

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT des science de la Nature

Et de la vie

N°:.....



DOMAINE : SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE
OPTION : BIODIVERSITE ET
PHYSIOLOGIE VEGETALE

Mémoire présenté pour l'obtention

Du diplôme de Master Académique

Par: LAMARA Amira – BOUAFIA Warda et BENALIA Mohamed Ali

Intitulé

**Caractérisation et utilisation des produits
essentials d'*Eucalyptus globulus***

Soutenu devant le jury composé de:

BISKRI Mohamed	MAA	Université M'sila	Président
BELKASSAM Abdelouahab	MCA	Université de M'sila	Rapporteur
HADJI Abbas	MAA	Université M'sila	Examineur

Année universitaire : 2021/2022



Dédicace

Je commence par rendre grâce à Dieu et à sa bonté, pour la patience, la compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade et de m'avoir donné la force d'accomplir mes études. Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions.

Je dédie ce mémoire de fin d'étude à :

★ Celui qui m'a offert tout le soutien dont j'ai besoin, celui qui m'a donné le tout depuis ma naissance et à qui je souhaite une très longue vie ; À mon très cher père AHMED.

★ À mon modèle de sacrifice, d'amour et de générosité, la lumière de mon chemin l'étoile de ma vie ; à ma très chère MÈRE.

★ À ma coeur, ma chère soeur : NOUR,

★ À mes chers frères : ISMAIL, IMAD, HAMZA et ZAKARIA.

★ À toute ma famille.

★ À mes chères amies : WARDA, HASINA, MARWA et HADJER

Et à tous mes amies de la promotion de Master de biodiversité et physiologie végétale 2022.

LAMARA Amira



Dédicace

★ *A mon très cher père Abd el madjid*

Pour m'avoir soutenu moralement et matériellement jusqu'à ce jour, pour son amour, Et ses encouragements. Que ce travail, soit pour vous, un faible témoignage de ma Profonde affection et tendresse. Qu'ALLAH le tout puissant te préserve, t'accorde Santé, bonheur et te protège de tout mal.

★ *A ma très chère mère Aichouche*

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Qu'ALLAH te protège et te donne la santé, le bonheur et longue vie.

★ *A mes frères Billal, Moustapha , Riyad, et Islam que j'aime tant Pour leur petit mot et leur soutien*

★ *A ma seule soeure Karima et son mari Mohamed et le petit poussin Amine mirane*

★ *A tout ma famille et a tous mes collègues et amis : Amira , Yasmine , Marwa , Hanane et Imane*

A tous la promo BDV que j'aime tant un par un .

BOUAFIA Warda



Dédicace

*Avec l'aide de DIEU, j'ai pu réaliser ce modeste travail de fin
d'étude à
que je dédie A:*

*MA chère Maman c'elle qui c'est sacrifiée durant sa vie afin de
me voir réussir, c'elle qui a éclairé mon chemin de ma vie par ces
conseil*

*_ Ma père Aissa décédé trop tôt pour me voir arriver à cette
étape celui qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études, que
dieu le bénisse et le garde*

*pour l'amour et la confiance dont ils m'ont toujours entouré et
m'ont permis de réussir.*

-A mes frères, A mes sœurs

-A mes chers binôme: WARDIA, AMIRA,

*-A mon autre moitié MARWA pour ses conseils et sa
motivation*

-A mes chers collègues :, CHAIMA, DJELLOUL, FATIMA.

-A tous mes amis qui m'ont soutenu, aidé et encouragé

BENALIA MOAHMED ALI



REMERCIEMENTS



Au nom d'Allah, le tout miséricordieux, le très miséricordieux,

Les Louanges sont à Allah seigneur de l'univers qui nous a donné la force, la patience, le courage, pour compléter cette modeste recherche.

*Premièrement, nous remercions notre cher encadreur, «**Dr. BELKASSAM Abdelouahab**» pour avoir accepté de nous encadrer et de nous diriger, pour sa compréhension, ses Encouragements ainsi que pour la confiance qu'il nous a accordé en réalisant ce travail, avec tout notre sincères gratitude et respect.*

*Nous adressons aussi nos vifs remerciements aux membres du jury, «**Dr. BISKRI Mohamed**» pour avoir accepté de présider notre jury de soutenance, et «**Dr. HADJI Abbas**» pour avoir bien accepté d'examiner notre travail.*

*Nos remerciements à Tous nos enseignants de département de science de la nature et de vie pour leurs soutiens pendant tout notre parcours universitaire
ET A TOUS LES INGÉNIEUR DE LABORATOIRE.*

A la fin, un grand merci à tous ceux qui ont contribué d'une façon ou d'autres, de près Ou de loin à la réalisation de ce mémoire de fin d'étude.

