

**Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. & Vidal N, 2006**, Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* 97, 654-660.

**Dob T., Dahmane D., Berramdane T., and Chelghoum C, 2005**, Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L. from Algeria. *Pharmaceutical Biology* Vol. 43, No. 6: 512-514p.

**Dob T., et Benabdelkader T, 2006**, Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso grown in Algeria. *J Essen Oil Res.*, 6, 685-686.

**Dolara P., Luceri C., De Filippo C., Femia A.P., Giovannelli., Carderni G., Cecchini C., Silvi S., Orpianesi C., Cresci A, 2005**, Red wine polyphenols influence carcinogenesis, intestinal microflora, oxidative damage and gene expression profiles of colonic mucosa in F344 rats. *Mutation Research*, 591 (1-2), 237-246p.

**Dorman H.J.D., Deans S.G, 2000**, Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. App. Microbiol.*, 88, 308-316p.

**Dubey V.S., Bhalla R., Luthra R, 2003**, An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. *J. Biosci.*, 28, 637-646p.

**Dudareva N., Pichersky E., Gershenzon J, 2004**, Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiology*, 135 (4), 1893-1902p.

**Dung N.T., Kim J.M., Kang S.C, 2008**, Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3632-3639p.

**Duraffourd C., D'Hervicourt L., and Lapraz J.C, 1990**, Cahiers de phytothérapie clinique. Examens de laboratoires galéniques. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris.

**Durand G., Beaudoux J.L., 2011,** Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives. 2<sup>ème</sup> édition, Lavoisier, Paris, 607p.

**Ebrahimabadi A.H., Mazoochi A., Kashi F.J., Djafari-Bidgoli Z., Batooli H., 2010,** Essential oil composition and antioxidant and antimicrobial properties of the aerial parts of *Salvia eremophila* Boiss. from Iran. *Food Chem. Toxicol*, 48(5), 1371-1376p.

**Eddouks M., Chattopadhyay D., Zeggwagh N.A., 2012,** Animal models as tools to investigate antidiabetic and anti-inflammatory plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 14.

**Edris A.E., 2007,** Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytotherapy Research* 21, 308-323p.

**Elgayyar M., Draughon F.A., Golden D.A., Mount J.R., 2001,** Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *J. Food Prot.*, 64, 1019-1024p.

**El-Kalamouni C., 2010,** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, France.

**El Karkouri J., Bouhrim M., Al Kamaly O.M., Mechchate H., Kchibale A., Adadi I., Amine S., Alaoui Ismaili S., Zair T., 2021,** Chemical Composition, Antibacterial and Antifungal Activity of the Essential Oil from *Cistus ladanifer* L. *Plants.*, 10, 2068.

**El-massry K.F., et El-Ghorab A.H., 2006,** Effect of essential oils and non-volatile extracts of some aromatic plants on Cu-induced oxidative modification of human lowdensity lipoprotein (LDL). *J. Essent. Oil Bear. Plants*, 3, 292-299p.

**Elson C.E., Peffley D.M., Hentosh P., Mo H., 1999,** Isoprenoid-mediated inhibition of mevalonate synthesis: potential application to cancer. *Exp. Biol. Med.*, 221, 294-311p.

**Ennajar M., Bouajila J., Lebrihi A., Mathieu F., Abderraba M., Raies A., Romdhane M., 2009,** Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L. (Cupressaceae). *Journal of Food Science* 74(7), 364-371p.

**Esra K., et Erdem Y., 2007,** Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from *Cistus laurifolius* L. leaves through bioassay-guided procedures. *J Ethnopharmacology*, ; 112 (3), 524-530.

**Evans W.C., Trease, 2002,** Pharmacognosy. 15<sup>ème</sup> édition. Elsevier édition.

**Fahey J.W., Zalcmann A.T., Talalay P., 2001,** The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56, 5-51p.

**Fakchich J., et Elachouri M., 2014,** Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *J. Ethnopharmacol.*, 154, 76-87p.

**Faria L.R.D., Lima C.S., Perazzo F.F., Carvalho J.C.T, 2011**, Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the essential oil from *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae). *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 7(2), 1-8p.

**Favier A, 2003**, Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* 14, 108-115p.

**Favier A, 2006**, Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.*, 64(6), 390-396p.

**Fabien J., Ve'ronique M., Jean-Marie B., Josette V, 2002**, Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30, 1065-1070.

**Ferreira A., Proenc C., Serralheiro M.L.M. et Araujo MEM, 2006**, The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of ethnopharmacology*, 108(1), 31-37.

**Fellah S., Romdhane & Abderraba M, 2006**, Extraction and study of essential oils from *Salvia officinalis* L. collected in two different regions of Tunisia. *J. Soc. Alger. Chim* 16 (2), 193-202p.

**Ferchichi L., Merza j., Landreau A., Marie Le Ray A., Legseir B., Richomme P, 2006**,

**Fialkow L., Wang Y., Downey G.P, 2007**, Reactive oxygen and nitrogen species as signaling molecules regulating neutrophil function. *Free Radical Biology & Medicine*, 42(2), 153-164p.

**Figueredo G, 2007**, Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse de Doctorat, Université Clermont-Ferrand, France.

**Fillippi J.J., lanfranchi D.A., Prado S., Baldovini N., Meierhenich U.J, 2006**, Composition, distribution and antibacterial activity of the essential oil *Achillea ligustica*. *All. from crosica. J.*

**Franchomme P., Pénoel D, 1990**, L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Edition Roger Jollois, Limoges, France, 445p.

**Franchomme P., Jollois R., Penoel D, 2001**, L'aromathérapie exactement encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. s.l. : Roger Jollois, 978-2878190014.

**Francois couplan, 2012**, Les plantes et leurs noms. Histoires insolites. Edition Quae.V:233p. p25 ; p 45 ; p46.

**Franz-Xaver R., 2010**, Guide pratique de toxicology. 2ème édition, De Boeck, Bruxelles, Belgique, 360p.

**Freire C.S.R., Silvestre A.J.D., Neto C.P. & Evtuguin D.V, 2006**, Effect of oxygen, ozone and hydrogen peroxide bleaching stages on the contents and composition of extractives of *Eucalyptus globulus* kraft pulps. *Bioresource Technol.* 97: 420-428p.

**Fu H., Xie B., Ma S., Zhu X., Fan G., et Pan S., 2011**, Evaluation of antioxidant activities of principal carotenoids available in water spinach (*Ipomoea aquatica*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(2): 288-297p.

**Fujita T., Sezik E., Tabata M., Yesilada E., Honda G., Takeda Y, 1995**, Traditional medicine in Turkey VII. Folk medicine in Middle and West Black Sea Regions. *Econ Bot.* 49: 406-22p.

**Gardner P, 1997**, Superoxide-driven a conitase FE-S center cycling. *Bioscience Reports.* 17, 33-42p.

**Garnier B., Jarlier V, 1996**, Bêta-lactamines et bacilles à Gram négatif. *Feuillets de Biologie*, (212), 13-20p.

**Garnier D, 1992**, Dictionnaire des termes de médecine. Editions Maloine, Paris.

**Gaudy C., Buxeraud J, 2005**, Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique. ELSEVIER / MASSON, 1-269p.

**Geetha T.S., Geetha N, 2014**, Phytochemical screening, quantitative analysis of primary and secondary metabolites of *Cymbopogon citratus* (DC) stapf. leaves from Kodaikanal hills, Tamilnadu. *International Journal of PharmTech Research*, 6(2), 521-529p.

**Ghaleb A., Mhanna M, 2008**, Synergistic effects of plant extracts and antibiotics on *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens. *Middle East J Sci Res* 3(3), 134-9p.

**Ghanmi A., Satrani B., Aberchane M., Ismaili R., Aafi A et El- Abid A, 2003**, Plante aromatique et médicinale du Maroc « les milles et une vertus », édition CENTRE DE RECHERCHE, Collection Maroc nature.130p.

**Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M, 2001**, Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, -Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. TEC et DOC, Paris.

**Ghliissi Z., Sayari N., Kallel R., Bougatef A., & Sahnoun Z, 2016** Antioxydant, antibactérien, anti-inflammatoire et effets de cicatrisation de l'extract aqueux de *Artemisia campestris* en rat. *Biomed. Pharm* 84, 115-122p.

**Gholivand M.B., Rahimi-Nasrabadi M., Batooli H., Ebrahimabadi A.H, 2010**, Composition chimique et activités antioxydantes de l'huile essentielle et des extraits méthanoliques de *Psammogeton canescens*. *Food Chem. Toxicol*, 48(1), 24-28p.

**Gonny M., Bradesi P et Casanova J, 2004**, Identification des composants de l'huile essentielle de la carotte sauvage Corse (*Daucus carota* L.) par spectroscopie RMN <sup>13</sup>C. *Flavour Fragr J*, 19, 424-433p.

**González-Gallego J., Sánchez-Campos S., Tuñón M.J, 2007**, *Nutricin Hospitalaria* 22(3), 287-293p.

**Goudable J., Favier A, 1997**, Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 11, 115-120p.

**Gouilly P., Petitdant B, 2006**, Comprendre la kinésithérapie en rhumatologie. Elsevier Masson, Paris, 318p.

**Guarino C., De Simone L., Santoro S, 2008**, Ethnobotanical study of the Sannio area, Campania, Southern Italy. *Ethnobot. Res. Appl.*, 6, 255-317p.

**Guesmi A., Boudabous A, 2006**, Activité antimicrobienne de cinq huiles essentielles associées dans les produits de thalassothérapie. *Revue des Régions Arides*, 224-230p.

**Guinoiseau E., Luciani A., Serra D.D.R., Quilichini Y., Berti L., Lorenzi V, 2015**, Primary mode of action of *Cistus ladaniferus* L. essential oil active fractions on *staphylococcus aureus* strain. *Adv. Microbiol.*, 5, 881-890p.

**Gupta M., Mazumder U.K., Sambath Kumar R., Gomathi P., Rajeshwar Y., Kakoti B.B & Tamil Selven V, 2005**, Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of methanol extract from *Bauhinia racemosa* stem bark in animal models. *Journal of Ethnopharmacology* 98(3), 267-273p.

**Gutierrez J., Barry-Ryan C., Bourke P, 2008**, The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *Int. J. Food Microbiol.*, 124, 91-97p.

**Goudjil M. B., Ladjel S., Bencheikh S. E., Hammoya F., Bensaci M. B., Zighmi S., & Mehani M, 2016**, Bioactivity of *Artemisia herba alba* essential oil against plant pathogenic fungi. *Der Pharma Chemica*, 8 (3), 46-52.

**Greche H., et al., 2009**, The volatiles of the leaf oil of *Cistus ladanifer* L. var. *albiflorus* and labdanum extracts of moroccan origin and their antimicrobial activities. *J. Essent. Oil Res*, 21 (2), 166-173.

**Guvenc A., Yildiz S., Ozkan A.M., Erdurak C.S., Coskun M., Yilmaz G., Okuyama T., Okada Y, 2005**, Antimicrobiological studies on Turkish *Cistus* species. *Pharm Biol.* 43(2), 178-183.

**Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V, 1996**, Susceptibility of transient and commensal skin flora to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Am. J. Infect. Control*, 24, 186-189p.

**Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V, 1999**, Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.*, 86, 985-990p.

**Harkati B, 2011**, Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteraceae : *Scorzonera undulata*. Thèse doctorat. Chimie organique. Constantine : Université de Mentouri Constantine. P : 4-5p.

**Harnandez T., Canales M., Avila J.G., Garcia A.M., Martinez A., Caballero J., Romo de Vivar A., Lira R, 2005**, Composition and antibacterial activity of essential oil of *Lantana achyranthifolia* Desf. (Verbenaceae). *J. Ethnopharmacol.*, 69, 551-554p.

**Harrison A.P, Bartels E.M, 2006**, *Am. J. Pharm. Toxicol.* 1 (2), 26.

**Hayashi K., Imanishi N., Kashiwayama Y., Kawano A., Terasawa K., Shimada Y., Ochiai H, 2007**, Inhibitory effect of cinnamaldehyde, derived from *Cinnamomi cortex*, on the growth of influenza A/PR/8 virus *in-vitro* and *in-vivo*. *Antiviral Res.*,74(1), 1-8p.

**Hayashi K., Kamiya M., Hayashi T, 1995**, Virucidal effects of the steam distillate from *Houttuynia cordata* and its components on HSV-1, influenza virus, and HIV. *Planta Med.*, 61, 237-241p.

**Hellal Z, 2011**, Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de magister. Université de Tizi-Ouzou, Algérie, 120p, France, 289p.

**Hemwimon S., Pavasant P., Shotiprux A, 2007**, Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Separation and Purification Technology*, 54, 44-50p.

**Hernandez-Ochoa L.R, 2005**, Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné « Solvant /Actif ». D'origine végétale. Thèse de doctorat. Institut National Polytechniques de Toulouse. France.

**Holetz F.B., Ueda-Nakamura T., Dias Filho B.P., Cortez A.G., Morgado-Díaz J.A., Nakamura C.V, 2003**, Effect of essential oil of *Ocimum gratissimum* on the trypanosomatid *Herpetomonas samuelpessoai*. *Acta Protozool.*, 42, 269-275p.

**Holley R.A., Patel D, 2005**, Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiol.*, 22, 273-292p.

**Honda G., Yeşilada E., Tabata M., Sezik E., Fujita T., Takeda Y, 1996**, Traditional Medicine in Turkey VI. Folk Medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. *J Ethnopharmacol.* 53, 75-87p.

**Hopkins G.W., et Evrard C.M, 2003**, Physiologie végétale. De Boeck Université, 532 p. Institut National de la Recherche Forestière (INRF), Etat actuel des ressources génétiques forestières en Algérie.

**Hou J., Sun T., Hu J., Chen S., Cai X., Zou G, 2007**, Chemical composition, cytotoxic and antioxidant activity of the leaf essential oil of *Photinia serrulata*. *Food Chem.*,103, 355-358p.

**Houari M., et Ferchichi A., 2009**, Essential oil composition of *Artemisia herba-alba* from southern Tunisia. *Molecules*, 14, 1585-1594p.

**Huang H.S., Chang L.H., Jong T.T., Nien Y.F., et Chang C.M.J, 1995**, Extraction supercritique de dioxyde de carbone de l'huile de *Curcuma curcumalonga* Linn et purification de turmerones. *Technology.* 47, 119-125p.

**Hulin V., Mathot A., Mafart P, 1998**, Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. *Sci. Aliments*, 18, 563-582p.

**Inan Y., Kurt-Celep I., Akyüz S., Barak T.H., Celep E., Yesilada E, 2020,** An investigation on the enzyme inhibitory activities, phenolic profile and antioxidant potentials of *Salvia virgata*. *Jacq. S. Afr. J. Bot. in press*.

**Inouye S., Takizawa T., Yamaguchi H, 2001,** Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *J. Antimicrob. Chemother.*, 47, 565-573p.

**Iserin P., Vican P, 2001,** Encyclopédie des plantes médicinales/ Identification, préparations, soins. Larousse edition, Paris, 335p.

**Issa A.Y., Volate S.R., Wargovich M.J, 2006,** The role of phytochemicals in inhibition of cancer and inflammation: new directions and perspectives. *J. Food Compost. Anal.*, 19, 405-419p.

**Itani W.S., El-Banna S.H., Hassan S.B., Larsson R. L., Bazarbachi A., Gali-Muhtasib H. U, 2008,** Anti-colon cancer components from lebanese sage (*Salvia libanotica*) essential oil: mechanistic basis. *Cancer Biol. Ther*, 7, 1765-1773p.

**Jakovljević M.R., Grujičić D., Vukajlović J.T., Marković A., Milutinović M., Stanković M., Vuković N., Vukić M., & Milošević-Djordjević O, 2020,** *In-vitro* study of genotoxic and cytotoxic activities of methanol extracts of *Artemisia vulgaris* L. and *Artemisia alba* Turra. *South African Journal of Botany* 132, 117-126p.

**Jirovetz L., Buchbauer G., Denkova Z., Stoyanova A., Murgov I., Gearon V., Birkbeck S., Schmidt E., Geissler M, 2006,** Comparative study on the antimicrobial activities of different sandalwood essential oils of various origin. *Flavour Fragrance J.*, 21, 465-468p.

**Joo J.H. et Jetten A.M, 2009,** Molecular mechanisms involved in farnesol-induced apoptosis. *Cancer Lett.*, 287, 123-135p.

**Joulain D., Koing W.A, 1998,** The Atlas of spectral data of sesquiterpenes hydrocarbons. Hamburg: EB-Verlag.

**Judzentiene A., Budiene J., Butkiene R., Kupcinskiene E., Laffont-Schwobc I., Masotti, V 2010,** Caryophyllene Oxide-rich Essential Oils of Lithuanian *Artemisia campestris* ssp. and Their Toxicity. *Nat Prod Commun* 5, 1981-1984p.

**Judzentiene A., et Budiene J, 2014,** Variability of *Artemisia campestris* L. essential from Lithuania. *J. Essent. Oil Res.*, 26 (5), 328-333p.

**Julien P, 2009,** Caractérisation des huiles essentielles par CPG/Ir, CPG/SM (IE et IC) et RMN du carbone-13 de *Cistus albidus* et de deux Asteraceae endémiques de Corse : *Eupatorium cannabinum* sub sp. *Corsicum* et *Doronicum corsicum*. Université de corse.

**Just M.J., Recio M.C., Giner R.M., Cuéllar M.U., Máñez S., Billia A.R., Ríos J.L, 1998,** Anti-inflammatory activity of unusual lupine saponins from *Bupleurum fruticosens*, *Planta Med*, 64(5), 404-407p.

**Juteau F., Masotti V., Bessière J.M., Viano J, 2002**, Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 30(11), 1065-1070p.

**Kalemba D., et Kunicka A, 2003**, Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.*, 10, 813-829p.

**Kalus U., Grigorov A., Kadecki O., Jansen J.P., Kiesewetter H., Radtke H, 2009**, *Cistus incanus* (CYSTUS052) for treating patients with infection of the upper respiratory tract. A prospective, randomised, placebo-controlled clinical study. *Antivir. Res.* 84, 267-271p.

**Kang S.M., Kim K.N., Lee S.H., Ahn G., Cha S.H., Kim A.D., and Jeon Y.J, 2011**, Anti-inflammatory activity of polysaccharide purified from AMG-assistant extract of *Ecklonia cava* in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Carbohydrate Polymers* 85(1), 80-85p.

**Karagözler A., Erdag B., Calmaz Emek Y, 2008**, Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. *Food Chemistry*, 111(2), 400-407p.

**Karpouhtsis I., Pardali E., Feggou E., Kokkini S., Scouras Z.G., Mavragani-Tsipidou P., 1998**, Insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. *J. Agri. Food Chem.*,46, 1111- 1115p.

**Kartal N., Sokmen M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., et Sokmen A, 2007**, Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L using a suitable extraction procedure. *Food Chemistry*, 100(2), 584-589.