Sans oublier nos collègues d'études et particulièrement notre promotion (la promo de 2022).

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Listes des tableaux

Introduction 1

Partie 01: recherche bibliographique

chapitre I: présentation d'étude d' *Eucalyptus globulus*

I.1. La famille des Myrtaceae 3

I.1.1. Généralités..... 3

I.1.2. Répartition de la famille des Myrtaceae..... 3

I.1.3. Description botanique des Myrtacées 4

I.2. Le genre *Eucalyptus* : 5

I.2.1. Origine et définition : 5

I.3. L'espèce *Eucalyptus globulus* : 5

I.3.1. Description *Eucalyptus globulus*:..... 6

I.3.2. Position systématique d'*Eucalyptus globulus*: 7

I.3.3. Le nom commun *Eucalyptus globulus* : 7

I.3.4. Répartition géographique de espèce *Eucalyptus globulus* : 7

I.4. Définition de la phytothérapie : 8

I.4.1. Usage thérapeutique d'*Eucalyptus globulus*:..... 8

Chapitre II: Métabolisme secondaire

II.1. Métabolites primaires : 10

II.2. Métabolite secondaire : 10

II.2.1. Les composés azotés : 10

II.2.2. Composés phénoliques : 12

✓ Les flavonoïdes	13
✓ Tanins.....	14
✓ Les Stilbènes.....	15
✓ Les Coumarines.....	15
II.2.3. Les terpenoïdes et Huiles essentielles.....	17

Chapitre III: Activité biologique

III.1. Activité antioxydant	20
III.1.1. Stress oxydatif.....	20
III.1.2. Radicaux libres.....	20
III.1.3. Différent types des antioxydants :.....	21
III.1.4. Mécanismes d'action des antioxydants :.....	23
III.2. Activité antimicrobienne :.....	23
III.2.1. Activité antimicrobienne des polyphénols :.....	24
III.2.2. Définition des bactéries:.....	24
III.2.3. Définition des antibiotiques :.....	24
III.2.4. Description des bactéries étudiées :.....	25

Partie 02 : Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthode

I.1.Objectif:.....	27
I.2. Matériel végétal :.....	27
I.3.Extraction des huiles essentielles :.....	28
I.3.1.la technique d'hydrodistillation:.....	28
I.3.2. Détermination du rendement en huiles essentielles:	29
I.3.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue <i>Eucalyptus globulus</i> :	29
I.4. Evaluation quantitative des substances bioactifs <i>Eucalyptus globulus</i> :.....	29
I.4.1.Extraction solide- liquide :	29

I.4.2. Extraction liquide-liquide :.....	30
I.5. Extraction des coumarines :	32
I.6. Evaluation qualitatives des substances bioactive de <i>Eucalyptus globulus</i> :.....	33
I.6.1. Chromatographie sur couche mince:	33
I.7. Activités biologique	35
I.7.1. Evaluation de l'activité antioxydant:	35
I.7.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne:	37

Chpitre II : Résultats et discusion

II.1. Evaluation des technique d' extractions.....	39
II.1.1. Extraction des polyphénols :.....	39
II.1.2. Extraction des coumarines etdes huiles essentielles de la plante <i>Eucalyptus globulus</i> :.....	40
II.2. Chromatographie analytique sur couche mince (CCM) :.....	41
II.3. Résultats activité biologiques de la plante <i>Eucalyptus globulus</i>	49
II.3.1. Activité antioxydant	49
II.3.2. Activité antibactérienne:	50

Conclusion

Référence Bibliographique

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

CCM :	Chromatograie sur couche mince.
CHCl₃ :	Chloroforme.
DPPH :	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.
DMSO :	Diméthyle sulfoxyde.
EBrt :	L'extrait brut (hydro-méthanolique).
EAcOEt :	L'extrait d'acétate d'éthyle.
En-BuOH :	L'extrait butanolique.
MeOH :	Méthanol
HE :	Huile essentiel.
Hcl :	Acide chlorhydrique.
IC₅₀:	Concentration inhibitrice de 50 %.
mg/ml :	Milligramme par millilitre.
mm :	Millimètre.
NH₄OH :	Hydroxyde d'ammonium.
P :	Poids.
p/p :	Poids sur poids.
Rf :	Rapport frontal.
R :	Le rendement.
UV :	Ultraviolet.
µl :	Microlitre.
% :	pourcentage.
g :	gramme.

Liste des figures

Figure 1: aire de répartition des myrtacées dans le monde	3
Figure 2 : Coupe transversale de fleur du myrtaceace	4
Figure 3 : <i>Eucalyptus globulus</i>	5
Figure 4 : Fleur et feuille et fruit d' <i>Eucalyptus globulus</i>	6
Figure 5 : Structure chimique du phénol	12
Figure 6 : Structure de base des flavonoïdes	13
Figure 7 : Structures chimiques (a) d'un tanin condensé et (b) d'un tanin.....	14
Figure 8 : Structure des stilbènes	15
Figure 9 : Structure de coumarine simple.....	16
Figure 10 : Structures de quelques pyranocoumarines	16
Figure 11 : Structures des quelques dicoumarines	17
Figure 12: Biosynthèse des principaux constituants métaboliques des huiles essentielles.	19
Figure 13 : Vue sous le microscope électronique de <i>Bacillus subtilis</i>	25
Figure 14 : Vue sous le microscope électronique de <i>Staphylococcus aureus</i>	25
Figure 15 : Vue sous le microscope électronique <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
Figure 16: Vue sous le microscope électronique de <i>Escherichia coli</i>	26
Figure 17: arbre, feuilles <i>Eucalyptus globulus</i>	27
Figure 18 : Matière sèche de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	27
Figure 19 : Photographie du montage de type Clevenger utilisé pour l'extraction des huiles essentielles	28
Figure 20 : 50 g matière végétale sèche.	28
Figure 21 : les étapes d'extraction des Flavonoïdes	31
Figure 22 : L'extraction de la coumarine de la plante <i>Eucalyptus globulus</i>	32
Figure 23 : CCM préparative donnant des flavonoïdes sous forme de lignes séparée.....	33
Figure 24 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant.....	36

Figure 25 : Rendement des différents extraits de l'espèce <i>Eucalyptus globulus</i>	39
Figure 26: Rendement des coumarines et des huiles essentielles de l'espèce <i>Eucalyptus globulus</i>	40
Figure 27: Révélation de la CCM par la lampe UV à la longueur d'onde 360 nm des extraits d'acétate d'éthyle (EAcOEt), l'extrait brut, l'extrait de butanol (En-BuOH) et l'extrait de coumarine des feuilles de l'espèce <i>Eucalyptus globulus</i>	41
Figure 28 : Représentation de l'inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs d'IC ₅₀ des différents extraits d' <i>Eucalyptus globulus</i>	49
Figure 29: Présentation des résultats de l'activité antibactérienne de produits d'extrait brut méthanoïque des feuilles de la plante <i>Eucalyptus globulus</i>	51

Listes des tableaux

Tableau 1 : Le nom commun <i>Eucalyptus globulus</i>	7
Tableau 2: les différents systèmes des solvants utilisés pour la chromatographie sur couche mince	35
Tableau 3: Les RFs et couleurs des spots obtenus dans les 7 systèmes par CCM dans l'extrait brut de <i>Eucalyptus globulus</i>	42
Tableau 4: Les RFs et couleurs des spots obtenus dans les 7 systèmes par CCM dans l'extrait de coumarine du <i>Eucalyptus globulus</i>	44
Tableau 5: Les RFs et couleurs des spots obtenus dans les 7 systèmes par CCM dans l'extrait de d'acétat d'éthyl <i>Eucalyptus globulus</i>	46
Tableau 6: Les RFs et couleurs des spots obtenus dans les 7 systèmes par CCM dans l'extrait de n-butanol d' <i>Eucalyptus globulus</i>	48
Tableau 7: Diamètre en (mm) de la zone d'inhibition de Ebr Méthanolique des feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur les quatres souches de la bactéries	52