**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, 83-86p.

**Kelen M., Tepe B, 2008**, Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*, 99(10), 4096-4104p.

**Khajeh M., Yamini Y., Bahramifar N., Sefidkon F., Pirmoradei M.R, 2005**, Comparison of essential oils compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydro-distillation methods. *Food Chemistry*, 91, 639-644p.

**Khebri S, 2011**, Chemical and biological study of essential oils from three *Artemisia*. Magister's thesis. Hadj Lakhdar Batna University, Algeria 150p.

**Khenaka K, 2012**, Effet de diverse plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Thèse de Magistère, Université Mentouri Canstantine.19 :81p.

**Kidd B.L., Urban L.A, 2001**, Mechanisms of inflammatory pain. *British Journal of Anaesthesia*, 87(1), 3-11p.

**Kim H.P., Son K.H., Chang H.W., kong S.S, 2004**, Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanism. *J Pharmac. Sci* 96, 229-254p.

**Kim J., Marchali M.M.R., Vei C, 1995**, Antibacterial activity of some Essential oil components against five foodborne. *J. of Agriculturai and food chemistry*, 43, 239-2845p.

**Kim N.S., Lee D.S, 2002**, Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 98, 31-47p.

**Kloer D.P., Schulz G.E., 2006**, Structural and biological aspects of carotenoid cleavage. *Cell. Mol. Life Sci.*, 63, 2291-2303p.

**Ko S.G., Yin C.S., Du B., Kim K.H, 2014**, Herbal medicines for inflammatory diseases. Hindawi Publishing Corporation, 108p.

**Kokate K.C, 1997**, Practical pharmacognosy, 4thed. Delhi : Vallabh Prakashan, 218p.

**Konan Kouadio F., Guessennd N.K., Karamoko O., Bahi C., Adama C., Dosso M, 2013**, Action antibactérienne de l'extrait éthanolique 70% de *Clerodendrum splendens* (G. Don) (Verbenaceae) sur des souches bactériennes isolées de selles chez des enfants diarrhéiques. *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 7(3), 1332-1337p

**König W.A., Joulain D., & Hochmuth D.H, 2001**, GC/MS Library: Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils.

**Konstantopoulou I., Vassilopoulou L., Mavragani-Tsipidou P., Scouras Z.G, 1992**, Insecticidal effects of essential oils. A study of the effects of essential oils extracted from eleven Greek aromatic plants on *Drosophila auraria*. *Experientia*, 48 (6), 616-619p.

**Koul O., SureshW et Daliwal G.S, 2008**, Essential oils as greens pesticides: Potentialand constraints. *Biopesticide International*, 4(1), 63-84p.

**Kreitschitz A., Vallès J, 2007**, Achene morphology and slime structure insome taxa of *Artemisia L.* and *Neopallasia L.* (Asteraceae). *Flora*.202, 570-580p.

**Kulyyasov A.T., Adekenov S.M, 2002**, Chemical composition and biological activity of the essential oil from *Artemisia glabella*. *Pharm. Chem. J.*, 36 (3), 135-138p.

**Kumar P.P., Kuttan G, 2009**, *Vernonia cinerea L.* scavenges free radicals and regulates nitric oxide and proinflammatory cytokines profile in carrageenan induced paw edema model. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 31(1), 94-102p.

**Kumar S., Bajwa B.S., Kuldeep S., Kalia A.N, 2013**, Anti-inflammatory activity of herbal plants: A review. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry*, 2(2), 272-281p.

**Kumar S.S.E.O, Haruhiro F., Masami I., Erdem Y, 2006**, Prostaglandin inhibitory and antioxidant components of *Cistus laurifolius* a Turkish medicinal plant. *Journal of Ethnopharmacology* 108, 371-378p.

**Kumar V., Abbas A., Fausto N, 2010**, Robbins and Cotran, pathologic basis of disease, 8<sup>th</sup> edition, Sauders, Philadelphia, 1464p.

**Kintziou H., et al., 2001**, Antimicrobial activity of essential oils from Greek plants: applications and therapeutic uses. *Rev. Clin. Pharmacol. Pharmacokinet. Int. Ed.* 15(1),15-20.

**Kobold U., Karl M, and Vostrowsky O, 1986**, The Composition of Terpene Hydrocarbons in the Essential Oils from Leaves of Four *Cistus* Species. *Z. Naturforsch*, 39, 699-704.

**Kordali S., Kotan R., Mavi A., Cakir A., Ala A., & Yildirim A, 2005**, Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(24), 9452-9458.

**Kupeli E., Yesilada E, 2007**, Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from *Cistus laurifolius* L. leaves through bioassay-guided procedures. *Journal of Ethnopharmacology* 112, 524-530.

**Lagunez Rivera L, 2006**, Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat, Université de Toulouse, France, 335p.

**Lahlou M, 2004**, Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother. Res.*, 18, 435-448p.

**Laïb I, 2011**, Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs. Mémoire de magister. Université Mentouri Constantine, Algérie. 122p.

**Laïb I., et Barkat M, 2011**, Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*. *Agriculture*, 6(2), 89-101p.

**Langenheim J.H, 1994**, Higher plant terpenoids: A phyto-centric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology*, 20(6), 1223-1280p.

**Langenheim J.H, 2003**, Plant Resins: Chemistry, Evolution, Ecology, and Ethnobotany, Timber Press, Portland, Cambridge.586p.

**Lanhers M.C., Fleurentin J., Rolland A., Vinche A, 1992**, Activité anti-inflammatoire d'un extrait de *Peumus boldus* Molina (Monimiaceae). *Phytotherapy*, 38-39, 12-13p.

**Laguerre Virginie, 2015**, Huiles essentielles et 1,8-cineole. Sciences pharmaceutiques. Thèse de doctorat. Université de Lorraine.

**Le Loir Y., Gantier M, 2009**, *Staphylococcus aureus*. Lavoisier, Paris, 300p.

**Lechat P., Calvo F., De Crémoux P., Giroud J.P., Lagier G., Lechat Ph., Rouveix B., Weber S, 1990**, Pharmacologie médicale, 5<sup>ème</sup> édition, Masson, Paris, 741p.

**Leclerc H., Gaillard J.L., Simonet M, 1995**, Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.

**Lee O.N., Ak G., Zengin G., Cziáky Z., Jek"o J., Rengasamy K.R.R., Park H.Y., Kim D.H., Sivanesan I, 2020**, Phytochemical composition, antioxidant capacity, and enzyme inhibitory activity in callus, somaclonal variant, and normal green shoot tissues of *Catharanthus roseus* (L) G. Don. *Molecules*, 25, 4945p.

**Lehotay S.J., and Hajslova J, 2002**, Application of gas chromatography in food analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 21, 686-697p.

**Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P., Prost M, 2001**, Stress oxydant et pathologies humaines : Bilan et perspectives préventives. *La Presse Médicale*, 30(21), 1076-1081p.

**Li Y.L., Yeung C.M., Chiu L.C.M., Cen Y-Z., Ooi V.E.C, 2009**, Chemical composition and antiproliferative activity of essential oil from the leaves of a medicinal herb, *Schefflera heptaphylla*. *Phytother. Res.*, 23, 140-142p.

**Lima E.D., Gompertz O.F., Paulo M.D., Giesbrecht A.M, 1992**, *In-vitro* antifungal activity of essential oils against clinical isolates of dermatophytes. *Rev. Microbiol.*, 23, 235-238p.

**Lipnick R.L., Cotruvo J.A., Hill R.N., Bruce R.D., Stitzel K.A., Walker A.P., Chu I. Goddard M., Segal L., Springer J.A., Myers R.C, 1995**, Comparison of the up-and-down, Conventional LD<sub>50</sub> and fixed dose acute toxicity procedures. *Fd. Chem. Toxicol*, 33(3), 223-231p.

**Lis A., Kowal M., 2015**, Constituents of the essential oils from different organs of *Artemisia campestris* L. subsp. *campestris*. *J. Essent. Oil Res*, 1-6p.

**Liu Y.F., Zhang, J.P., ZHANG B.L, 2004**, Effect of borneol on plasma catecholamines in rats. *Tianjin Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2.

**Livermore D.M, 1995**, Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol. Rev*, 8(4), 557-584p.

**Loram L.C., Fuller A., Fick L.G., Cartmell T., Poole S., Mitchell D, 2007**, Cytokine profiles during carrageenan-induced inflammatory hyperalgesia in rat muscle and hind paw. *Journal of Pain*, 8(2), 127-136p.

**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, 371-377p.

**Lu F., Foo L.Y, 2001**, Antioxidant activity of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*, 75(2), 197-202p.

**Lucchesi M.E, 2005**, Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat en Sciences, Université de la Réunion, France, 146p.

**Lucchesi M.E., Chemat F., Smadja J, 2004**, Solvent-free microwave extraction of essential oils from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *J. Chromatogr A*, 1043(2), 323-327p.

**Luis J.C., Valde' F., Marti'n R., Carmona A.J., Diaz J.G, 2006**, *Int. J. Mol. Med. Adv. Sci.* 1,411.

**Maarfia S., Zellagui A., Hakki Alma M., Göçeri A., Karaoğul E., Gherraf N, 2018**, Essential Oils of *Bellis Sylvestris*, *Asteriscus Maritimus* and *Artemisia Campestris* Stems Growing in Different Areas in Algeria. *World Journal of Environmental Biosciences*, 2277-8047p.

**Maataoui B.S., Hmyene A., Hilali S, 2006**, Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*, 7(1), 3-8p.

**Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J, 1997**, Brock Biology of Microorganisms. Prentice Hall International Editions.

**Mahadevan, 1982**, Biochemical aspects of plant disease resistance. Part I: Performed inhibitory substances. Today and Tomorrow Printers and Publisher. New Delhi, India. 425-431p.

**Mainardi J.L., Goldstein F.W., Gutmann L, 1996**, Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. Encyl Méd Chir. Maladies infectieuses (Elsevier, Paris), 8-006-N-10, 8p.

**Mallaret M.R et Olive F, 1996**, Surveillance épidémiologique des infections de cathéter à chambre implantable. *Med. Mal. Inf.* 26, 752-6p.

**Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E., & Kefalas P, 2005**, Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry* 89(3), 411-420.

**Marmonier A.A, 1990**, Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. Bactériologie Médicale, techniques usuelles. DOIN édition, Paris, France, 227-236p.

**Martins A.P., Salgueiro L., Vila R., Tomi F., Canäigueral S., Casanova J., Proença A., Da Cunha., Azdet T, 1998**, Essential oils from four Piper species. *Phytochemistry*, 49, 2019-2023p.

**Massei G., Watkins R. and Hartley Susan E, 2006**, Sex-related growth and secondary compounds in *Juniperus oxycedrus* macrocarpa. *Elsevier, Acta oecologica* 29, 135-140.

**Mc Nair H.M., Miller J.M, 1997**, Basic gas chromatography- Techniques in analytical chemistry. A Wiley Interscience Publication, John Wiley & Sons, INC, 204p.

**McDevitt J.T., Schneider D.M., Katiyar S.K., Edlind T.D, 1996**, In: Program and Abstracts of the 36 the Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology, Washington, DC (Abstract 175).

**Medila I., Toumi I., Ferhat I., and Mehaych R, 2017**, Biological Evaluation of Anti-Inflammatory Activity of *Artemisia campestris* L. and *Spitzelia coronopifolia* Desf Ethanolic Leaves Extract. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 9(7),1-4.

**Mensor L.L., Menezes F.S., Leitão G.G., Reis A.S., dos Santos T.C., Coube C.S., Leitão S.G, 2001**, Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother Res*, 15(2), 127-130p

**Meunier A., Braz J., Cesselin F., Hamon M., Pohl M, 2004**, Inflammation et douleur : Thérapie génique expérimentale. *Médecine/Sciences*, 20, 325-330p.

**Mighri H., Hajlaoui H., Akrouf A., Najjaa H., Neffati M, 2010**, Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Chimie*,13, 380-386p.

**Miguel M.G, 2010**, Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. *Molecules*, 15, 9252-9287p.

**Miguel M.G., Costa L.A., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L. G, 2007**, Assessment of the antioxidant ability of *Thymus albicans*, *Th. Mastichina*, *Th. Camphoratus* and *Th. Carnosus* essential oils by TBARS and micellar model systems. *Natural Product Communications*, 2, 399-406p.

**Mikus J., Harkenthal M., Steverding D., and Reichling J, 2000**, *In-vitro* effect of essential oils and isolated mono- and sesquiterpenes on *Leishmania major* and *Trypanosoma brucei*. *Planta Med*, 66, 366-368.

**Milenkovića M., Stošovića J & Slavkovskab V, 2018**, Synergy between Essential Oils of Calamintha Species (Lamiaceae) and Antibiotics. *Natural Product Communications* 371-374.

**Mirjalili M.H., Tabatabaei S.M.F., Hadian J., Nejad S.E., Sonboli A, 2007**, Phenological Variation of the essential oil of *Artemisia scoparia* from Iran. *J. Essent. Oil Res.*19, 326-329p.

**Mizanur-Rahman M., Sultana T., Yousuf-Ali M., Masidur-Rahman M., Al-Reza S.M., Rahman A, 2013**, Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and various extracts from *Cassia sophera* L against *Bacillus sp.* from soil. *Arab. J.Chem.* 10, 2131-2137.

**Molyneux P, 2004**, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science and Technology*, 26(2), 211-219p.

**Molyneux R.J., Nash R.J., Asano N, 1996**, The chemistry and biological activity of calystegines and related nortropane alkaloids. In: Alkaloids: Chemical and biological perspectives, (edited by S.W Pelletier), Pergamon, Oxford, 11, 303-343p.

**Monzote L., Montalvo A.M., Scull R., Miranda M., Abreu J, 2007**, Activity, toxicity and analysis of resistance of essential oil from *Chenopodium ambrosioides* after intraperitoneal, oral and intralesional administration in BALB/c mice infected with *Leishmania amazonensis*: A preliminary study. *Biomed. Pharmacother.*, 61,148-153p.

**Morcia C., Malnati M., Terzi V, 2012**, In vitro antifungal activity of terpine-4-ol, eugenol, carvone, 1,8-cineole (eucalyptol) and thymol against mycotoxigenic plant pathogens. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.*29(3):415-22.

**Moro Buronzo A, 2008**, Grand guide des huiles essentielles. Hachette Pratique, 244p.

**Morrissey J.P., Osbourn A.E, 1999**, Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. *Microbiological and Molecular Biological Reviews*, 63(3), 708-724p.

**Morshedloo M.R., Quassinti L., Bramucci M., Lupidi G., Maggi F, 2017**, Chemical composition, antioxidant activity and cytotoxicity on tumor cells of the essential oil from flowers of *Magnolia grandiflora* cultivated in Iran. *Nat. Prod. Res.*,31(24), 2857-2864p.

**Mourey A., et Canillac N, 2002**, Anti-*Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers. *Food Control*,13, 289-292p.

**Moussaoui F., Alaoui T, 2016**, Evaluation of antibacterial activity and synergistic effect between antibiotic and the essential oils of some medicinal plants. *Asian Pac J Trop Biomed* 6(1), 32-37p.

**Mucciarelli M., Caramiello R., Maffei M., Chialva F, 1995**, Essential Oils from Some *Artemisia* Species Growing Spontaneously in North-West Italy. *Flavour Fragr J.*,10, 25-32.

**Mujumdar A.M & Misar A.V, 2004**, Anti-inflammatory activity of *Jatropha curcas* roots in mice and rats. *J Ethnopharmacol* 90, 11-15p.

**Muzaffer Ö, Sermin S, 2004**, Composition of the Essential Oil of *Cistus laurifolius* L. from Turkey. *J. Essent. Oil Res.*, 16, 24-25.

**Metoui R., Bouajila J., Znati M., Cazaux S., Neffati M., Akrouit A, 2017**, Bioactive flavones isolated from Tunisian *Artemisia campestris* Leaves. *Cellular and Molecular Biology*.

**Naganuma M., Hirose S., Nakayama Y., Nakajima K., Someya T, 1985**, A study of the phototoxicity of lemon oil. *Arch. Dermatol. Res.*, 278, 31-36p.

**Nantel F., Denis D., Gordon R., Northey A., Cirino M., Metters K.M., Chan C.C, 1999**, Distribution and regulation of cyclooxygenase-2 in carrageenan-induced inflammation. *British Journal of Pharmacology*, 128(4), 853-859.

**NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), 1997**, Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard M2-A7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, USA.

**Neffati A., Skandrani I., Ben Sghaier M., Bouhlel I., Kilani S., Ghedira K., Neffati M., Neffati A., Skandrani I., Sghaier, M.B., Bouhlel I., Kilani S., Ghedira K., Neffati M., Cherif I., Hammami M., Chekir-Ghedira L, 2008**, Chemical composition, mutagenic and antimutagenic activities of essential oils from (Tunisian) *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba*. *J. Essent. Oil. Res.*, 20(5), 471-477p.

**Newman D.J., Cragg G.M., Snader K.M., 2003**, Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981-2002. *J. Nat. Prod* 66, 1022-1037p.

**Nikaido H., Vaara M., 1985**, Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiol Rev*, 49(1), 1-32p.

**Nilufer O., Mustafa A., Murat S., Didem D.O., 2013**, *In-vivo* and *in vitro* antidiabetic effect of *Cistus laurifolius* L. and detection of major phenolic compounds by UPLC-TOF-MS analysis. *Journal of Ethnopharmacology* 146, 859-865p.

**Normak H.B., Normak S., 2002**, Evolution and spread of antibiotic resistance. *J. Intern. Med*, 252(2), 91-106p.

**Novák J., Konvička M., 2006**, Proximity of valuable habitats affects succession patterns in abandoned quarries. *Ecol. Eng.*, 26, 113-122p.

**Novelli G.P., 1997**, Role of free radicals in septic shock. *J. Physiol. Pharmacol*, 48, 517-527p.

**Nunez-Olivera E., Martinez-Abaigar J., et Escudero J.C., 1996**, Adaptability of leaves of *Cistus ladanifer* to widely varying environmental conditions. *Functional ecology*, 636-646p.

**Nussler A.K., Billiar T.R., 1993**, Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide. 44, 307-315p.

**Nyarko A.A., Addy M.E., 1990**, Effects of aqueous extract of *Adenia cissampeloides* on blood pressure and serum analyse of hypertensive patients. *Phytotherapy Research*, 4(1), 25-28p.

**Naili M.B., Alghazeer R.O., Saleh N.A and Al-Najjar A.Y., 2010**, Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arabian Journal of Chemistry*, 3, 79-84.

**Neffati A., Skandrani I., Ben Sghaier M., Bouhlel I., Kilani S., Ghedira K., Neffati M., Chraief I., Hammami M & Chekir-Ghedira L., (2011)**, Chemical Composition, Mutagenic and Antimutagenic Activities of Essential Oils from (Tunisian) *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba*.

**Noui H.D., Sarri M.S., Mounir S., Faiza Boussakra., Driche O., 2021**, Screening for *in vitro* antioxidant activity and antifungal effect of *Artemisia campestris*. *Int J Agric Environ Food Sci* 5 (3), 251-259.