INTRODUCTION

Introduction

À travers les âges, l'homme a pu compter sur la nature pour ses besoins de base : nourriture, abri, habillement et ses besoins médicaux. L'usage thérapeutique consistant à utiliser les vertus extraordinaires des plantes pour traiter les maladies humaines est très ancien et a évolué au cours de l'histoire humaine. "La médecine traditionnelle est la somme des connaissances, des compétences et des pratiques, fondées sur des théories, des croyances et des expériences propres à une culture, rationnelle ou irrationnelle, pour le maintien de la santé humaine et la prévention, le diagnostic, le traitement et la guérison des maladies physiques et mentales ».

La survie humaine dépend en grande partie des plantes, car trois de ces acides gras importants ne se trouvent que dans les plantes (**Gomes et al., 1998**). Aujourd'hui, les plantes trouvent leur place dans notre quotidien alors que nous rejetons les effets secondaires de certains puissants médicaments modernes(**Gomes et al., 1998**).

Le criblage de sources naturelles pour de nouveaux agents pharmacologiquement actifs a conduit à la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle important dans le traitement de nombreuses maladies humaines (**Trigg, 1996**).

La recherche de nouvelles molécules dans la biodiversité végétale doit se faire à partir de données ethnopharmacologiques. Cette approche permet la sélection de plantes potentiellement actives et augmente significativement le nombre de découvertes de nouveaux principes actifs.

Plus de 5 millions de personnes dans le monde sont traitées par la phytothérapie, soit une augmentation d'environ 15% chaque année : 40% des médicaments sont à base de principes actifs d'origine végétale(**Fintelmanny et Fweise, 2004**).

L'Algérie possède une riche diversité floristique associée à des siècles d'utilisation traditionnelle des plantes. Il existe environ 3000 espèces végétales dont 15% sont endémiques (**Cockcroft et al., 1998**). Ce potentiel de plantes médicinales comprend des milliers d'espèces d'intérêts variés et constitue l'axe de la recherche scientifique, notamment dans le domaine des substances naturelles

De nombreuses myrtacées ont été introduites en Algérie comme arbres d'ornement ou pour le reboisement. C'est notamment le cas des eucalyptus (**Quézel et Santa, 1963**). Le

genre *Eucalyptus* comprend au moins 600 espèces, réparties dans le monde entier (**Hurtel, 2001**).


L'objectif de notre travail de mémoire extraction et évaluation des propriétés bioactives de la plante *Eucalyptus globulus*., par la recherche des composés qui peuvent trouver une utilisation thérapeutique. Pour cela, une plante, de la famille myrtaceae, a fait l'objectif d'une étude phytochimique : *Eucalyptus globulus*.

Notre travail de recherche comporte deux parties :

La première partie se compose d'une étude bibliographique avec trois chapitres :

- Présentation d'étude d'*Eucalyptus globulus*;
- Métabolisme secondaire ;
- Activités biologiques, l'activité antioxydants et antibactériennes.