**O’Gara E., Hill D., Maslin D., 2000**, Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2269-2273p.

**OECD (Organization for Economic Co-operation and Development), (2001a)**, Test n°423: Acute oral toxicity-Acute toxic class method. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.

**OECD (Organization for Economic Co-operation and Development), (2001b)**, Guidance document on acute oral toxicity testing. Environment, health and safety publications. Series on testing and assessment n°24, Paris.

**Olajide O.A., Makinde M.J., Awe S.O, 1999**, Effects of the aqueous extract of *Bridelia ferruginea* stem bark on carrageenan-induced edema and granuloma tissue formation in rats and mice. *J Ethnopharmacol* 66(1), 113-117p.

**Olajuyigbe O., Afolayan A.J, 2012**, Synergistic interactions of methanolic extract of *Acacia mearnsii* De Wild. with antibiotics against bacteria of clinical relevance. *Int J Mol Sci* 13, 8915-32.

**Oliva d.l.M., Beltramino E., Gallucci N., Casero C., Zygadlo J., Demo M, 2010**, Antimicrobial activity of essential oils of *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton from different regions of Argentina. *Boletin Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales* 9, 29-37p.

**Olivero-Verbel J., Gonzalez-Cervera T., Guette-Fernandez J., Jaramillo-Colorado B., Stashenko E, 2010**, Chemical composition and antioxidant activity of essential oils isolated from Colombian plants. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 20(4), 568-574p.

**Olle M., Bender I, 2010**, The content of oils in Umbelliferous crops and its formation. *Agronomy Research*, 8(3), 687-696p.

**OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 2013**, Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. ISBN 978 92 4 250609 9, Genève, Suisse, 72p.

**Ouafae B., Ben Akka F., Salhi S., Mohamed F., Allal D., et Lahcen Zidane, 2014**, Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans la région d'Al Haouz-Rhamna (Maroc). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 23, 3539-3568p.

**Ouguirti N, 2022**, Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles et/ou des extraits d'*Artemisia herba-alba* et de *Capparis spinosa* de la région de Béchar. Université abdelhamid ibn badis – mostaganem.186.

**Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M, 2006**, Antimicrobial activity of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *MeatScience*, 73, 236-244p.

**Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M, 2007**, Inhibitory effect of selected plant essential oil on the growth of four pathogenic bacteria. *Food Control*, 18, (4) 14-42p.

**Oussou K.R., Kanko C., Guessennd K.N., Yolou S., Koukoua G., Dosso M., N'guessan Y.T., Figueredo G., Chalchat J.C, 2004**, Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes de Côte d'Ivoire. *C. R. Chimie*, 7(10-11), 1087-1086p.

**Oyaizu, M, 1986**, Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315p.

**Ozcan T., Akpinar-Bayizit A., Yilmaz-Ersan L., & Delikanli B, 2014**, Phenolics in human health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications* 5(5), 393-396p.

**Pan Y., Wang K., Huang S., Wang H., Mu X., He C., Ji X., Zhang J., Huang F, 2008,** Antioxidant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel. *Food Chemistry*, 106(3), 1264-1270p.

**Panthong A., Kanjanapothi D., Taesotikul T., Phankummoon A., Panthong K., Reutrakul V, 2004,** Anti-inflammatory activity of methanolic extracts from *Ventilago harmandiana* Pierre. *J Ethnopharmacol*, 91, 237-242p.

**Papazian L., Bregon F, 1990,** Pneumopathies nosocomiales. *Ency. Med. Chir, Anesthesie-Réa*, 36984A16, p1-8p.

**Paris M., et Hurabielle M, 1981,** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson 339 p.

**Park K.K., Chun K.S., Lee J.M., Lee S.S., Surh Y.J, 1998,** Inhibitory effects of [6]-gingerol, a major pungent principle of ginger, on phorbol ester-induced inflammation, epidermal ornithine decarboxylase activity and skin tumor promotion in ICR mice. *Cancer Lett.*, 129, 139-144p.

**Paschapur S.M., Patil M.B., Kumar R., Sachin R.P, 2009,** Evaluation of aqueous extract of leaves of *Ocimum kilimandscharicum* on wound healing activity in albino wistar rats. *Int. J. Pharm. Tech. Res*, 1(3), 544-550p.

**Pedroso R.B., Ueda-Nakamura T., Dias Filho B.P., Cortez A.G., Cortez L.E.R., Morgado-Díaz J.A., Nakamura C.V, 2006,** Biological activities of essential oil obtained from *Cymbopogon citratus* on *Crithidia deanei*. *Acta Protozool*, 45, 231-240p.

**Pei R.S., Zhou F., Ji B.P., & Xu J, 2009,** Evaluation of combined antibacterial effects of eugenol, cinnamaldehyde, thymol, and carvacrol against *E. coli* with an improved method. *Journal of Food Science*, 74(7), M379-383.

**Pérez-Jiménez J., Arranz S., Tabernero M., Diaz-Rubio M.E., Serrano J., Goñi I., Saura-Calixto F, 2008,** Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41(3), 274-285p.

**Perveen K., Bokhari N.A., et Dina Soliman A.W., 2012,** Antibacterial activity of *Phoenix dactylifera* L. leaf and pit extracts against selected Gram negative and Gram-positive pathogenic bacteria. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(2), 296-300p.

**Piochon M, 2008,** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Mémoire. Université du Québec à Chicoutimi. Canada, 200p.

**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), 121-169p.

**Plummer J.A., Wann J.M., Considine J.A., Spadek Z.E., 1996,** Selection of *Boronia* for essential oils and cut flowers. In: *Progress in New Crops* (Ed. Janick J.) ASHS Press, Arlington, VA, USA, 602-609p.

**Ponce A.G., Fritz R., Del Valle C.E., Roura S.I, 2003**, Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie-LWT*, 36, 679-684p.

**Popi, 1999**, Maladies infectieuses. Paris. APPIT, 159-169p.

**Popi, 2003**, Maladies infectieuses. Paris. CMIT, 185-224p.

**Posadas L., Bucci M., Roviezzo F., Rossi A., Parente L., Sautebin L., Cirino G, 2004**, Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. *British Journal of Pharmacology* 142(2), 331-338p.

**Pourmortazavi S.M., Hajimirsadeghi S.S, 2007**, Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *J. Chromatogr A*, 1163(1-2), 2-24p.

**Pourrut B, 2008**, Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse de doctorat, Toulouse, France.

**Pradeau D., & Cohen Y, 1992**, L'analyse pratique du médicament, Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 418-428p.

**Prescott L., Harley J.P., Klein D.A, 2002**, Microbiologie. De Boeck ed, 1014p.

**Preuss H.G., Echard B., Enig M., Brook I., Elliott T.B, 2005**, Minimum inhibitory concentrations of herbal essential oils and monolaurin for gram-positive and gram-negative bacteria. *Mol. Cell. Biochem.*, 272, 29-34p.

**Prior R.L., Wu X., Schaich K, 2005**, Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food. Chem*, 53(10), 4290-4302p.

**Proust B, 2006**, Petite géométrie des parfums, Edition du Seuil, Paris, 126p.

**Pudziuelyte L., Stankevicius M., Maruska A., Petrikaite V., Ragazinskiene O., Draksiene G., Bernatoniene J, 2017**, Chemical composition and anticancer activity of *Elsholtzia ciliate* essential oils and extracts prepared by different methods. *Ind. Crops Prod*, 107, 90-96p.

**Quezel P. et Santa S, 1963**, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. Tome. II Ed. CNRS. Paris.

**Quezel P. et Santa S, 1962**, Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, Tome I.565 p.

**R., Ghedira K., Barillier D., Chekir-Ghedira L, 2008**, Comparative study of *Cyperus rotundus* essential oil by a modified GC-MS analysis method. Evaluation of its antioxidant, cytotoxic, and apoptotic effects. *Chem. Biodivers*, 5, 729-742p.

**Rahman A., Shanta Z.S., Rashid M.A., Parvin T., Afrin S., Khatun M.K., Sattar M.A., 2016,** *In-vitro* antibacterial properties of essential oil and organic extracts of *Premna integrifolia* Linn. *Arab. J. Chem.*, 9, 475-479p.

**Rahman A., Shanta Z.S., Rashid M.A., Parvin T., Afrin S., Khatun M.K., Sattar M.A., 2011,** *In-vitro* antibacterial properties of essential oil and organic extracts of *Premna integrifolia* Linn. *Arab. J. Chem*, 9, 475-479.

**Razafindrakoto B. S, 1988,** Huiles essentielles d'Eucalyptus de Madagascar ; Variabilité de la composition et du rendement en fonction de la période de récolte ; essais de classement chemotaxonomique et propriétés pharmacodynamiques. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, France, 225p.

**Reanmongkol W., Noppapan T., Subhadhirasakul S, 2009,** Antinociceptive, antipyretic, and anti-inflammatory activities of *Putranjiva roxburghii* Wall. leaf extract in experimental animals. *Journal of natural medicines* 63(3), 290-296p.

**Rebbas K., et Bounar R, 2014,** Études floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la région de M'sila (Algérie). *Phytothérapie* 12, 284-291p.

**Renata N.W, 2013,** Does mineral fertilization modify essential oil content and chemical composition in medicinal plants. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus* 12(5), 3-16p.

**Rhayour K, 2002,** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. *Thèse de doctorat*. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 170p.

**Richard H, 1992,** Epices et aromates. Edition Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 339p.

**Rios J.L., Recio M.C., Villar A, 1988,** Screening methods for natural antimicrobial products with antimicrobial activity: a review of the literature. *J. Ethnopharmacol.*, 23, 127-149p.

**Roberts C.K., Sindhu K.K, 2009,** Oxidative stress and letabolic syndrome. *Life Sciences*, 84(21-22),705-712p.

**Robles C., et Carzino S, 2000,** Intraspecific variability in the essential oil composition of *Cistus monspeliensis* leaves. *Phytochemistry* 53, 71-75p.

**Rodríguez-Bustamante E. et Sánchez S, 2007,** Microbial production of C13-norisoprenoids and other aroma compounds via carotenoid cleavage. *Crit. Rev. Microbiol*, 33, 211-230p.

**Roohinejad S., Koubaa M., Barba F.J., Leong S.Y., Khelfa A., Greiner R., Chemat F, 2018,** Extraction Methods of Essential Oils From Herbs and Spices. In: *Essential Oils in Food Processing: Chemistry, Safety and Applications*. (Eds., Bagher HashemiS- M., Khaneghah A-M., Sant'Ana A. D. S. John Wiley & Sons Ltd. 21-55p.

**Rosato A., Piarulli M., Corbo F., Muraglia M., Carone A., Vitali M.E., Vitali C, 2010,** *In-vitro* synergistic antibacterial action of certain combinations of gentamicin and essential oils. *Current Medicinal Chemistry* 17, 3289-3295p.

**Rosenthal V.D., Bijie H., Maki D.G., Mehta Y., Apisarnthanarak A., Medeiros E.A., 2012**, International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 36 countries, for 2004-2009. *Am. J. Infect. Control.* 40(5), 396-407p.

**Rote N.S.V., 1998**, Inflammation. In: Pathophysiology (edited by K.L McCance., S.E Huether), 3<sup>rd</sup> edition, Mosby, St. Louis, 205-236p.

**Roux D. et Catier O., 2007**, Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3<sup>ème</sup> édition, WoltersKluwer, 141p.

**Rauwald H.W., et al., 2010**, Growth inhibiting activity of volatile oil from *Cistus creticus* L. against *Borrelia burgdorferi* in vitro. *Pharmazie* 65 (4), 290-295.

**S.G., 2001**, Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother Res*, 15(2), 127-130p.

**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, 257-268p.

**Safaei-Ghomi J., Ebrahimabadi A.H., Djafari-Bidgoli Z., Batooli H., 2009**, GC/MS analysis and *in-vitro* antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas and its main constituent carvacrol. *Food Chem*, 115(4), 1524-1528p.

**Salido S., Valenzuela L.R., Altarejos J., Noguerras M., Sánchez A., Cano E., 2004**, Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32, 265-277p.

**Sangwan N.S., Farooqi A.H.A., Shabih F., Sangwan R.S., 2001**, Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regul*, 34, 3-21p.

**Santoyo S., Cavero S., Jaime L., Ibanez E., Senorans J., Reglero G., 2006**, Supercritical carbon dioxide extraction of compounds with antimicrobial activity from *Origanum vulgare* L. Determination of optimal extraction parameters. *J. Food Prot.*, 69, 369-375.

**Sariburun E., Şahin S., Demir C., Türkben C., Uylaşer V., 2010**, Phenolic content and antioxidant activity of raspberry and blackberry cultivars. *J. Food Sci*, 75(4), 328-335p.

**Sawatzky D.A., Megson I.L., Rossi A.G., 2005**, Sildenafil offers protection against NSAID-induced gastric injury. *The British Journal of Pharmacology*, 146(4), 447-478p.

**Saxena M., Saxena J., Nema R., Singh D., Gupta A., 2013**, Phytochemistry of medicinal plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(6), 168-182p.

**Sayyah M., Saroukhani G., Peirovi A., Kamalinejad M., 2003**, Analgesic and anti-inflammatory activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* Linn. *Phytotherapy Research* 17, 733-736p.

**Sbayou H., Ababou B., Boukachabine K., Manresa A., Zerouali K., Amghar S., 2014**, Chemical composition and antibacterial activity of *Artemisia herba-alba* and *Mentha pulegium* essential oils. *J. Life Sci.*, 8 (1), 35-41p.

**Schlede E., Mischke U., Diener W., Kayser D, 1995**, The international validation study of the acute-toxic-class method (oral). *Arch. Toxicol*, 69(10), 659-670p.

**Schlede E., Mischke U., Roll R., Kayser D, 1992**, A national validation study of the acutetoxic-class method- An alternative to the LD50 test. *Arch Toxicol*, 66(7), 455-470p.

**Schlesier K., Harwat M., Böhm V., Bitsch R, 2002**, Assessment of antioxidant activity by using different *in-vitro* methods. *Free Rad. Res*, 36(2), 177-187p.

**Schmid-Scheonbein G.W, 2006**, Analysis of inflammation. *Ann. Rev. Biomed. Eng.*, 8, 93-151p.

**Sefi M., Fetoui H., Makni M., Zeghal N, 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), 1986-93p.

**Sefidkon F., Jalili A., Mirhaji T, 2001**, Essential oil composition of three *Artemisia* spp. from Iran. *Flavour Fragr. J*, 17(2), 150-152p.

**Seidakhmetova R.B., Beisenbaeva A.A., Atazhanova G.A., Suleimenov E.M., Pak R.N.,**

**Selmi S., Rtibi K., Grami D., Hajri A., Hosni K., Marzouki L., Sebai H, 2016**, Antioxidant properties of *Artemisia herba-alba* and *Eucalyptus camaldulensis* essentials oils on malathion-induced reproductive damage in rat. *RSC Adv.*, 6, 110661-110673p.

**Senatore F, 1996**, Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). *J. Agric. Food. Chem*, 44, 1327-1332p.

**Serhan C.N., Ward P.A., Gilroy D.W, 2010**, Fundamentals of inflammation. Cambridge University Press, New York, 473p.

**Sezik E., Yeşilada E., Honda G., Takaishi Y., Takeda Y., Tanaka T, 2001**, Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia. *J Ethnopharmacol*. 75, 95-115p.

**Sezik E., Yeşilada E., Tabata M., Honda G., Takaishi Y., Fujita T, 1997**, Traditional medicine in Turkey VIII. Folk medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Ağrı, Kars, Iğdır provinces. *Econ Bot*. 51, 195-211p.

**Shaaban H.A.E., El-Ghorab A.H., Shibamotoand T, 2012**, Bioactivity of essential oils and their volatile aroma components: Review. *J. Ess. Oil Res.*, 24(2), 203-212p.

**Sies H, 1991**, Oxidative stress: Introduction. In: Oxidative stress: oxidants and antioxidants (Edited by H. Sies), pp XV-XXII. Academic Press Ltd, London.

**Silva S.L., Chaar J.S., Figueiredo P.M.S., Yano T, 2008**, Cytotoxic evaluation of essential oil from *Casearia sylvestris* Sw on human cancer cells and erythrocytes. *Acta Amazon.*, 38, 107-112p.

**Silva S.L., Figueiredo P.M., Yano T, 2007**, Cytotoxic evaluation of essential oil from *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. leaves. *Acta Amazon.*, 37, 281-286p.

**Silvestre DJA., A.M.S S., Almeida L., C.C.L Pereira et JAS C, 1999**, L'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L. ssp. *Maritime*. Acta Hort, Deuxième Congrès sur les plantes médicinales et aromatiques pour le bien-être de l'homme, 1997, 500, 93-96.

**Singh H.P., Kaur S., Mittal S., Batish D.R. & Kohli R.K, 2010**, *In-vitro* screening of essential oil from young and mature leaves of *Artemisia scoparia* compared to its major constituents for free radical scavenging activity. *Food Chem. Toxicol.* 48, 1040-1044p.

**Singh S.B., Barrett J.F, 2006**, Empirical antibacterial drug discovery-foundation in natural products. *Biochemical pharmacology* 71, 1006-1015p.

**Sizer F., Whitney E, 2013**, Nutrition: Concepts and controversies. 13<sup>th</sup> edition, Cengage Learning, Ohio, USA, 848p.

**Skandamis P.N., Nychas G.J.E, 2001**, Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of Applied Microbiology*, 91(6), 1011-1022p.

**Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A, 2003**, Principes d'analyse instrumentale, 1ere édition, De Boeck, 945p.

**Slifman N.R., Obermeyer W.R., Aloï B.K., Musser S.M., Correll W.A.J., Clichowicz S.M., Betz J.M., Love L.A, 1998**, Contamination of botanical dietary supplements by *Digitalis lanata*. *N Engl J Med*, 339(12), 806-811p.

**Smallfield B, 2001**, Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crop & Food Research. Number 45,4p.

**Smith C.K., Moore C.A., Alahi E.N., Smart A.T., Hotchkiss S.A., 2000**, Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 168,189-99p.

**Snoussi S.A., Djazouli Z.E., Aroun M.E.F., Sahli Z, 2003**, Les plantes maraichères, industrielles, condimentaires, aromatiques, médicinales et ornementales. Annexes sur La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie MATE-GEF/PNUD : Projet ALG/97/G31.

**Sofowora A, 1993**, Medicinal plants and traditional medicine in Africa. Spectrum Books, Ibadan, 150p.

**Sökmen M., Serkedjieva J., Daferera D., Gulluce M., Polissiou M., Tepe B., Sökmen A., 2004**, *In-vitro* Antioxidant, Antimicrobial, and Antiviral Activities of the Essential Oil and Various Extracts from Herbal Parts and Callus Cultures of *Origanum acutidens*. *J. Agric. Food Chem.*, 52(11), 3309-3312p.

**Soković M., Marin P.D., Brkić D., Van Griensven L.J.L.D, 2007**, Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of Ten Aromatic Plants against Human Pathogenic Bacteria. *Food*, 1(1), 1-7p.

**Soltani E., Cerezuela R., Charef N., Mezaache-Aichour S., Esteban M.A., et Zerroug M.M, 2017**, Algerian propolis extracts: Chemical composition, bactericidal activity and *in vitro* effects on gilthead seabream innate immune responses. *Fish & Shellfish Immunology*, 62, 57-67p.

**Somboro A.A., Patel K., Diallo D., Sidibe L., Chalchat J.C., Figueredo G., Ducki S., Troin Y., Chalard P, 2011**, An ethnobotanical and phytochemical study of the African medicinal plant *Guiera senegalensis* J.F. Gmel. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(9), 1639-1651p.

**Stefanini M.B., Ming L.C., Marques M.O.M., Meireles M.A.A., Moura L.S., Marchese J.A, 2006**, Seed productivity, yield and composition of the essential oil of fennel *Foeniculum*. Stress oxydant et pathologies humaines : Bilan et perspectives préventives. *La Presse Médicale*, 30(21), 1076-1081p.

**Sudano Roccaro A., Rita Blanco A., Giuliano F., Rusciano D., et Enea V, 2004**, Epigallocatechin-Gallate enhances the activity of Tetracycline in Staphylococci by inhibiting its efflux from bacterial cells. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 48(6), 1968-1973p.

**Svoboda K.P., Deans S.G, 1995**, Biological activities of essential oil from selected aromatic plants. *Acta E-forcicuft* 390, 203-20p.

**Svoboda K.P., Hampson, J.B, 1999**, Bioactivity of essential oils of selected. Temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant biology department. SAC auchincruive. Ayr. Scotiand, UK. 56, KA 65 HW.

**Sylvestre M., Pichette A., Lavoie S., Longtin A., Legault J, 2007**, Composition and cytotoxic activity of the leaf essential oil of *Comptonia peregrina* (L.) Coulter. *Phytother. Res*, 21, 536-540p.

**Széles L., Töröcsik D., and Nagy L, 2007**, PPAR  $\gamma$  in immunity and inflammation: cell types and diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Mol. Cell Biol. Lipids* 1771(8), 1014-1030p.

**Sadhu S.K., Okuyama E., Fujimoto H., Ishibashi M., Yesilada E, 2006**, Prostaglandin inhibitory and antioxidant components of *Cistus laurifolius*, a Turkish medicinal plant. *Journal of Ethnopharmacology*, 108, 371-378.

**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 Advances* 4, 49831-49841.

**Sikkema J., de Bont J.A., & Poolman B, 1995**, Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews*, 59(2), 201-222.

**Tabanca N., Ma G., Pasco D.S., Bedir E., Kirimer N., K. Can Baser H., Khan I. A., Khan S. I, 2007**, Effect of essential oils and isolated compounds from *Pimpinella* species on NF-kB: a target for anti-inflammatory therapy. *Phytother. Res.*, 21, 741-745p.

**Takechi M., Matsunami S., Nishizawa J., Uno C., Tanaka Y, 1999**, Haemolytic and antifungal activities of saponins or anti-ATPase and antiviral activities of cardiac glycosides. *Planta Medica*, 65(6), 585-586p.

**Talavera S., Gibbs P.E., et Herrera J, 1993**, Reproductive biology of *Cistus ladanifer* (cistaceae). *Plant systematic and evolution*, 186, 123-134p.

**Tanas S., Odabasoglu F., Halici Z., Cakir A., Aygun H., Aslan A., & Suleyman H, 2010**, Evaluation of anti-inflammatory and antioxidant activities of *Peltigera rufescens* lichen species in acute and chronic inflammation models. *Journal of natural medicines* 64(1), 42-49p.

**Tang H.Q., Hu J., Yang L., Tan R.X, 2000**, Terpenoids and flavonoids from *Artemisia* species. *Planta Med.*, 66, 391-393p.

**Tasseau F., et baron D, 1989**, Infections nosocomiales. In: BRUKER Get FASSIN D, eds. Santé publique. Paris: Ellipses, 478-79p.

**Tatman D., et Mo H, 2002**, Volatile isoprenoid constituents of fruits, vegetables and herbs cumulatively suppress the proliferation of murine B16 melanoma and human HL-60 leukemia cells. *Cancer Lett.*, 175,129-140p.

**Tchoumboungang F., Zollo P.H.A., Dagne E., Mekonnen Y, 2005**, *In-vivo* antimalarial activity of essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Ocimum gratissimum* on mice infected with *Plasmodium berghei*. *Planta Med.*, 71, 20-23p.

**Thanos C.A., Georghiou K, 1988**, Ecophysiology of fire-stimulated seed germination in *Cistus incanus* ssp. *Criticus* (L.) Heywood and *C. salvifolius* L. *Plant Cell Environ.* 11, 841-849p.

**Theis N., et Lerchau M, 2003**, The evolution of function in plant secondary metabolites. *Int. J. Plant Sci.*, 164, 93-102p.

**Tomás-Menor L., Morales-Soto A., Barrajon-Catalán E., Roldán-Segura C., Segura-Carretero A., Micol V, 2013**, Correlation between the antibacterial activity and the composition of extracts derived from various Spanish *Cistus* species. *Food Chem. Toxicol.*, 55, 313-322p.

**Tomi F., Bradesi P., Bighelli A., Casanova J, 1995**, Computer-aided identification on individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy. *J Magn Reson Anal*, 1, 25-34p.

**Topçu G., Gören A.C., Bilsel G., Bilsel M., Çakmak O., Schilling J., Kingston D.G. I, 2005**, Cytotoxic activity and essential oil composition of leaves and berries of *Juniperus excelsa*. *Pharm. Biol.*, 43, 125-128p.

**Touil S, benrebiha FZ and Hadj Sadok T, 2017**, Influence of seasonal variation on chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of field wormwood *artemisia campestris*. *Revue Agrobiologia*, 7(2), 502-511p.

**Traoré A., Bonini M., Dano S.D., Creppy E.E, 1999**, Synergistic effects of some metals contaminating mussels on the cytotoxicity of the marine toxin okadaic acid. *Arch. Toxicol*, 73(6), 289-295p.

**Traore F., Faure R., Ollivier E., Gasquet M., Azas N., Debrauwer L., Keita A., Timon David P., Balansard G, 2000**, Structure and antiprotozoal activity of triterpenoid saponins from *Glinus oppositifolius*. *Planta Medica*, 66(4), 368-371p.

**Traoré M.C., 2006**, Étude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au Mali. Thèse de doctorat. Université de Bamako, Mali, 175p.

**Trease G.E., Evans W.C, 2002**, Pharmacognosy, 15th edition, Saunders Publishers, London, 584p.

**Trombetta D., Castelli F., Sarpietro M.G., Venuti V., Cristani M., Daniele C., Saija A., Mazzanti G., Bisignano G, 2005**, Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrob Agents Chemother*, 49(6), 2474-2478p.

**Twidwell E.K., Wagner J.J., Thiex N.J, 2002**, Use a microwave oven to determine moisture content of forages. A Service of SDSU Extension (Extra n°8077), SDSU, USDA.

**Ueda-Nakamura T., Mendonça-Filho R.R., Morgado-Díaz J.A., Korehisa Maza P., Prado Dias Filho B., Aparício Garcia Cortez D., Nakamura C.V, 2006**, Antileishmanial activity of Eugenol-rich essential oil from *Ocimum gratissimum*. *Parasitol. Int.*, 55(2), 99-105p.

**Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelaar R, 2002**, The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol* 68(4), 1561-1568p.

**Uribe S., Ramirez J., Peña A, 1985**, Effects of beta-pinene on yeast membrane functions. *J Bacteriol*, 161(3), 1195-1200p.

**Ustun O., BO, Baykal T, 2016**, Bioactivities of ethanolic extract and its fractions of *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) and *Salvia wiedemannii* Boiss. (Lamiaceae) species. *Phcog Mag.*;12: S82-S5.

**Van Den Dool H., Dec Kratz P, 1963**, A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A*, 11, 463-471p.

**Vanida C., Somporn P., Wiratda W, 2005**, *J. Sci. Technol.* 27, 813-818p.

**Vasudevan M., Gunnam K.K., Parle M, 2006**, Antinociceptive and anti-inflammatory properties of *Daucus carota* seeds extract. *Journal of Health Science* 52(5), 598-606p.

**Vazquez B., Avila G., Segura D., Escalante B, 1996**, Anti-inflammatory activity of extracts from *aloe vera* gel. *J. Ethnopharmacol.*, 55, 69-75p.

**Vekiari S.A., Protopapadakis E.F., Papadopoulou P., Papanicolaou D., Panou C., Vamvakias M, 2002**, Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a lemon variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5(1), 147-153p.

**Vilela GR, De Almeida GS, D'Arcea MABR and al. (2008)**. Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. *Journal of stored products research*. April 2009, Volume 45, Issue 2, Pages 108–111.

**Vinegar R., Schreiber W., Hugo R, 1969**, Biphasic development of carrageenin edema in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 166(1), 96-103p.

**Viuda-Martos M., Mohamady M.A., Fernández-López J., Abd El Razik K.A., Omer E.A., Pérez-Alvarez J.A., Sendra E, 2011**, *In-vitro* antioxidant and antibacterial activities of essential oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food Control* 22, 1715-1722p.

**Vogler B.K., et Ernst E, 1999**, *Aloe vera*: A systematic review of its clinical effectiveness. *Br. J. Gen. Pract.*,49, 823-828p.

**Wan J., Wilcock A., Coventry M.J, 1998**, The effect of essential oils of basil of the growth *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *J. Appl. Microbiol.*, 84, 152-158p.

**Wei A. et Shibamoto T, 2010**, Antioxidant/lipoxygenase inhibitory activities and chemical compositions of selected essential oils. *J. Agric. Food Chem.*,58, 7218-7225.

**Weil B., Batteux F, 2003**, Immun pathologie et réactions inflammatoires. 1<sup>ère</sup> édition, De Boeck Supérieur, Bruxelles, Belgique, 312p.

**Wichtel M., and Anton R, 1999**, Plantes thérapeutiques : tradition, pratiques officinales, science et thérapeutiques. Ed. Tec et Doc.

**Winkel-Shirley B, 2001**, Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology and biotechnology. *Plant Physiol*, 126(2), 485-493p.

**Winter C.A., Risley E.A., Nuss G.W, 1962**, Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. *Society for Experimental Biology and Medicine* 111, 544-547p.

**Won Yun K., Maun A, 2007**, Effects of the aqueous extract from *Artemisia campestris* ssp. Caudata on mycorrhizal fungi colonization and growth of sand dune grasses, *Journal of Plant Biology*, 50, 358-361.

**Wu H., Guo J., Chen S., Liu X., Zhou Y., Zhang X., & Xu., X, 2013**, Recent developments in qualitative and quantitative analysis of phytochemical constituents and their metabolites using liquid chromatography-Mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 72(151), 267-291p.

**Wuthi-udomlert M., Kupittayanant P., Gritsanapan W, 2010**, *In-vitro* evaluation of antifungal activity of anthraquinone derivatives of *Senna alata*. *Journal of Health Research*, 24(3), 117-122p.

**Yakhlef G., Laroui S., Hambaba L., Aberkane M.C., et Ayachi A, 2011,** Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, 9, 209-218p.

**Yang Z., Wu N., Fu Y., Yang G., Wang W., Zu Y., Efferth T, 2010,** Anti-infectious bronchitis virus (IBV) activity of 1,8-cineole: effect on nucleocapsid (N) protein. *J Biomol Struct Dyn.* Dec;28(3):323-30.

**Yanishlieva-Maslarova N, 2001,** Sources of natural antioxidants: Vegetables, fruits, herbs, spices and teas. In: *Antioxidant in Food: Practical Applications* (Eds., Yanishlieva N., Pokorny J., Gordor M.) Woodhead Publishing Ltd, Cambridge. 210-249p.

**Yeşilada E., Honda G., Sezik E, 1995,** Traditional Medicine in Turkey V. Folk Medicine in the inner Taurus Mountains. *J Ethnopharmacol*, 46, 133-152p.

**Yigit I., Selin A., Inci K.C., Engin C., and Erdem Y, 2021,** Influence of *in-vitro* Human Digestion Simulation on the Phenolics Contents and Biological Activities of the Aqueous Extracts from Turkish *Cistus* Species. 26, 5322p.

**Yu J., Lei J., Yu H., Cai X., Zou G, 2004,** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Scutellaria barbata*. *Phytochemistry*, 65, 881-884p.

**Zai-Chang Y., Bo-Chu W., Xiao-Sheng Y., Qiang W, 2005,** Chemical composition of the volatile oil from *Cynanchum stauntonii* and its activities of anti-influenza virus. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*, 43, 198-202p.

**Zaman S., Barkatullah, Zahoor M., Syed Wadood A.S., Zahid U., Riaz U., Alotaibi A., 2022,** Pharmacognostic evaluation of *Artemisia maritima* L. a highly medicinal specie of genus artemisia. *Saudi Journal of Biological Sciences*.

**Zargar M., Azizah A.H., Roheeyati1 A.M., Fatimah A.B., Jahanshiri F., et Pak-Dek M.S, 2011,** Bioactive compounds and antioxidant activity of different extracts from *Vitex negundo* leaf. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(12), 2525-2532p.

**Zeggwagh N.A., Michel J.B., & Eddouks M, 2014,** Acute hypotensive and diuretic activities of *Artemisia herba-alba* aqueous extract in normal rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*.

**Zengin G., Sieniawska E., Senkardes I., Picot-Allain M.C.N., Ibrahime Sinan K., Fawzi Mahomoodally M, 2016,** Antioxidant abilities, key enzyme inhibitory potential and phytochemical profile of *Tanacetum poteriifolium* Grierson. *J. Pharm. Res.* 15, 1089-1098p.

**Ziani B.E.C., Barros L., Boumehira A.Z., Bachari K., Heleno S.A., Alves M.J., & Ferreira I.C.F.R, 2018,** Profiling polyphenol composition by HPLC-DAD-ESI/MSn and the antibacterial activity of infusion preparations obtained from four medicinal plants. *Food & Function* 9, 149-159p.

**Zohra M., Atik, F., 2011.** Antibacterial activity of essential oils from *Cistus ladaniferus* L. and *Lavandula stoechas* L. *Int. J. Pharm. Tech. Res*,3 (1), 484-487.

# *Annexes*

---

## **Annexe n°1**

### **Milieux de culture**

#### **Gélose nutritive (GN) (g/l)**

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	3 g
Extrait de levure.....	3 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Agar.....	18 g
Eau distillée.....	1000 mL

pH = 7.3 ± 0.2

#### **Bouillon nutritif (BN) (g/l)**

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Eau distillée.....	1000 mL

pH = 7.3 ± 0.2

#### **Mueller Hinton Agar (MHA) (g/l)**

Extrait de viande.....	3 g
Hydrolysate acide de caséine.....	17.5 g
Amidon.....	1.5 g
Agar.....	16 g
Eau distillée.....	1000 mL

pH = 7.3

## Annexe n°2

**Tableau : liste des antibiotiques utilisés**

Antibiotique	Sigle	Charge du disque
Carbénicilline	CAR	100 µg
Céfazoline	KZ	30 µg
Chloramphénicol	C	30 µg
Doxycycline	DXT	30 µg
Erythromycine	E	15 µg
Gentamicine	CN	30 µg
Néomycine	N	30 µg
Oxacilline	OX	5 µg
Pipéracilline	PRL	30 µg
Polymyxine B	PB	100 IU
Triméthoprime-Sulfaméthoxazole	SXT	25 µg