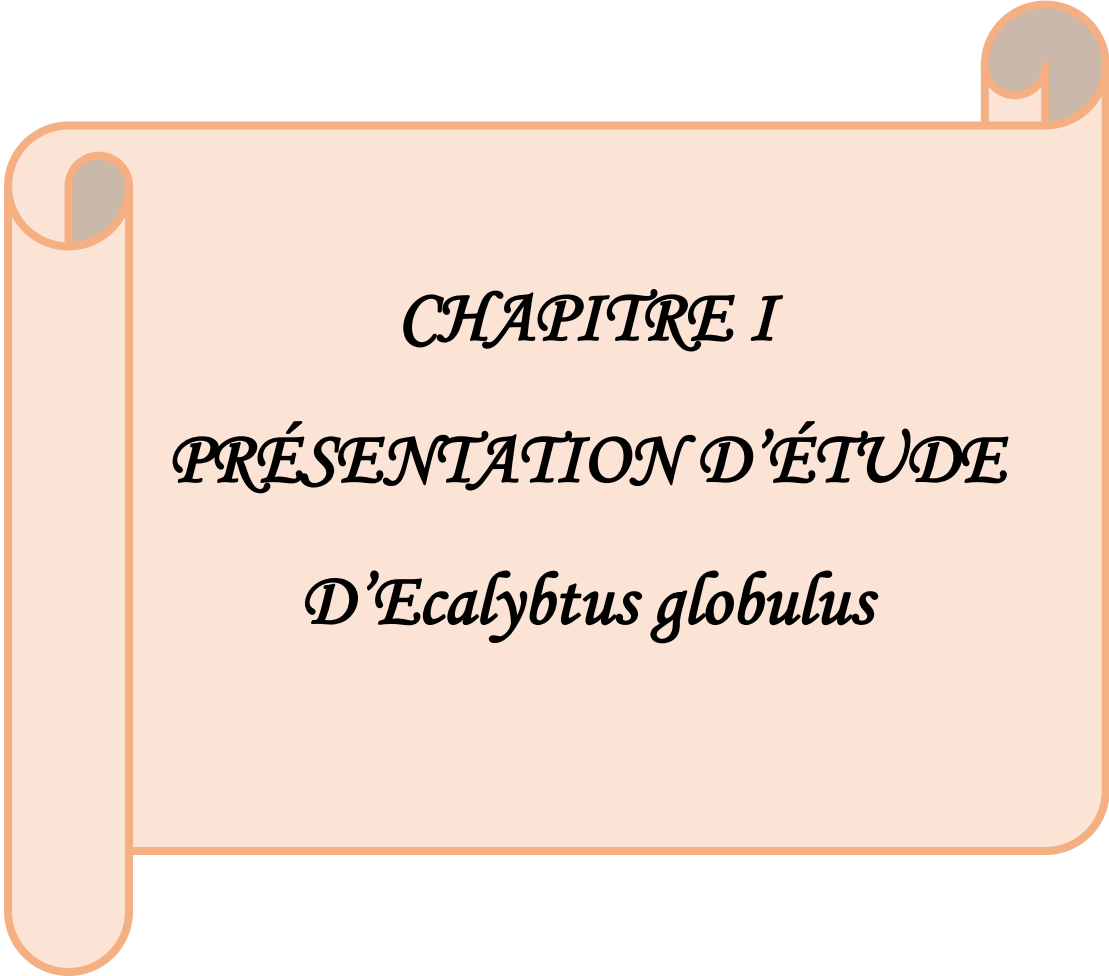
La deuxième partie présente les matériels et les méthodes d'extraction des composés phénoliques et les huiles essentielles qui ont été utilisés dans notre travail. Et l'évaluation de leurs activités antioxydantes et antibactériennes et présentation des résultats obtenus et leurs discussions. En fin, une conclusion générale comporte les principaux résultats obtenus.



PARTIE 01

RECHERCHE

BIBLIOGRAPHIQUE



CHAPITRE I
PRÉSENTATION D'ÉTUDE
D'Eucalyptus globulus

Chapitre I

I.1. La famille des Myrtaceae :

I.1.1. Généralités

La famille de myrtaceae est l'une des principales familles d'arbres fruitiers commerciaux au monde parmi les 121 genres appartenant à cette famille, les genres *Syzygium*, *Eugenia* et *Compomnesia* (de Paulo Farias et al., 2020).

De nombreux arbres et arbustes importants appartiennent aux myrtacées (Symposium, 2012).

Beaucoup d'espèces de cette famille possèdent des propriétés thérapeutiques et sont utilisées en médecine Traditionnelle (Rabiai, 2014).

I.1.2. Répartition de la famille des Myrtaceae:

Les genres du Myrtaceae se trouvent dans la majeure partie de l'hémisphère sud et dans certaines parties de l'hémisphère nord, avec des centres de diversité générique en Australie et en Amérique du sud, d'autres genres du Myrtacées se trouvent en Asie du Sud-Est et dans certaines parties de l'Afrique, avec quatre genres dans le sud de l'Amérique du Nord et un genre dans le sud de l'Europe (Thornhill et Crisp, 2012).

La famille était considérée comme naturellement divisible en deux sous familles, les Myrtoideae à fruit charnus et les Teptospermoideae (Wilson et al., 2001).