## Annexe n°3

### Composition des réactifs utilisés pour le screening phytochimique des espèces étudiées

#### 1-Caractérisation des alcaloïdes :

##### a. Réactif de Wagner

Iodure de potassium.....2 g

Iode.....1.27 g

Eau distillée.....100 mL

##### b. Réactif de Mayer

Chlorure mercurique.....6.7 g

Iodure de potassium.....25 g

Eau distillée.....200 ml

## 2-Caractérisation des tanins

### Réactif de Stiasny

Formol à 40%.....10 mL

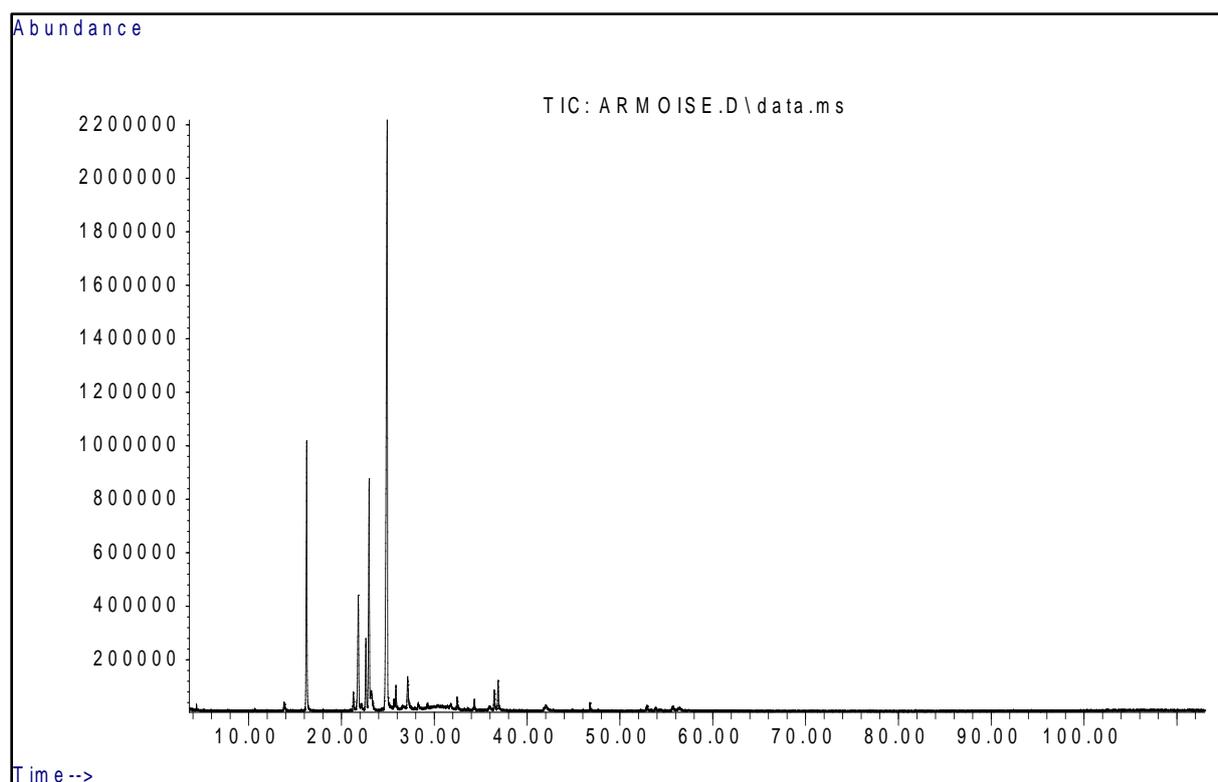
HCl concentré.....5 mL

### Annexe n°4

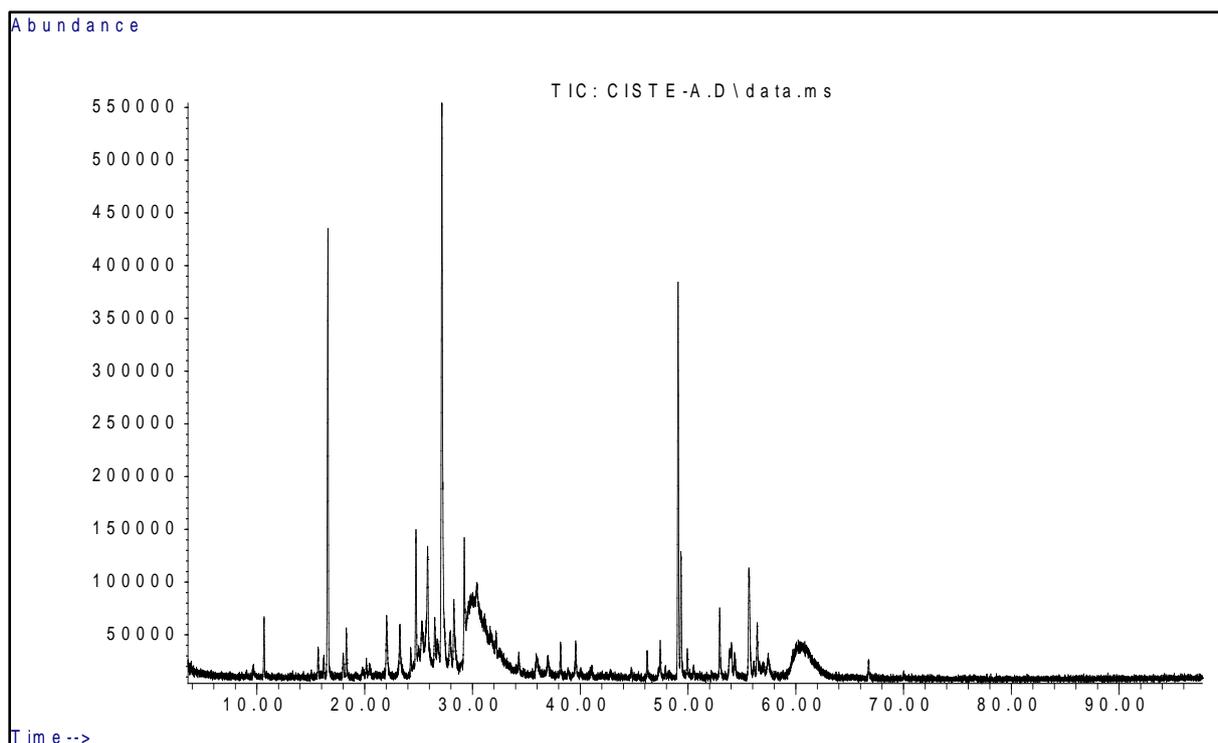
#### Préparation de la solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6)

Peser 35.6 g/l de phosphate disodique ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) (A) et 31.2 g/l de phosphate monosodique ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) (B). Mélanger 26.5 ml de (A) et 73.5 ml de (B) et compléter jusqu'à 200 ml avec de l'eau distillée et ajuster le pH à 6.6.

### Annexe n°5



**Figure n°1. Chromatogramme de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* obtenu par CPG-SM**



**Figure n°2. Chromatogramme de la composition chimique de l'huile essentielle de *Cistus laurifolius* obtenu par CPG-SM**

## **Annexe n°6**

### **Composition de la nourriture des souris**

La nourriture fournie aux souris est composée de dérivés d'origine végétale, céréales, graines, fruits à coque.

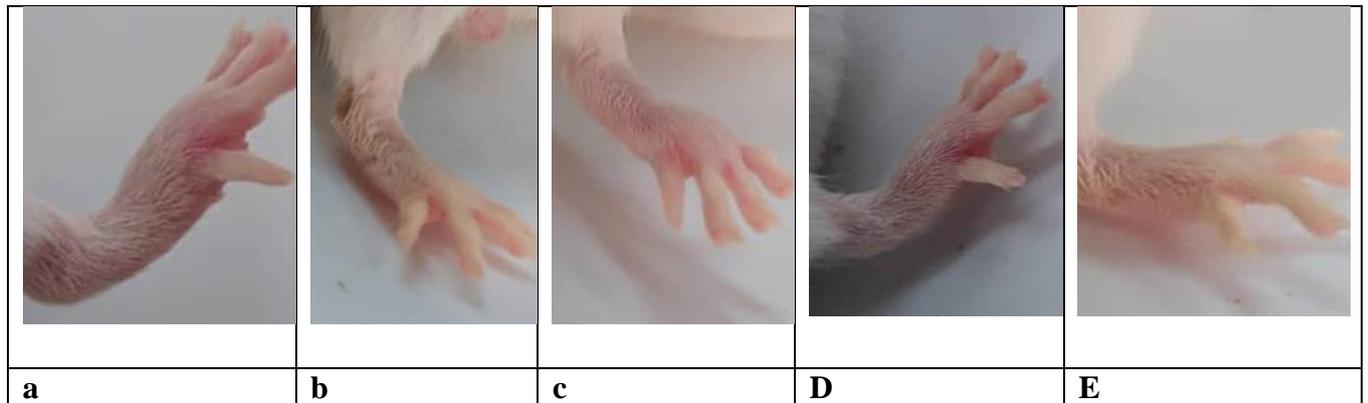
### **Constituants analytiques :**

Protéine brute (14 %), matières grasses brutes (10 %), cellulose brute (13 %), cendres brutes (3.6 %), phosphore (0.4 %), calcium (0.4 %), sodium (0.1 %).

### **Additifs nutritionnels/Kg :**

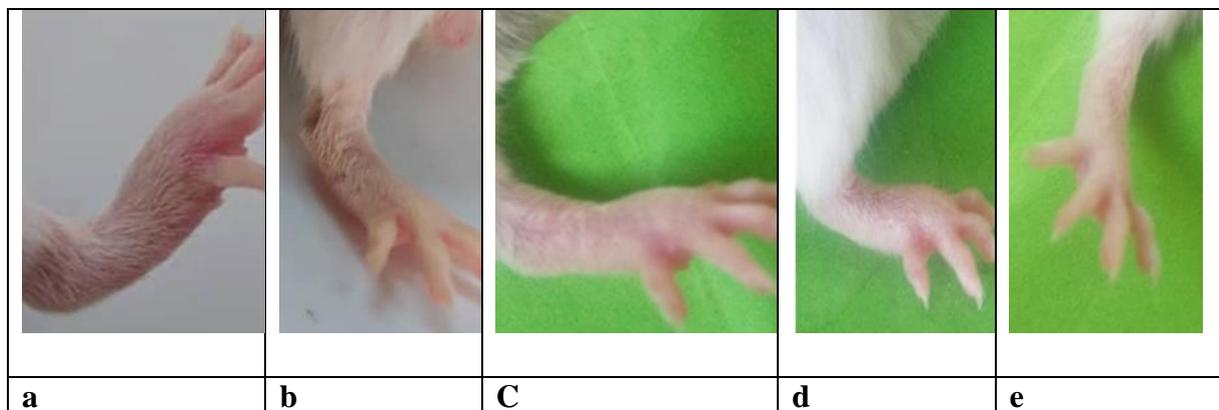
4410 I.E. vitamine A, 677 I.E. vitamine D3, 56 mg vitamine E, 43 mg fer (E1), 0.1 mg iode (E2), 0.1 mg cobalt (E3), 3 mg cuivre (E4), 11 mg manganèse (E5), 8 mg zinc (E6), 0.1 mg sélénium (E8), colorants, antioxydants.

**Annexe n°7**



**Figure n°1. Effet de l'HE d'*Artemisia campestris* sur l'œdème plantaire 6 heures après injection de la carragénine chez la souris**

**a** : Groupe I (Contrôle: 10 mL/kg de Tween 80 à 1%) ; **b** : Groupe II (Standard : Diclofénac à 10 mg/Kg de p. c) ; **c** : Groupe III (100 mg/Kg de p. c d'huile essentielle) ; **d** : Groupe IV (200 mg/Kg de p. c d'huile essentielle); **e** : Groupe V (400 mg/Kg de p. c d'huile essentielle).



**Figure n°2. Effet de l'huile essentielle de *Cistus laurifolius* sur l'œdème plantaire 6 heures après injection de la carragénine chez la souris.**

**a** : Groupe I (Contrôle: 10 mL/kg de Tween 80 à 1%) ; **b** : Groupe II (Standard : Diclofénac à 10 mg/Kg de p. c) ; **c** : Groupe III (100 mg/Kg de p. c d'huile essentielle) ; **d** : Groupe IV (200 mg/Kg de p. c d'huile essentielle); **e** : Groupe V (400 mg/Kg de p. c d'huile essentielle).

Annexe n°8

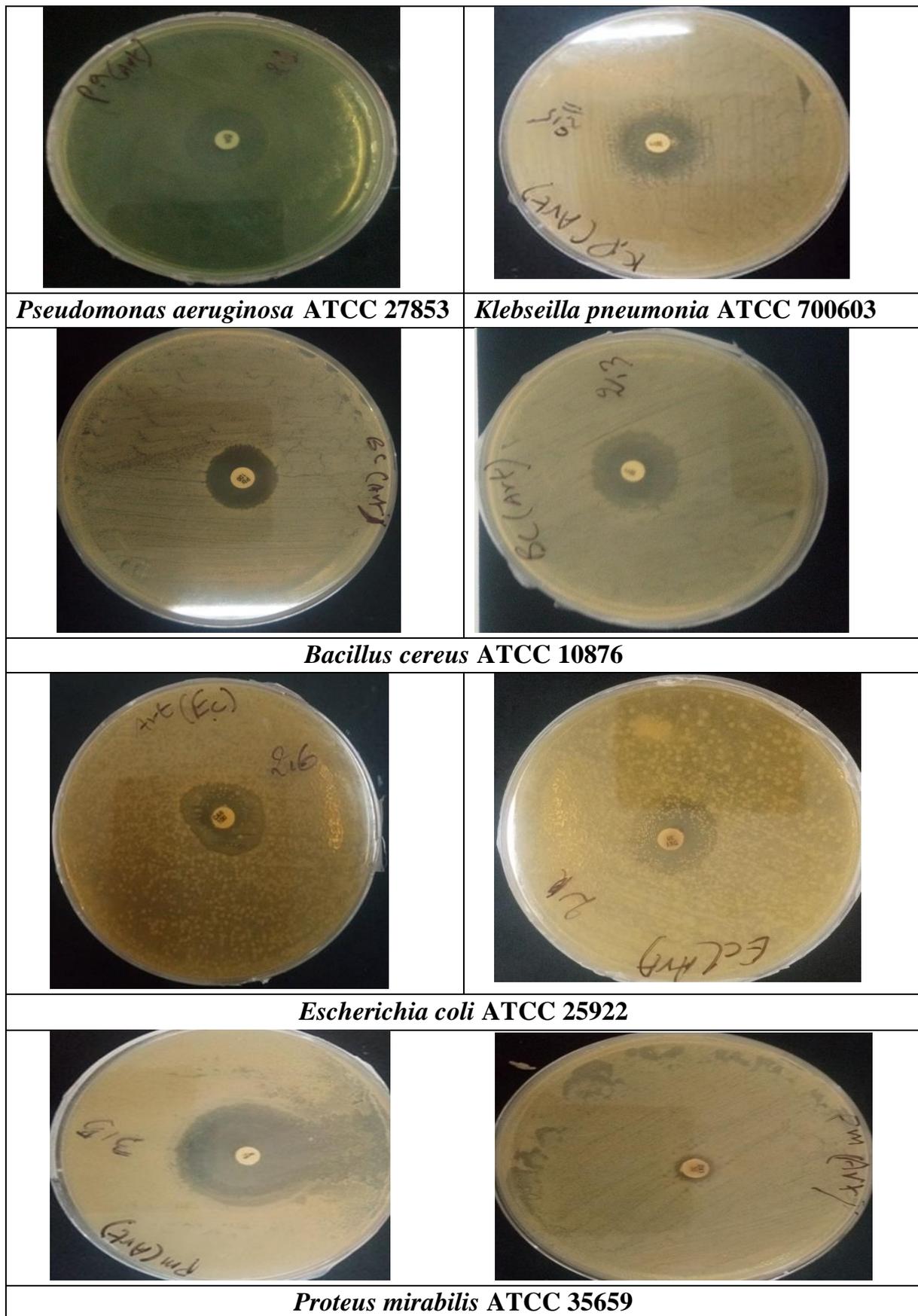
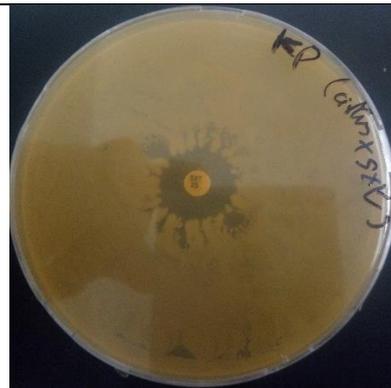


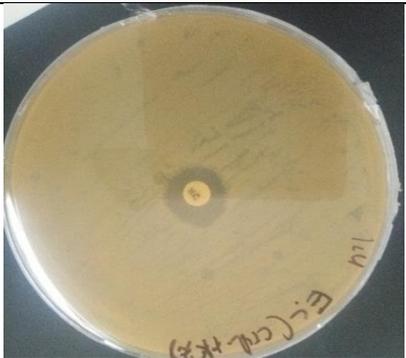
Figure n°1. Résultats de l'effet synergique des antibiotiques et de l'HE d'*A. campestris*.



*Bacillus cereus* ATCC 10876



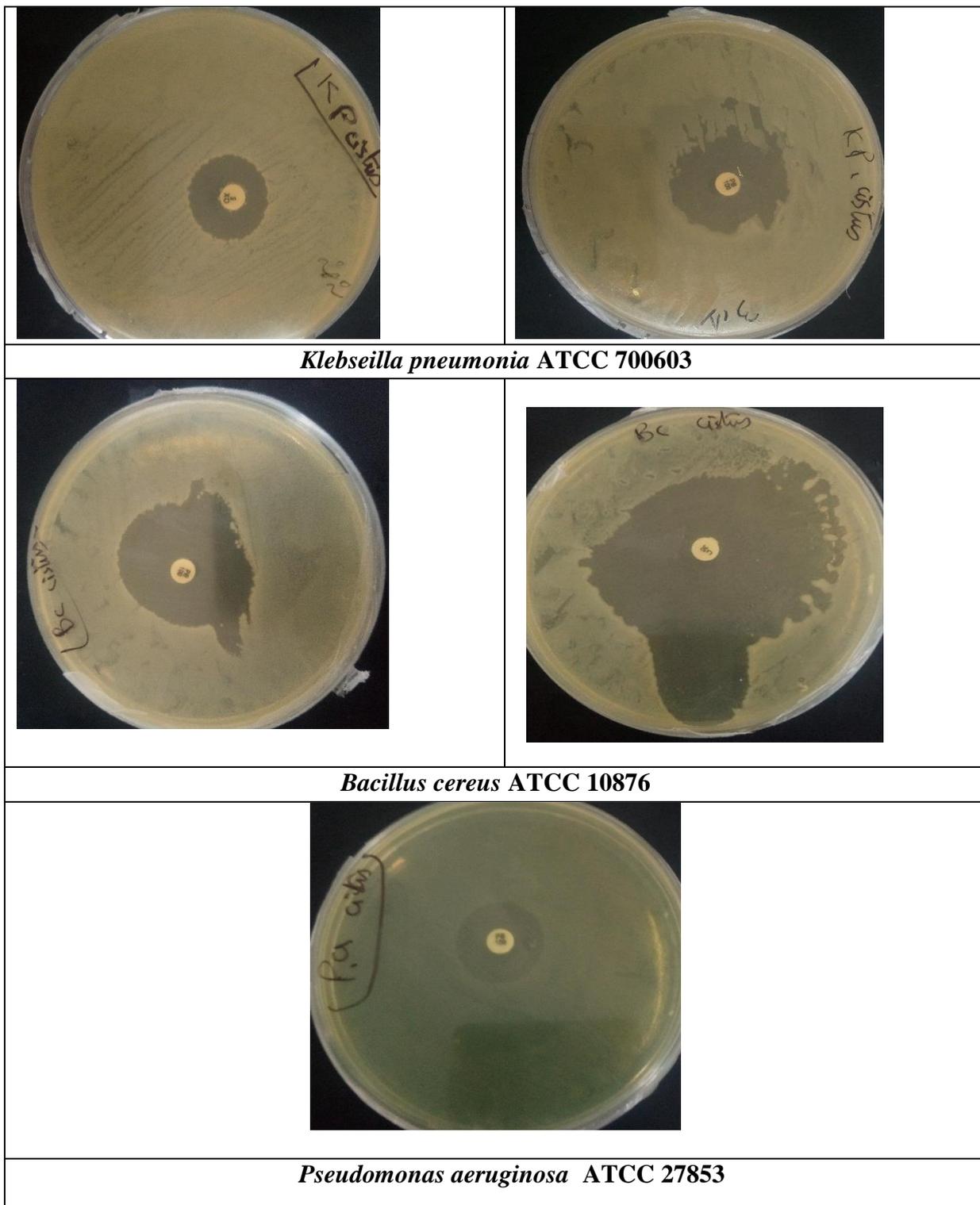
*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603



*Escherichia coli* ATCC 25922



*Bacillus cereus* ATCC 10876



**Figure n°3. Résultats de l'effet synergique des antibiotiques et d'HE de *C. laurifolius*.**

*Publication*

---

## EVALUATION OF CHEMICAL COMPOSITION, ANTI-INFLAMMATORY, ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND SYNERGISTIC EFFECT BETWEEN ANTIBIOTICS AND THE ESSENTIAL OIL OF *ARTEMISIA CAMPESTRIS* L.

 Bakhtia Mammeri<sup>1\*</sup>,  Fouad Bahri<sup>1</sup>,  Mohamed Kouidri<sup>2</sup>,  
 Bouharaoua Boudani<sup>3,4</sup>,  Fatiha Arioui<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Abdelhamid Ibn Badis University, Faculty of Nature and Life Sciences, Laboratory of Microbiology and Plant Biology, Mostaganem, Algeria.

<sup>2</sup>Hassiba Ben Bouali University, Faculty of Nature and Life Sciences, Laboratory of Bio-Resource Naturel, Chlef, Algeria.

<sup>3</sup>University of Saida, Faculty of Science, Department of Biology, Laboratory of Water Resources & Environment, Saida, Algeria

<sup>4</sup>National Institute of Forestry Research Tenes Station, Chlef, Algeria

<sup>5</sup>Abdelhamid Ibn Badis University, Faculty of Nature and Life Sciences, Laboratory of Food Technology and Nutrition Biology, Mostaganem, Algeria.

\*Corresponding Author:

E-mail: bakhtia.mammeri@univ-mosta.dz

(Received 18<sup>th</sup> October 2021; accepted 25<sup>th</sup> November 2021)

**ABSTRACT.** This present study aimed to elucidate the chemical composition of essential oil (EO) which was obtained from the leaves of *Artemisia campestris* (Asteraceae) collected in Djelfa region (Algeria). The *in-vitro* antibacterial activity against six (06) bacterial strains were evaluated, the EO was used alone and associated with antibiotics to assess their synergistic effect. The *in-vivo* acute toxicity and anti-inflammatory activity were evaluated. In this work thirty-three (33) compounds accounting for 100% of total oil were identified by GC and GC/MS analysis of the essential of *A. campestris*. Camphor (41.95%), Chrysanthenone (13.95%), and 1,8-Cineole (13.31%) are found to be the major compounds. From the results of the antibacterial activity using disc diffusion method revealed inhibition zones ranging from 18.33 ± 0.57 to 24.33 ± 0.57mm. Gram-negative was more sensitive to EO compared to Gram-positive bacteria. The combined application of EO of the studied specie with standard antibiotics led to a synergistic effect in some bacteria. At the highest tested dose (5000 mg/kg p.o.) the EO of *A. campestris* did not show signs of acute toxicity. EO of *A. campestris* reduced significantly the paw edema induced by carrageenan in mice at 27.36%, 39.62%, and 56.60% (after 6 hours) at the doses of 100, 200, and 400 (mg/kg) respectively.

**Keywords:** *Artemisia campestris*, essential oil, hydro distillation, chemical composition, synergies, antibacterial activity, acute toxicity, anti-inflammatory activity.

### INTRODUCTION

The emergence of antibiotic resistance is the cause of infectious diseases which pose a real problem for public health [1]. Antibiotics standards are derived from natural

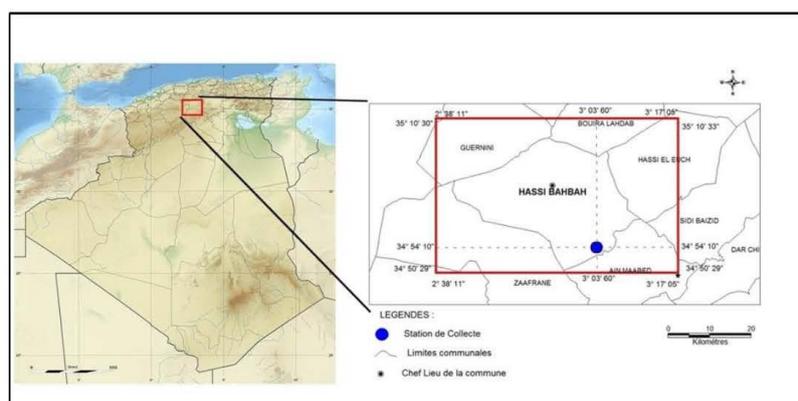
substances produced by some bacteria and fungi to defend other bacteria. Bacteria can synthesize antibiotics at the same time have developed the means to protect themselves, so they are not suicidal [2]. Cushnie et al., [3], have shown that the excessive use of antibiotics can be the major cause of the destruction of the normal intestinal flora and the proliferation of pathogens resistant to antibiotics. Which has directed research towards phytogetic resources to find a solution, so it is a very promoting and effective way to fight against pathogenic bacteria [4]. Plants have been part of human daily life since ancient times since they are used in food and health [5]. It has been reported from Zeggwagh et al., Jakovljević et al., [6,7], that numerous studies carried out on the search for natural products especially in aromatic herbs due to their various pharmacological properties. Different medicinal plants contain various bioactive molecules, such as phenolic acids, flavonoids, tannins, carotenoids, and sterols [8]. According to Shahidi et al., [9], natural products of plant origin, either as pure compounds or as standardized extracts, offer limitless opportunities for a new drug discovered due to the unparalleled availability of chemical diversity. Phytochemicals alone or in combination act as therapeutic agent in various disease complications [10]. In Algeria, traditional medicinal plants have been described as sources of valuable bioactive compounds [11]. Algeria contains a large pool of plants with high bioactive potential that can be used for medicinal applications and for which many of them have not been explored. According to Mabberley [12], *Artemisia* genus belongs to the tribe Anthemideae of the Asteraceae family and which contains more than 350 species *Artemisia* which is quite widespread and grows wild over the Northern Hemisphere. 11 species are present in Algerian flora [13]. The specie of *A. campestris* grows on the steppe and desert and is commonly known as dgouft or armoise rouge. For many years the aerial parts of *A. campestris* have been used in traditional medicine especially against digestive troubles, gastric ulcers, and menstrual pains [14]. Indeed, the identification and measurement of all the bioactive constituents of medicinal plants are essential to ensure the reliability of the biological research and the repeatability as well as to ensure the quality control on the pharmacological and/or dangerous advantages [15]; [11]. In Tunisia the essential oil of *A. campestris* has been well isolated and investigated for its chemical composition and biological activities by several authors [16]; [17]. 1,8-Cineol (19.2%) was reported as the major component in northwestern Italian oil [18], and  $\beta$ -pinene (6.9-57.2%) in northern Italian oil [19]. Many chemical compounds which characterize *A. campestris* essential oil such as; alpha and beta-pinenes, *p*-cymene, caryophyllene oxide, spathulenol, limonene, dehydro-1,8-cineole, cadin-4-en-7-ol, gamma-terpinene, (*Z*)-beta-ocimene, aromadendrene, germacrene D, bi-cyclogermacrene, myrtenol, *p*-cymen-8-ol, gamma-cadinene, *Ar*-curcumene, del-ta-cadinene, calamenene, alpha-murolene, gamma-murolene, gamma-cadinene, bisabolene, and endoperoxide, (*Z*, *E*)-farnesol, cedrol and verbenone [17,20,21]. The essential oils and solvent extracts from *A. campestris* have been shown to exhibit antioxidant, hepatoprotective, antibacterial, antiviral, insecticide, and allelochemical activities [22,23,24,25]. Ghaleb et al., [26] and Olajuyigbe et al., [27], have been shown that the synergy or the combination of the essential oil with antibiotics; is a therapeutic approach that can lead to a new way of treating infectious diseases. The Treatment of inflammation today requires steroidal anti-inflammatory drugs and non-steroidal drugs. At the same time, although that these substances are effective most often, they can exhibit undesirable effects which can interfere with their long-term use such as hepatic and urinary toxicity, gastrointestinal diseases, and inhibition of platelet aggregation [28]. According to Bengmark [29], inflammation is the body's main response

to aggression and is precisely regulated to limit possible damage to the body's structures, and therefore, improper regulation of this phenomenon can lead to a chronic inflammatory state. Széles et al., [30]; Kang et al., [31], have also shown that the inflammatory reaction is an immune defense process of the body in response to an attack originating from physical elements such as; cold, heat, ionizing radiation... or exogenous or endogenous solid elements such as; insect bite, pathogenic microbes, chemical or biological products and compounds resulting from the immune reaction (immune complexes, cytotoxic antibodies, cytokines, etc.). The inflammatory reaction has been reported to be characterized by the cardinal signs of redness, swelling, warmth, pain, and loss of function [32]. In recent years, the appropriate consumption and the use of antibiotics accelerates the selection of multi-resistant bacteria, which currently constitute a real problem in antibiotherapy and in public health. that is why, the research of other solutions and alternatives from natural sources is required and need several studies. The aim of this study is to investigate the chemical composition of *A. campestris* essential oil from Northwest of Djelfa (Algeria). EO has been used alone and in combination with standard antibiotics to assess their *in-vitro* antibacterial activities against multidrug-resistant bacteria, and evaluating their *in-vivo* acute oral toxicity and anti-inflammatory properties using the carrageenan-induced paw edema test.

## MATERIALS AND METHODS

### *Plant material*

The leaves of *A. campestris* were collected from Hassi Bahbah; located in the North-west of Djelfa (Algeria) (longitude: 3°03'59.87" E, latitude: 34°54'10.04" N and altitude: 879 m) (Figure1). The sample was identified by Pr Belhassaini Hachemi, a professor at the University of Sidi Bel-Abbas, Algeria. The specie of *A. campestris* has been collected manually on April 2019. A voucher specimen (A.h a ONA 2018) was deposited at the laboratory of Microbiology and Plant Biology, Abdelhamid Ibn Badis University, Faculty of Nature and Life Sciences, Mostaganem. Plant material was then washed and dried at room temperature in the dark for 15-day [33].



**Fig.1.** Geographical location of the collection station of the studied plant.

### **Hydro distillation**

The extraction of essential oil from the dry leaves of *A. campestris* was carried out using a Clavenger-type apparatus hydro-distiller. This technique consists of introducing about 100 (g) of the sample which was subjected to hydro-distillation for 4 (h) with 600 mL distilled water. Indeed, the oil obtained was separated from the distillate dried over anhydrous sodium sulfate, and stored in a glass vial in a refrigerator at -18°C until the moment of analysis [34].

### **Essential oil analysis (Gas chromatography-Mass spectrometry "GC-MS")**

The analyzes were carried out on a gas chromatograph of the Hewlett Packard Agilent 6890 type plus equipped with an HP-5MS capillary column (Stationary phase: 5% Phenyl 95% dimethylpolysiloxane (Dimensions: long 30 m \* D int 0.25 mm \*) film thickness 0.25µm). The oven temperature was programmed at 60°C for 8 mins, 2°C/mins up to 250°C., Isothermal for 10 mins. Analysis time: 113 mins. The temperatures of the injector and the detector were set at 250°C and 280°C respectively. The carrier gas is: helium, purity: N6.0; with a (High-speed flow): 0.5 mL/min. The EO sample volume injected by Split mode.1;20 is 0.2 µL. The GC-MS analyzes were carried out by a mass spectrometer: Hewlett Packard Agilent 5973 of the quadrupole type. The analysis mode is TIC scan (from 30 to 550). Solvent delay: 3.5 min. The temperatures of the ion source and the interface were set at 230°C and 280°C respectively. The mass spectra were obtained by an Electronic Impact "IE" (type of ionization) of 70 eV (intensity of the filament).

*Table 1. information on GC-MS performed analysis.*

<b>Column type</b>	HP-5MS
<b>Injection volume</b>	0.2 µL
<b>Injection temperature</b>	250°C
<b>Interface temperature</b>	280°C
<b>Mode of injection</b>	Split.1; 20
<b>Vector gas</b>	Helium

The identification of the chemical compound of our EO was carried out using Thermo-Xcalibur 1.2 software by correlating their respective mass spectra with those of the libraries; Wiley 8th Edition, NIST 08, Adams library [35], Mass Finder terpenoids library [36] and [37]. According to Van Den Dool et al., [38], we can determine the retention indices.

### **In-vitro studies (Anti-bacterial activity, synergistic effect)**

#### **Microorganisms**

Antibacterial activity was evaluated using Gram-negative bacteria; *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ATCC 27853, *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*) ATCC 35659, *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) ATCC 700603. And Gram-positive bacteria; *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 6538, *Bacillus cereus* (*B. cereus*) ATCC 10876. All bacterial strains were provided from the (Institute of Pastor Algeria).

### ***Antibiotics***

In this study, the antibiotics-standards Carbénicilline 100 ( $\mu\text{g}$ ) (CAR), Céfazoline 30 ( $\mu\text{g}$ ) (KZ), Chloramphénicol 30 ( $\mu\text{g}$ ) (C), Doxycycline 30 ( $\mu\text{g}$ ) (DXT), Erythromycine 15 ( $\mu\text{g}$ ) (E), Gentamicine 30 ( $\mu\text{g}$ ) (CN), Néomycine 30 ( $\mu\text{g}$ ) (N), Oxacilline 5 ( $\mu\text{g}$ ) (OX), Pipéracilline 30 ( $\mu\text{g}$ ) (PRL), Polymyxine B 100 (IU) (PB), Triméthoprime-Sulfaméthoxazole 25 ( $\mu\text{g}$ ) (SXT) were used.

### ***Antibacterial effect of essential oil (Vincent-technique).***

The Mueller–Hinton agar medium deposited in sterile petri dishes (90 mm diameter) is seeded in a sheet with the bacterial inoculum. After drying for 30 mins at 37°C, sterile Wattman paper blank discs of 6 mm in diameter were impregnated with 15  $\mu\text{L}$  of essential oil tested and carefully deposited on the surface of the agar previously seeded with the suspension of each pathogenic bacterium. Finally, the dishes are subsequently incubated at 37°C for 24 h. each test was repeated three times. Indeed, after incubation, the absence of microbial growth results in a translucent halo around the disc, the diameter of the inhibition zone is expressed in millimeters [39]. Lesueur et al., [40], indicate that antimicrobial activity of the extracts was determined by the disk diffusion method which is based on the spread of antimicrobial compounds in a solid medium.

### ***Synergistic effect of the combination of the essential oil and antibiotics***

The synergistic effect of the combination of the studied essential oil and antibiotics are evaluated using ready discs (antibiotic disc), So 15  $\mu\text{L}$  of essential oil was saturated in the antibiotic disc which is deposited on the surface of the agar, to determine the diameter of the inhibition zone which was measured in millimeters [41].

### ***In-vivo studies (acute toxicity, anti-inflammatory activity)***

The *in-vivo* studies were performed on *Swiss albino* mice. In order to evaluate the acute toxicity of essential oil by oral administration and its anti-inflammatory activity by the plantar edema test induced by injection of a phlogogenic agent.

### ***Animal material***

Both sexes of *Swiss albino* mice weighing 25 to 30 (g) and originating from the institute Pastor Algiers (Algeria), were used for *in-vivo* testing. These animals were placed in polypropylene cages (fed regularly with free access to water). For a period of two weeks before the experiment, mice were acclimatized to the laboratory environment under controlled temperature conditions  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  with a cycle (light/dark) of 12 H.

### ***Preparation of the solutions to be tested***

According to Faria et al., [42], *A. campestris* essential oil was suspended in a mixture of distilled water and 1% Tween 80 so as to obtain a 100 mg/mL solution to be administered orally to mice. Carrageenan (1%) and diclofenac additional agents were dissolved in normal saline (0.9%, w/v) prior to use.

### ***Acute Oral toxicity***

According to the OECD (Organization for Economic Cooperation and Development), Guideline N°423 the acute oral toxicity test was performed [43]. First of all, the mice

(females only) were fasted 16 hours before the experiment with free access to water. The studied EO was administered orally to groups of mice ( $n = 3$ ) at doses of 50, 300, and 2000 mg/kg respectively. Regarding the control group, only received the vehicle (10 mL/kg of 1% Tween 80). After treatment: The animals were observed continuously for 2 hours before feeding and watering them in order to detect changes in their autonomic or behavioral responses compared to the control group (death, restlessness, breathing, and asthenia). Monitoring for any mortality was continued for 48 hours and then for 7 days. This test was repeated at higher doses (up to 5000 mg/kg) with a new batch of animals ( $n = 3$ ) when no death has occurred in any group.

#### ***Anti-inflammatory effect of EO (Carrageenan-induced plantar edema test)***

The study of the anti-inflammatory effect of the studied EO of *A. campestris* was performed according to the protocol described by Winter *et al.*, [44]. Mice of both sexes were fasted for 16 hours prior to the experiment with free access to water. These animals were divided into 5 groups of 6 animals each. The batch I (control) received 10 mL/kg of 1% Tween 80. Batch II (standard) received 10 mg/kg of diclofenac (a reference anti-inflammatory drug). Batch III, IV, and V (experimental) respectively received doses of 100, 200 and 400 mg/kg of EO to be tested. After 30 mins of treatment by oral administration, the edema was induced by injection of 50  $\mu$ L of carrageenan (1% w/v) into the sub-plantar region of the right hind paw. The thickness of the paw (mm) was measured using a digital caliper before injection ( $V_0$ ) and every 60 mins for 6 Hours after induction of inflammation [45]. The percentage of inhibition of the edema was calculated according to the following formula;

$$\text{Percentage of inhibition} = [(V_t - V_0)_{\text{control}} - (V_t - V_0)_{\text{tested}}] \times 100 / (V_t - V_0)_{\text{control}}$$

We consider;  $V_0$ : volume of the paw before carrageenan injection,  $V_t$ : volume of the paw at a fixed time interval after injection of carrageenan

Statistical analysis of the anti-bacterial and anti-inflammatory activity of essential oil of *Artemisia campestris* was performed by software (Stat Box 6.4). Using ANOVA followed by the Newman and Keuls test.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### ***Chemical composition of essential oil***

The EO extraction yield of *A. campestris* which has been determined is 4.9% (yield obtained from a test portion of 100 g consisting of dry leaves). The yield of our plant is much larger compared to the one obtained by Akrouit *et al.*, [16] for *A. campestris* originating in Beni-Khedache (a mountainous region in the south of Tunisia). Akrouit *et al.*, [16], indicate that the yield of EO of Tunisian *A. campestris* is 1.2%. A study by Touil *et al.*, [46], shows that the lowest yield of EO of *A. campestris* is recorded for samples taken in spring (0.37%) while the highest level is observed from samples taken in summer with an average value of (0.41%). Consequently, the EO yield of a given species is influenced by intrinsic (such as growth stages) and extrinsic (such as pedoclimatic, conditions, and extraction methods) parameters [46]. The chemical composition of EO of *A. campestris* determined by GC and GC-MS analysis, the

retention time, and the percentage of the identified compounds of this EO was presented in table (2).

**Table 2.** Chemical composition of *Artemisia campestris* essential oil determined by GC and GC-MS expressed in percentage (%).