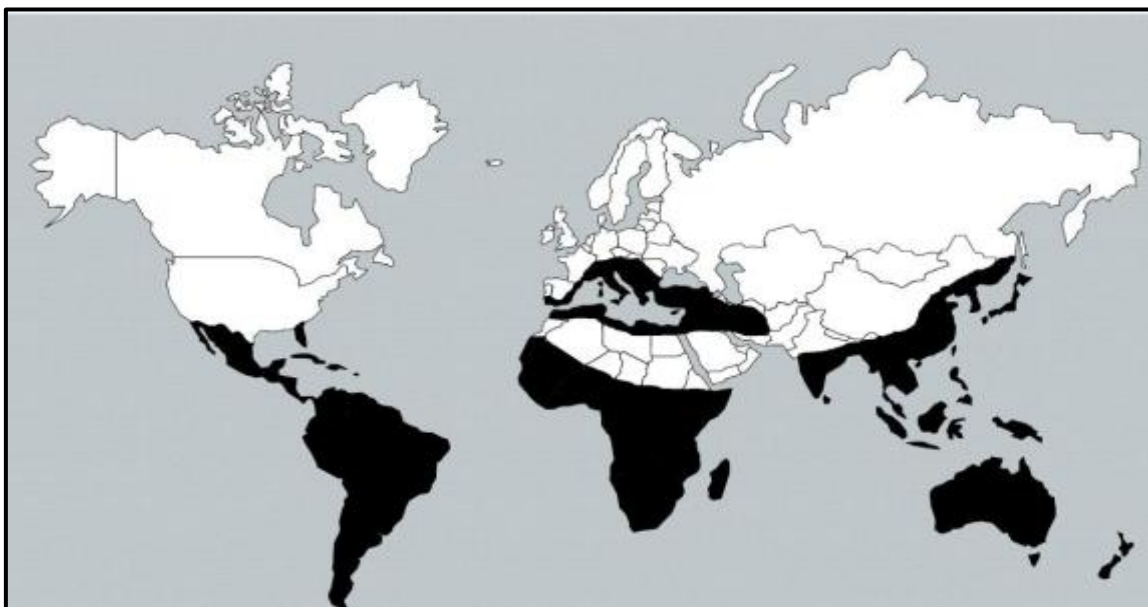


Figure 1: aire de répartition des myrtacées dans le monde (Bouzabata, 2015).

I.1.3. Description botanique des Myrtacées :

Plusieurs espèces de Myrtacées intéressent le pharmacien par leurs essences contenues dans des poches sécrétrices schizogènes, ces poches résultent de la multiplication puis de l'écartement des cellules à l'origine de la poche (Dupont, 2015).

Fruit : le fruit se forme sous le réceptacle fleuri et se divise en baies en capsule coriace (Merialdo et Flavio, 2016).

Feuilles : sont entières, coriaces, le plus souvent opposées parfois alternes (Chabert, 2014).

Les racines : possèdent des mycorhizes ectotrophes.

Les tiges : ont des cavités sécrétrices (plante systématique) phloème interne et piqures habillées sur les vaisseaux du système (Wilson et al., 2001).

Les fleurs : sont bisexuées, actinomorphes, bractées, épipérygines, rarement pérygines.

Le périanthe : sont distincts ou connés fusionnés en un calyptre en forme de couvercle (operculum) chez certains eucalyptus.

La corolle : est constituée de 4-5 pétales.

Les étamines : sont centripètes, distinctes ou connés en 4 ou 5 groupe.

Les anthères : sont loculicides ou porcidés en déhiscence.

Le gynécée : est syncarpe, avec un ovaire infère (Michael, 2016).

L'ovaire : infère se transforme en baie (Goyave, Myrte), soit en capsule (Eucalyptus, Niaouli) (Dupont, 2015).

Les ovules : sont anatropes ou campylotropes, bitegmiques ou unitegmiques (Michael, 2016).

La formule florale est : $4 - 5S + 4 - 5P + n E + 2 - 5C$ avec S= sépales, P= pétales, E= étamines, C= carpelles (Spichiger et al., 2004).

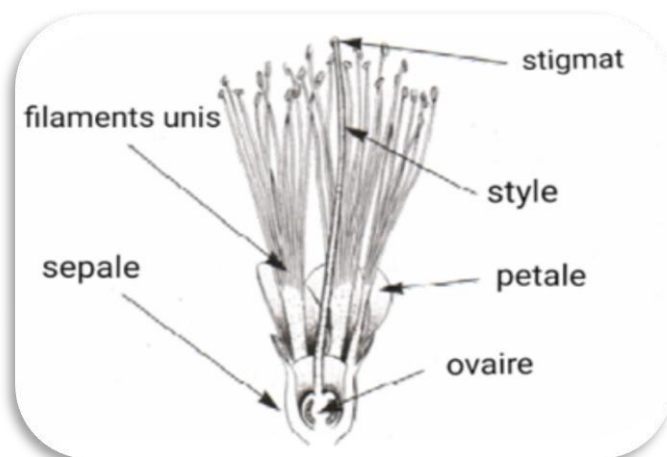


Figure 2 : Coupe transversale de fleur du myrtacé (Merialdo et Flavio, 2016).

I.2. Le genre *Eucalyptus* :

I.2.1. Origine et définition :

Le terme *Eucalyptus* dérive du mot grec "Eu" et "kalyptus" : couvercle ou opercul (Sakina, 2009).

La conception populaire de la découverte de l'*Eucalyptus* se rapporte aux voyages du capitaine James Cook dans l'Endeavour dans les années 1770 (Coppen, 2002). Le genre *Eucalyptus* contient plus de 750 espèces (*Eucalyptus gigantea*, *Eucalyptus diversifolia*, et *Eucalyptus globulus*, etc..) (Bergfeld et al., 2018).

Le genre de l'*Eucalyptus* qui définit sept sous genres (*Corymbia*, *Blakella*, *Eudesmia*, *Gaubeae*, *Idiogenes*, *Monocalyptus* et *Symphyomyrtus*) (Marque, 2008).

Un grand nombre de espèces du *Eucalyptus* ont été introduites en Algérie, notamment par M Cordier de 1864 à 1876 (Trabut, 1914). Les premiers planteurs étaient des missionnaires d'origine Européenne, ils l'ont exploité dans le but d'assainir les terrains marécageux où pullulaient les anophèles et les moustiques qui sont vecteurs d'une maladie parasitaire endémique: le paludisme (Aït Youssef, 2006).

I.3. L'espèce *Eucalyptus globulus* :

Est une espèce à feuilles larges à croissance rapide avec une forte capacité d'adaptation (Pan et al., 2020), a été découverte dans les îles de Tasmanie en 1792 par des explorateurs français (André, 1863) d'origine Australie, Brésil, Espagne (Press, 2013).



Figure 3: *Eucalyptus globulus* (photo réelle)

I.3.1. Description *Eucalyptus globulus*:

- Les feuilles d'*Eucalyptus globulus* sont une composante importante du genre *Eucalyptus* (Pan et al., 2020), dégagent un parfum agréable et distinct (Azzazy, 2016), présente des structures sécrétrices endogènes sous forme de cavité, ce sont des proches sécrétrices sphériques schizogènes qui sont nombreuses et actives (Taleb-Toudert, 2015).
- Les boutons floraux, en forme de toupie, sont côtelés et recouverts d'un opercule aplati portant un bouton central (Boukhatem et al., 2017).
- Les grains de pollen sont de forme triangulaire aplatie oblique - convexe en vue pélaire (Azzazy, 2016).
- La tige lisse et parfaitement droite, garnie du haut en bas de rameaux décussés (André, 1863).
- Les rameaux sont assez robustes anguleux, singulièrement tétragones et blanchâtres dans les pousses nouvelles (Patil et Nitave, 2014).
- Le fruit, une capsule ligneuse en forme de 15 mm (Bruns et al., 1990), largement sommitales ou arrondies, noir terne (Orwa et al., 2009), turbiné anguleux (Luis et Moncayo, 2002).
- Le tronc, dont les lames corticales extérieures sont souvent tachées, est lisse et cendre, quelquefois entouré à la base d'ancienne écorce fibreuse (Patil et Nitave, 2014).
- Les filets des étamines sont allongés, les anthères subovales (Emmanuel – Claud, 1872).
- Principaux arbres cultivés dans les plantations d'*Eucalyptus* des régions tempérées du monde (Hingston, 2002).