N°	Compounds	RI	Area (%)
1	Furfural	800	0.14
2	Camphene	948	0.15
3	$\alpha$ -Phellandrene	1000	0.74
4	1,8-Cineole	1034	13.31
5	cis-p-Menth-2-en-1-ol	1104	1.18
6	$\beta$ -thujone	1111	6.97
7	trans-Pinocarveol	1116	0.58
8	$\alpha$ -thujone	1122	3.91
9	Chrysanthenone	1122	13.95
10	cis-Chrysanthenol	1146	0.21
11	Camphor	1154	41.95
12	trans-Pinocarveol	1167	1.96
13	Myrtenol	1177	0.75
14	$\gamma$ -terpinène	1184	2.62
15	trans-Carveol	1195	0.14
16	cis-Carveol	1200	0.49
17	Piperitone	1214	0.42
18	Neral	1224	0.38
19	Geraniol	1230	0.60
20	trans-Myrtanol	1245	0.24
21	Geranial	1250	0.37
22	Bornyl acetate	1260	0.72
23	Lavandulyl acetate	1276	0.17
24	Thymol	1286	0.74
25	Carvacrol	1310	0.77
26	trans-Carvyl acetate	1318	1.30
27	$\alpha$ -Cubebene	1324	2.07
28	Methyl eugenol	1402	0.87
29	<i>Ar</i> -Curcumene	1479	0.52
30	Cedrol	1581	0.43
31	Humulene epoxide II	1597	0.21
32	$\alpha$ -Muurolol, epi	1630	0.58
33	$\beta$ -Eudesmol	1640	0.56

RI: Retention index

Thirty-three compounds were identified representing 100% of the total detected constituent EO. This sample consists mainly of a mixture of monoterpenes, sesquiterpenes, and their oxygenated derivatives. The major compounds of EO of *A. campestris* were camphor (41.95%) and chrysanthenone (13.95%) followed by 1, 8-Cineole (13.31%),  $\beta$ -thujone (6.97%),  $\alpha$ -thujone (3.91%). Other components are also found in low amounts such as;  $\gamma$ -terpinène (2.62%) and  $\alpha$ -Cubebene (2.07%), trans-

Pinocarveol (1.96%), trans-Carvyl acetate (1.30%), cis-p-Menth-2-en-1-ol (1.18%). The strong predominance of camphor indicates that it represents the EO chemotype of *A. campestris*. Camphor as a major compound has also been reported by Belhattab et al., [47], to have a value of (9%) in the region of Bousaada (Algeria), it is a value much lower compared to camphor of our oil (41.95%). For more comparison,  $\beta$ -pinene represents the major constituent with a high level (45.8%) in a sample collected in Beni-Khedache (a mountainous region in the south of Tunisia), Followed by  $\alpha$ -pinene (12.5%) and limonene (7.7%) [16]. (Z, E)-Farnesol (10.3%) has been identified as the major component of EO in the region of Djelfa (Algeria) followed by Cedrol (5.4%), *trans*-Calamenene, Verbenone, Myrcene at contents ranging from (3.0%, 3.3%, and 3.8% respectively) [21]. However, a study conducted on *A. campestris* reported that the main chemical profile was characterized by the predominance of germacrene-D, spathulenol, humulene epoxide II, and caryophyllene oxide [48]. On the other hand, according to our results, humulene epoxide has a very low value. Analyzes carried out on *A. campestris* collected in the Batna region also revealed the predominance of EO from the stems by 2-naphthaleneacetaldehyde, 1,4-dihydro- $\alpha$ ,  $\alpha$ -dimethyl-1,4-dioxo- (22.1%) [49]. Consequently, the EO of *A. campestris* in Mediterranean countries had different chemical models and differences in the relative amount of chemical compounds in EO. The main constituents recorded in the aerial parts were;  $\gamma$ -terpinene, capillene, 1-phenyl-2,4-pentadiyne, and spathulenol in France. In Italy they were; *Ar*-curcumene, caryophyllene oxide, *p*-cymene,  $\beta$ -pinene, germacrene D bicyclogermacrene, and myrcene. But in Portugal they were;  $\beta$ -pinene, cadin-4-en-7-ol and aromadendrene [50]. It has been reported that the variations in chemical composition encountered in the EOs of the studied species from a qualitative and quantitative point of view can be attributed to one or more factors such as; drying time, storage conditions, extraction method, part of the plant used, stage of development, genotype and presence of chemotype. Consequently, all these factors can influence the pathway of plant biosynthesis and have consequences on the relative proportion of the main characteristic of the compounds [51, 52, 53].

#### *In-vitro studies*

The EO of the dry leaves of *A. campestris* has shown that it has an effect against the four tested strains, the greatest zone of inhibition which was obtained against *E. coli* ATCC 25922 (24.33 mm) followed by (21.33 mm) against *K. pneumonia* ATCC 700603, *B. cereus* ATCC 10876 with a value of (21 mm). Then by (18.33 mm) against *P. mirabilis* ATCC 35659. On the other hand, it is inactive against *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *S. aureus* ATCC 6538 (Table 3). From the antibiogram results presented in (Table 3), we find that the tested bacterial strains showed varying degrees of sensitivity to most of the antibiotics used. Indeed, the antibiotics which recorded the greatest zones of inhibition are as follows; Trimethoprim-Sulfamethoxazol (SXT) against *S. aureus* ATCC 6538 (34.33 mm), *E. coli* ATCC 25922 (31 mm); Neomycin (N) against *B. cereus* ATCC 10876 (26.33 mm); Gentamicin (CN) against *E. coli* ATCC 25922, *B. cereus* ATCC 10876 and *K. pneumonia* ATCC 700603 (24.33 mm, 21 mm and 18.66 mm respectively). Among the antibiotics which are resistant against more than two bacteria are the following; Erythromycin (E), Oxacillin (OX). Carbenicillin (CAR) is against all the tested bacteria. As well as Chloramphenicol (C), Cefazolin (KZ), and Piperacillin (PRL) are resistant against five tested bacteria (table3). The evaluation of the synergistic effect of antibiotics and EO of *A. campestris* by the disk diffusion

method on agar medium allowed us to obtain the results listed in (Table 3). According to the obtained results, the combination of EO of *A. campestris* with Gentamicin (CN) and Chloramphénicol (C) antibiotics showed a synergetic effect against five bacteria. The application of Erythromycin (E) with EO of *A. campestris* led to a synergistic effect on three tested bacteria (*E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *P. mirabilis* ATCC 35659). Followed by Doxycyclin (DXT) against five bacteria and Triméthoprime-Sulfaméthoxazol (SXT) against four bacteria (Table.3). A synergistic effect was observed in all bacterial strains when we use Polymyxin B (PB) with the EO of *A. campestris*. The combination of the sample of *A. campestris* with Pipéracillin (PRL); appears to be inactive against all the tested bacterial strains. The association of EO of *A. campestris* with Céfazoline (KZ) antibiotics showed a synergetic effect against three tested bacteria. Finally, the combination of this oil with Carbenicillin (CAR) appears to be inactive against four bacterial strains (Table 3). According to Bertella [54], EO from *A. campestris* was of lower antibacterial activity (*S. aureus* 10.7 mm, *B. cereus* 15.7mm, *P. aeruginosa* 11.3 mm, *E. coli* 11.3 mm, *K. pneumoniae* 9.3 mm, *P. mirabilis* <8mm). On the other hand, our results are superior to this one particularly against *B. cereus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*. A study was conducted by Khebri [55], on EO of *A. campestris* shows that the diameters of the zone of inhibition were less than (6 mm) on *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*. The EO of this specie gave diameters of the zones of inhibition against *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* are respectively (18 mm, 10 mm, and 10 mm). On the other hand, these results revealed that *P. aeruginosa* ATCC 27853 was resistant to this oil [16], which confirm our result. Essential oils rich in phenolic components possess high levels of anti-microbial activity [56]. Fillippi et al., [57], shows that the antibacterial power of essential oils can be contributed to their major components such as terpene alcohols which are soluble in aqueous media and therefore very powerful on soluble microbial [57]. It has been reported that the combination of gentamicin with each one of EO, including (*Aniba rosaeodora*, *Melaleuca alternifolia*, *Origanum vulgare*, and *Pelargonium graveolens*) shows a combination effect. A synergistic effect against all the tested strains was observed in gentamicin with *A. rosaeodora* and *P. graveolens* [58]. Milenkovića et al., [59], demonstrated that EOs of *C. sylvatica*, *C. vardarensis*, and *C. nepeta* in combination with antibiotics (gentamicin or ciprofloxacin) exert a synergistic effect. Combination effects suggest that the EOs of the studied species could be used as potential adjuvants of antibiotics. The combination of EO of *T. willdenowii* Boiss with each one ticarcillin, imipenem, gentamicin, and tobramycin increased the antimicrobial activity of the tested antibiotics. As well as, the combination of EO of *O. compactum* with tested antibiotics has a synergistic effect against *P. putida*. A synergistic effect has also been detected against some bacteria when the EO of *C. coronarium* is combined with four tested antibiotics. The combination of Eos which are derived from the five medicinal plants and standard antibiotics have the potential for the development of new antimicrobials, treatment, and reduction of drug resistance which will allow finding the treatment of several diseases caused by microorganisms [60]. Indeed, this synergy could lead to new options for the treatment of infectious diseases and emerging drug resistance. Further studies based on the synergistic interaction molecule are essential to understand the fundamental synergistic mechanism for the development of pharmacological agents to treat bacterial infections using medicinal plants [60]. Finally, according to our bibliographical researches, there were not any previous studies related to the synergistic effect of antibiotics and the essential oil of *A. campestris* against bacterial strains.

**Table 3.** Anti-bacterial activity of: essential oil of *A. campestris*, antibiotics-standard, and the synergistic effect between the essential oil and the tested antibiotics. (Zones of inhibition mm).

Strains	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. mirabilis</i> ATCC 35659	<i>B. cereus</i> ATCC 10876	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700 603		
<b>EO of <i>A. c</i></b>	24.33± 0.57	18.33 ±0.57	21 ± 1	0	0	21.33 ± 1.15		
<b>ATB</b>	CN	24.33±0.57	16±1.00	21±1.00	16.33±0.57	24.33±1.15	18.66±0.57	
	C	0	0	19.33±0.57	0	0	0	
	E	0	0	0	0	0	0	
	SXT	31±1.00	11.66±0.57	21±1.00	0	34.33±0.57	10±1.00	
	CAR	0	0	0	0	0	0	
	PB	16.66±0.57	16±1.00	12.33±0.57	17±1.00	15±1.00	17±0.00	
	KZ	0	0	8.66±0.57	0	0	0	
	N	20±1.00	20.33±0.57	26.33±0.57	15.33±0.57	22.66±0.57	14.33±1.15	
	PRL	0	0	0	25.66±0.57	0	0	
	OX	0	0	0	0	0	0	
	DXT	16.66±0.57	16.66±0.57	12±1.00	11.66±0.57	17.33±0.57	11.66±0.57	
	<b>Synergistic effect (EO of <i>A. c</i> + ATB)</b>	CN	14.66±0.57	16±1	0	20.33±0.57	14.33±0.57	13±0.00
		C	24.33±0.57	9.33±0.57	15.66±0.57	16.33±0.57	0	21±1.00
		E	34.66±0.57	16.33±0.57	0	0	0	12.66±0.57
SXT		18±1	0	16±1	0	10.33±0.57	14±0.00	
CAR		23.33±0.57	12.33±0.57	0	0	0	0	
PB		18±0	17±1	15.66±1.15	21±1.00	15.33±0.57	14.33±0.57	
KZ		20.66±1.15	0	11±1	15±0.00	0	0	
N		9.33±0.57	0	11.33±0.57	9.33±0.57	12.66±0.57	0	
PRL		0	0	0	0	0	0	
OX		20±1	11.33±0.57	0	0	13.66±0.57	9.66±0.57	
DXT	20±0	12.66±0.57	13.66±0.57	10.33±0.57	0	15.33±0.57		

EO of *A. c*: Essential Oil of *Artemisia campestris*; ATB: Antibiotic; CN: Gentamicin; C: Chloramphenicol; E: Erythromycin; SXT: Trimethoprim-Sulfamethoxazole; CAR: Carbenicillin; PB: Polymyxin B; KZ: Cefazoline; N: Neomycin; PRL: Piperacillin; OX: Oxacillin; DXT: Doxycycline. *E. coli*: *Escherichia coli* ATCC 25922; *P. mirabilis*: *Proteus mirabilis* ATCC 35659; *B. cereus*: *Bacillus cereus* ATCC 10876; *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; *S. aureus*: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; *K. pneumoniae*: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

### In-vivo studies

#### Acute Oral toxicity

The assessment of the acute essential oil toxicity of the studied specie (*A. campestris*) was carried out by oral administration in *Swiss albino* mice provided by the Institute of Pastor Algeria. From the results obtained after 24 hours, we observe that the oral administration of this EO of different doses did not change the behavior of the tested mice, as well as there were no death or changes observed in the autonomic responses. Except; we observe very strong breath and asthenia during the first hours after the treatment with the dose of 5000 (mg/kg). According to a study conducted by Dib *et al.*, [61], the EO of *A. campestris* at 2 g/kg treated in animals showed several signs of intoxication such as; tremors, hyperactivity followed by asthenia, convulsions, and irregular breathing. After the first 24 hours, all these signs disappeared. After two weeks of injecting *A. campestris* EO, no significant changes were observed in organs and body

weights. This is the same result of our study. Acute oral toxicity of *A. campestris* EO has been reported that the result of LD<sub>50</sub> value greater than 2 g/kg body weight. Sefi et al., [62], found that several additional studies on the toxicity of *A. campestris* indicating that intraperitoneal administration of the aqueous extract to mice showed earlier toxicity with LD<sub>50</sub>=2.5g/kg body weight. Indeed, the performance of an acute toxicity test of the essential oil of *A. campestris* on artemia larvae (*Artemia* sp.) gave the median lethal dose ranging from 15 to 20 g/mL [50].

#### **Anti-inflammatory activity**

The evaluation of the anti-inflammatory activity of *A. campestris* EO was performed by the test for plantar edema induced by injection of carrageenan in mice.

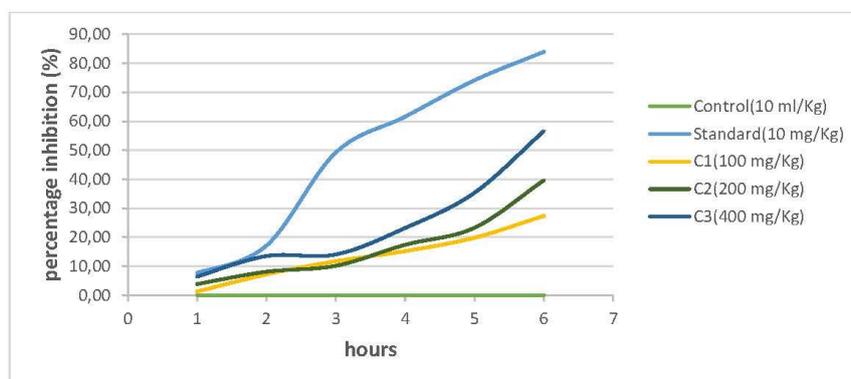
**Table 4.** Anti-inflammatory effect of *Artemisia campestris* essential oil on paw edema induced by carrageenan in mice Swiss albino.

Hours	Paw diameter in millimeter (mm)				
	Control (10 ml/Kg)	Standard (10 mg/Kg)	<i>Artemisia campestris</i> essential oil		
<i>l</i>			C1(100 mg/Kg)	C2(200 mg/Kg)	C3 (400 mg/Kg)
<b>0H</b>	2.15±0.05	2.03±0.05	1.98±0.09	1.86±0.05	1.95±0.05
<b>1H</b>	2.93±0.1	2.75±0.05	2.75±0.05	2.61±0.04	2.68±0.07
<b>2H</b>	3.26±0.08	2.95±0.05	3.01±0.09	2.88±0.04	2.91±0.07
<b>3H</b>	3.43±0.08	2.68±0.09	3.11±0.04	3.01±0.07	3.05±0.05
<b>4H</b>	3.53±0.08	2.56±0.05	3.15±0.05	3±0.08	3.01±0.07
<b>5H</b>	3.31±0.07	2.33±0.08	2.91±0.07	2.75±0.05	2.70±0.06
<b>6H</b>	3.21±0.07	2.2±0.08	2.75±0.08	2.50±0.08	2.41±0.07

Control: vehicle (Tween 80, 1%); Standard: Diclofenac. Mean ± SEM (n = 6); C: Concentration(mg/Kg).

Table 4 and Figure 2 show the results of the evaluation of the anti-inflammatory effect of paw edema induced by carrageenan in mice (*Swiss albino*). Depending on the hours, the edema volume increases progressively and after four hours of the injection of carrageenan peaking in the control group. Reanmongkol et al., [63], showed that edema induced by injection of carrageenan is a widely used model to assess the anti-inflammatory activity of substances. In fact, the injection of carrageenan causes the release of several chemical mediators which are responsible for the inflammatory process.

In addition, usually, this phenomenon is characterized by a biphasic response: the initial phase (1-2 hours); characterized by the release or evolution of chemical mediators such as serotonin, bradykinin, and histamine. The late phase (3-6 hours); the latter is supported by the release of prostaglandins, leukotrienes, lysozymes, proteases, and nitric oxide (NO) [64,65,66].



**Fig. 2.** The percentage inhibition (%) of paw edema by diclofenac and the essential oil of *Artemisia campestris* for 6 hours after injection of carrageenan. (Control: 10 ml/Kg; Standard: 10 mg/Kg; C: Concentration mg/Kg (C1:100 mg/Kg; C2: 200 mg/Kg; C3: 400 mg/Kg)).

*A. campestris* EO used at different doses for the treatment of mice showed a very significant decrease in the volume of the edema from four hours compared to the control. In comparison with diclofenac, the same phenomenon has occurred but from three hours compared with the control. The anti-inflammatory activity of *A. campestris* EO is attributed to its major compound Camphor and 1,8-Cineole. Indeed, there are minor constituents such as;  $\beta$ -thujone and  $\alpha$ -Cubebene can contribute to the anti-inflammatory activity. *A. campestris* EO showed percentages inhibition of 27.36%, 39.62%, and 56.60% at doses of 100, 200, and 400 (mg/kg) body weight respectively after 6 hours on one hand. And on the other hand, these percentages were lower than those observed in the standard Diclofenac 83.96% (the reference anti-inflammatory). ROS (reactive oxygen species) are involved in the pathophysiology of diseases with an inflammatory component (cancer, diabetes, atherosclerosis, arthritis, and infectious diseases). As well as, they induced the release of cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6) and the activation of pro-inflammatory enzymes (cyclo-oxygenases, lipoxygenase, and nitric oxide synthase) involved in the inflammatory process [67]. Tanas et al., [68], have shown that lipoxygenase catalyzes the biosynthesis of leukotrienes which are pro-inflammatory and allergic mediators. At the same time, the reactive oxygen species oxidize the unsaturated lipids of the cell membrane leading to the formation of lipid peroxides which are cytotoxic and involved in the inflammatory process. Consequently, the activation of lipoxygenase and the formation of lipid peroxides is caused by the injection of carrageenan. Kim et al., Mujumdar et al., Panthong et al., [69, 70, 71], have reported that many herbal remedies exhibit topical anti-inflammatory properties. Several studies show that flavonoids have anti-inflammatory properties and that they can modulate the functioning of the immune system by inhibiting the activity of enzymes that could be responsible for inflammation [72]. They can inhibit histamine [69].

It has been shown that essential oils rich in  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, phellandrene,  $\alpha$ -sabinene have anti-inflammatory activity [73,74,75]. Ghilissi et al., [76], found that the anti-inflammatory effect could be due to the presence of phenolic compounds and flavonoids in the extracts. The aqueous extract of the leaves of *A. campestris* administered intraperitoneally shows an anti-inflammatory and analgesic

effect in paw edema induced by carrageenan in rats [76]. It has been reported that very little work has been carried out on studying the anti-inflammatory properties of the plant (*A. campestris*) [77]. According to the results obtained by Boudjouref et al., [77], the study of the anti-inflammatory activity *in-vivo* showed that the extracts of the leaves of *Artemisia campestris* exert a powerful anti-inflammatory effect.

For more comparison, a study carried out shows that the ethanolic extract of the leaves of *Artemisia campestris* L. at a dose of 150 and 300 mg/kg significantly reduced edema from the second hour after administration of the extract compared to the control group. The activity was high at a dose of 300 mg/kg, compared to the activity produced by standard acetylsalicylic acid [78]. On the other hand, in our case, the EO activity was low at a dose of 400 mg/kg, compared to the activity produced by the reference anti-inflammatory diclofenac (83.96%). At the highest dose (300 mg/kg), the percentage inhibition showed that the ethanolic extract of *A. campestris* L. was more active (67.15%) [78] than the percentage inhibition of our EO at the highest dose 400 (mg/kg), and the recorded value was 56.60%. In addition, at the lowest dose (150 mg/kg), the percentage inhibition showed that the ethanolic extract was also superior (34.61%) [78] than the percentage inhibition of our EO at the dose 100 (mg/kg) has a value of (27.36%). Ethanolic extracts from the leaves of *Artemisia campestris* possessed a varying degree of anti-inflammatory activity. While this effect could be explained by the inhibition of the synthesis of pro-inflammatory substances [78]. Numerous additional studies showing that the anti-inflammatory activity of the extract can be explained in part by the presence of polyphenolic compounds such as; tannins and flavonoids in the leaves [79].

## CONCLUSION

The essential oil of *A. campestris* analyzed by GC-MS is dominated by Camphor with 41.95%. The variability in the chemical composition of EO can be explained by different extrinsic factors (conditions of growth and development of the plant) or intrinsic (genetics of the plant). This sample has significant antibacterial activity, particularly against Gram-negative strains. The combination of EO of the studied specie with antibiotics may be effective against bacterial infections (origin of multidrug-resistant bacteria MBR). Evaluation of the *in-vivo* activity in *Swiss albino* mice showed that the EO of *A. campestris* when administered orally does not present any risk of acute toxicity. As well, it has demonstrated a considerable anti-inflammatory effect at lower non-toxic doses.

**Conflict of Interest.** “The authors declared that there is no conflict of interest.”

**Authorship Contributions.** B.M., F.B., Design: B.M., F.B., Data Collection or Processing: B.M., F.A., Analysis or Interpretation: B.M., M.K., Literature Search: B.M., B.B., Writing: B.M., B.B.

**Financial Disclosure.** Directorate General for Scientific Research and Technological Development (DGRSDT).

## REFERENCES

- [1] Grimsrud, P.A., Xie, H., Griffin, T.J., Bernlohr, D.A. (2008): Oxidative stress and covalent modification of protein with bioactive aldehydes. *J Biol Chem* 283: 21837–21841.
- [2] Lozniewski, A., Rabaud, C., Nancy. Bacterial antibiotic resistance. (2010): Lyon: CCLIN Sud-Est. French.

- [3] Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J. (2011): Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents* 38(2): 99–107.
- [4] Sudano, R.A., Rita Blanco, A., Giuliano, F., Rusciano, D., Enea V. (2004): Epigallocatechin-Gallate Enhances the Activity of Tetracycline in Staphylococci by Inhibiting Its Efflux from Bacterial Cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48(6): 1968–1973.
- [5] Fellah, S., Romdhane & Abderraba, M. (2006): Extraction and study of essential oils from *Salvia officinalis* L. collected in two different regions of Tunisia. *J. Soc. Alger. Chim* 16 (2): 193–202.
- [6] Zeggwagh, N.A., Michel, J.B & Eddouks, M. (2014): Acute hypotensive and diuretic activities of *Artemisia herba-alba* aqueous extract in normal rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*.
- [7] Jakovljević, M.R., Grujičić, D., Vukajlović, J.T., Marković A., Milutinović M., Stanković, M., Vuković, N., Vukić, M., & Milošević-Djordjević, O. (2020): *In-vitro* study of genotoxic and cytotoxic activities of methanol extracts of *Artemisia vulgaris* L. and *Artemisia alba Turra*. *South African Journal of Botany* 132: 117–126.
- [8] Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E & Kefalas, P. (2005): Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry* 89(3): 411–420.
- [9] Shahidi, F. & Ambigaipalan P. (2015): Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects. A review. *Journal of Functional Foods* 1–78.
- [10] Ozcan, T., Akpınar-Bayizit, A., Yılmaz-Ersan, L. & Delikanlı, B. (2014): Phenolics in human health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications* 5(5): 393–396.
- [11] Ziani, B.E.C., Barros, L., Boumehira, A.Z., Bachari, K., Heleno, S.A., Alves, M.J. & Ferreira, I.C.F.R. (2018): Profiling polyphenol composition by HPLC-DAD-ESI/MSn and the antibacterial activity of infusion preparations obtained from four medicinal plants. *Food & Function* 9: 149–159.
- [12] Mabberley, D.J. (1998): *The Plant-Book*. UK, Cambridge University press Cambridge,
- [13] Quezel, P., Santa, S. (1963): *New flora from Algeria and southern desert regions*. CNRS, tome 2, Paris, 1170p.
- [14] Baba Aissa, F. (1991): *Medicinal plants in Algeria. Co' dition Bouche'ne' and Ad. Diwan*, Algiers, Algérie.
- [15] Wu, H., Guo, J., Chen, S., Liu, X., Zhou, Y., Zhang, X & Xu, X. (2013): Recent developments in qualitative and quantitative analysis of phytochemical constituents and their metabolites using liquid chromatography–Mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 72(151): 267–291.
- [16] 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. *Recent Research in Science and Technology* 2(1): 29–39.
- [17] Neffati, A., Skandrani, I., Sghaier, M.B., Bouhlel, I., Kilani, S., Ghedira, K., Neffati, M., Cherif, I., Hammami, M., Chekir-Ghedira, L. (2008): Chemical composition, mutagenic and antimutagenic activities of essential oils from (Tunisian) *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba*. *J. Essent. Oil. Res* 20(5): 471-477.
- [18] Mucciarelli, M., Caramiello, R., Maffei, M., Chialva, F. (1995): Essential oils from some *Artemisia* species growing spontaneously in North-West Italy. *Flav Fragr J* 10: 25–32.
- [19] Bellomaria, B., Valentini, G., Biondi, E. (2001): Chemotaxonomy of *Artemisia variabilis* Ten. and *A. campestris*. ssp. *glutinosa* (Ten.) Briq. et Cavill. (Asteraceae) from Italy. *J Essent Oil Res* 13: 90–94.
- [20] Akrouit, A., Chemli, R., Cherif, I., Hammami, M. (2001): Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris*. *Flav Fragr J* 16: 337–339.

- [21] Dob, T., Dahmane, D., Berramdane, T., and Chelghoum, C. (2005): Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L. from Algeria. *Pharmaceutical Biology* Vol. 43, No. 6, pp: 512–514.
- [22] Hatimi, S., Boudouma, M., Bichichi, M., Chaïb, N., Idrissi, N.G. (2000): Evaluation *in vitro* of anti-leishmanien activity of *Artemisia herba-alba* Asso (in French). Presented at Franco-African meeting of pediatrics N°14, Paris, France. Exotic pathology Society: Paris, France, pp. 57-70.
- [23] Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutasouma, D & Vidal, N. (2006): Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 97(4): 654–660.
- [24] Aniya, Y., Shimabukuro, M., Shimoji, M., Kohatsu, M., Gyamfi, M.A., Miyagi, C.D, Kunii Takayama, F., Egashira, T. (2000): Antioxidant and Hepatoprotective Actions of the Medicinal Herb *Artemisia campestris* from the Okinawa Islands. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 23(3): 309-312.
- [25] Tharib, S.M., Gnan, S.O., Veitch, G.B.A. (1983): Antimicrobial activity of compounds from *Artemisia campestris*. *J. Food. Prot* 46: 681-685.
- [26] Ghaleb, A., Mhanna, M. (2008): Synergistic effects of plant extracts and antibiotics on *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens. *Middle East J Sci Res* 3(3): 134-9.
- [27] Olajuyigbe, OO., Afolayan, A.J. (2012): Synergistic interactions of methanolic extract of *Acacia mearnsii* De Wild. with antibiotics against bacteria of clinical relevance. *Int J Mol Sci* 13: 8915-32.
- [28] Batlouni, M. (2010): Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: cardiovascular, cerebrovascular and renal effects. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 94(4): 522–563.
- [29] Bengmark, S. (2004): Acute and "chronic" phase reaction-a mother of disease. *Clinical nutrition* 23(6):1256–1266.
- [30] Széles, L., Töröcsik, D., and Nagy, L. (2007): PPAR  $\gamma$  in immunity and inflammation: cell types and diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Mol. Cell Biol. Lipids* 1771(8): 1014-1030.
- [31] Kang, S.M Kim, K.N., Lee, S.H., Ahn, G., Cha, S.H., Kim, A.D. and Jeon, Y.J. (2011): Anti-inflammatory activity of polysaccharide purified from AMG-assistant extract of *Ecklonia cava* in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Carbohydrate Polymers* 85(1): 80-85.
- [32] Iwalewa, E.O., McGaw, L.J., Naidoo, V., and Eloff, J.N. (2007): Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *African Journal of Biotechnology* 6(25).
- [33] Abdelli, W., Bahri, F., Romane, A., Höferl, M., Wannerd, J., Schmidc, E., and Jirovetze, L. (2017): Chemical Composition and Anti-inflammatory Activity of Algerian *Thymus vulgaris* Essential Oil. *Natural Product Communications*, pp 611 – 614.
- [34] Akrou, A., Gonzalez, L.A., El Jani, H & Madrid, P.C. (2011): Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. *Food. Chem. Toxicol* 49: 342-347.
- [35] Adams, R.P. (2007): Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry (4th ed). Allured Pub. Corp.
- [36] König, W.A., Joulain, D. & Hochmuth, D.H. (2001): GC/MS Library: Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils.
- [37] Babushok, VI., Linstrom, P.J., Zenkevich, I.G. (2011): Retention Indices for Frequently Reported Compounds of Plant Essential Oils. *J. Phys. Chem. Ref. Data* Vol. 40, No. 4.
- [38] Van Den Dool, H., Dec Kratz, P. (1963): A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A*. 11: 463–471.

- [39] Perveen, K., Bokhari, N.A. & Dina Soliman, A.W. (2012): Antibacterial activity of Phoenix dactylifera L. leaf and pit extracts against selected Gram-negative and Gram-positive pathogenic bacteria. Journal of Medicinal Plants Research 6(2): 296–300.
- [40] Lesueur, D., de Rocca Serra, D., Bighelli, A., Hoi, T.M., Ban, N.K., Thai, T.H. (2007): Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Michelia faveolata* Merrill ex Dandy from Vietnam. Flavour Fragr J 22: 317-21.
- [41] Toroglu, S. (2007): *In-vitro* antimicrobial activity and antagonistic effect of essential oils from plant species. J Environ Biol 28: 551-9.
- [42] Faria, L.R.D., Lima, C.S., Perazzo, F.F., Carvalho, J.C.T. (2011): Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the essential oil from *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae). International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research 7(2): 1-8p.
- [43] OECD. (2002): Test No. 423: Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Organization for Economic Co-operation and Development, Paris.
- [44] Winter, C.A., Risley, E.A., Nuss, G.W. (1962): Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y) 111: 544-547p.
- [45] Vasudevan, M., Gunnam, K.K. Parle, M. (2006): Antinociceptive and anti-inflammatory properties of *Daucus carota* seeds extract. Journal of Health Science 52(5): 598-606p.
- [46] Touil, S., Benrebaha, F.Z & Tahar, H.S. (2017): Influence of seasonal variation on chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of field wormwood *Artemisia campestris*. Revue Agrobiologia 7(2): 502-511.
- [47] Belhattab, R., Boudjouref, M., Barroso, J.G., Pedro, L.P., Figueirido, A.C. (2011): Essential Oil Composition from *Artemisia campestris* Grown in Algeria. Advances in Environmental Biology 5(2): 429-432. ISSN 1995-0756.
- [48] Judzentiene, A., Budiene, J. (2014): Variability of *Artemisia campestris* L. essential oils from Lithuania. J Ess Oil Res 26: 328–333.
- [49] Maarfia, S., Zellagui, A., Hakki Alma, M., Göçeri, A., Karaoğul, E., Gherraf, N. (2018) Essential Oils of *Bellis Sylvestris*, *Asteriscus Maritimus* and *Artemisia Campestris* Stems Growing in Different Areas in Algeria. World Journal of Environmental Biosciences ISSN, 2277- 8047.
- [50] Judzentiene, A., Budiene, J., Butkiene, R., Kupcinskiene, E., Laffont-Schwobc, I., Masotti, V. (2010): Caryophyllene Oxide-rich Essential Oils of Lithuanian *Artemisia campestris* ssp. *campestris* and Their Toxicity. Nat Prod Commun 5: 1981-1984.
- [51] Ennajar, M., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu, F., Abderraba, M., Raies, A., Romdhane, M. (2009): Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L. (Cupressaceae). Journal of Food Science 74(7): 364-371p.
- [52] Oliva, d.I.M., Beltramino, E., Gallucci, N., Casero, C., Zygadlo, J., Demo, M. (2010): Antimicrobial activity of essential oils of *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton from different regions of Argentina. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales 9: 29-37p.
- [53] Viuda-Martos, M., Mohamady, M.A., Fernández-López, J., Abd El Razik, K.A., Omer, E.A., Pérez-Alvarez, J.A., Sendra, E. (2011): *In vitro* antioxidant and antibacterial activities of essential oils obtained from Egyptian aromatic plants. Food Control 22: 1715-1722p.
- [54] Bertella, A. (2019): Study of the antimicrobial and antioxidant activity of the essential oils of *Artemisia Herba alba*, *Artemisia campestris* & *Rosmarinus tournfortti*, Doctoral Thesis, Ahmed Ben-Balla Oran University 1, Algeria.
- [55] Khebri, S. (2011): Chemical and biological study of essential oils from three *Artemisia*. Magister's thesis. Hadj Lakhdar Batna University, Algeria 150p.
- [56] Ultee, A., Bennik, M.H.J., Moezelaar, R. (2002): The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Appl Environ Microbiol 68(4): 1561-1568.

- [57] Fillippi, J.J., Ianfranchi, D.A., Prado, S., Baldovini, N., Meierhenich, U.J. (2006): Composition, distribution and antibacterial activity of the essential oil *Achillea ligustica* All. from croscica. J.
- [58] Rosato, A., Piarulli, M., Corbo, F., Muraglia, M., Carone, A., Vitali, M.E., Vitali, C. (2010): *In-vitro* synergistic antibacterial action of certain combinations of gentamicin and essential oils. *Current Medicinal Chemistry* 17: 3289-3295.
- [59] Milenkovića, M., Stošovića, J & Slavkovskab, V. (2018): Synergy between Essential Oils of Calamintha Species (Lamiaceae) and Antibiotics. *Natural Product Communications* 371 – 374.
- [60] Moussaoui, F., Alaoui, T. (2016): Evaluation of antibacterial activity and synergistic effect between antibiotic and the essential oils of some medicinal plants. *Asian Pac J Trop Biomed* 6(1): 32–37.
- [61] Dib, I., Fauconnier, M.L., Sindic, M., Belmekki, F., Assaidi, A., Berrabah, M., Mekhfi, H., Aziz, M., Legssyer, A., Bnouham, M and Ziyat, A. (2017): Chemical composition, vasorelaxant, antioxidant and antiplatelet effects of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Oriental Morocco. *BMC Complementary and Alternative Medicine* DOI 10.1186/s12906-017-1598-2.
- [62] Sefi, M., Fetoui, H., Makni, M., Zeghal, N. (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):1986–93.
- [63] Reanmongkol, W., Noppapan, T., Subhadhirasakul S. (2009): Antinociceptive, antipyretic, and anti-inflammatory activities of *Putranjiva roxburghii* Wall. leaf extract in experimental animals. *Journal of natural medicines* 63(3):290–296.
- [64] DiRosa, M., Giroud, J.P., Willoughby, D.A. (1971): Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine.
- [65] Olajide, O.A., Makinde, M.J., Awe, S.O. (1999): Effects of the aqueous extract of *Bridelia ferruginea* stem bark on carrageenan-induced oedema and granuloma tissue formation in rats and mice. *J Ethnopharmacol* 66(1): 113-117.
- [66] Posadas, L., Bucci, M., Roviezzo, F., Rossi, A., Parente, L., Sautebin, L., Cirino, G. (2004): Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. *British Journal of Pharmacology* 142(2): 331-338p.
- [67] Gupta, M., Mazumder, U.K., Sambath Kumar, R., Gomathi, P., Rajeshwar, Y., Kakoti, B.B & Tamil Selven, V. (2005): Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of methanol extract from *Bauhinia racemosa* stem bark in animal models. *Journal of Ethnopharmacology* 98(3): 267–273.
- [68] Tanas, S., Odabasoglu, F., Halici, Z., Cakir, A., Aygun, H., Aslan, A & Suleyman, H. (2010): Evaluation of anti-inflammatory and antioxidant activities of *Peltigera rufescens* lichen species in acute and chronic inflammation models. *Journal of natural medicines* 64(1): 42–49.
- [69] Kim, H.P., Son, K.H., Chang, H.W., kong, S.S. (2004): Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanism. *J Pharmac. Sci* 96: 229-254.
- [70] Mujumdar, A.M & Misar, A.V. (2004): Anti-inflammatory activity of *Jatropha curcas* roots in mice and rats. *J Ethnopharmacol* 90: 11–15.
- [71] Panthong, A., Kanjanapothi, D., Taesotikul, T., Phankummoon, A., Panthong, K., Reutrakul, V. (2004): Anti-inflammatory activity of methanolic extracts from *Ventilago harmandiana* Pierre. *J Ethnopharmacol* 91: 237242.
- [72] González-Gallego, J., Sánchez-Campos, S., Tufiñ, M.J. (2007): *Nutricin Hospitalaria* 22(3): 287-293.
- [73] Sayyah, M., Saroukhani, G., Peirovi, A., Kamalinejad, M. (2003): Analgesic and anti-inflammatory activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* Linn. *Phytotherapy Research* 17: 733-736.

- [74] Chao, L.K., Hua, K.F., Hsu, H.Y., Cheng, S.S., Liu, J.Y., Chang, S.T. (2005): Study on the anti-inflammatory activity of essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 7274-7278.
- [75] Miguel, M.G. (2010): Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. *Molecules* 15: 9252-9287.
- [76] Ghilissi, 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. Pharm* 84: 115-122.
- [77] Boudjouref, M. (2019): Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Artemisia campestris* extracts, Doctoral Thesis, Ferhat Abbas Sétif University 1, Algeria.
- [78] Medila, I., Toumi, I., Ferhat, I., & Mehaych, R. (2017): Biological Evaluation of Anti-Inflammatory Activity of *Artemisia campestris* L. and *Spitzelia coronopifolia* Desf Ethanolic Leaves Extract. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 9(7):1-4.
- [79] Bruneton, J. (1999): *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*, Lavoisier Publishing, Paris 367-370.