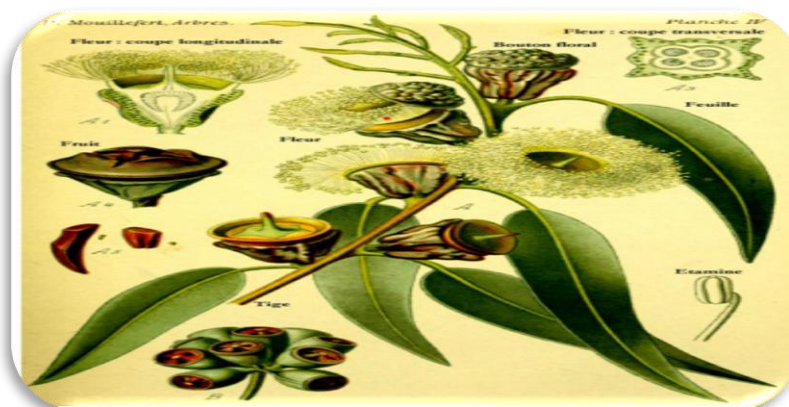


Figure 4: Fleur et feuille et fruit d'*Eucalyptus globulus* (Boukhatem et al., 2017).

I.3.2. Position systématique d'*Eucalyptus globulus*:

La classification taxonomique de l'*Eucalyptus globulus* est se suivant selon : (Quezel et santa, 1963)

Règne : plantae
 Emprenchement: Spermaphyte
 Sous emprenchement : Angiosperme
 Classe : dicotylidones
 Sous classe : Rosidae
 Ordre : Myrtales.
 Famille : Myrtaceae.
 Gene : *Eucalyptus* .
 Espèce : *Eucalyptus globulus*

I.3.3. Le nom commun *Eucalyptus globulus* :

Tableau 1:Le nom commun *Eucalyptus globulus* (Ivan A, 2001).

Nom	Pays
Calipso	Italy
<i>Eucalyptus</i>	Tunisia
<i>Eucalyptus</i>	Australia

I.3.4. Répartition géographique de espèce *Eucalyptus globulus* :

Principaux arbres cultivés dans les plantations d'*Eucalyptus* des régions tempérées du monde (Hingston, 2002) , originaire du sud – Est de l'Australie, mais il est cultivé dans le monde entier pour les bois à pâte et le bois (Jones et al., 2011), sa distribution indigène comprend Victoria, sur le continent australien. Il de Tasmanie et plusieurs îles du droit de Bass (Steane et al., 2006), se nos jours, il est largement cultivé en Europe, en Afrique du sud, l'Espagne est le pays qui compte le plus de plantations d'*Eucalyptus*, couvrant environ 0.6 million d'hectares (Puig et al., 2019).

I.4. Définition de la phytothérapie :

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : *phuton* et *therapeia* qui signifient respectivement "plante" et "traitement" (**Jean-Yves, 2018**).

La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe (**Jean-Yves, 2018**).

C'est donc une technique de soins qui utilise les plantes pour venir à bout des causes et symptômes de diverses maladies. C'est l'une des plus anciennes thérapeutiques (**Gayet, 2013**).

La médecine par les plantes, autrement appelée phytothérapie (**Verbois, 2015**)

La phytothérapie est l'utilisation de plantes à des fins thérapeutiques (**Jorite, 2015**).

Un autre terme couramment rencontré est "médecine à base de plantes" ou "médecine botanique", selon la préférence de la Food and Drug Administration (FDA).

Cette définition fait référence à l'utilisation de plantes ou de substances végétales en tant qu'agents médicinaux, tout comme les termes "herbe", "drogue végétale" et "remède à base de plantes" (**Capasso, 2003**).

I.4.1. Usage thérapeutique d'*Eucalyptus globulus*:

✓ Usages antimicrobiens:

De par sa richesse en huiles essentielles et en polyphénols, l'eucalyptus peut être considéré comme un antibiotique naturel pour le traitement des maladies bronchopulmonaires: grippe, toux, rhinopharyngite. (**Ficher et Dethlesfen, 2013 ; Haddad et al., 2016**). L'eucalyptus est recommandé comme antifongique pour le traitement de la candidose (Zhou et al., 2016) (sur le cuir chevelu, il élimine les poux et divers parasites chez l'homme et les animaux, vermifuge et soigne les piqûres (**Luis et al., 2016**)).

✓ **Usages anti-inflammatoires :**

Grâce à ses principes actifs : cinéole, thymol, flavonoïdes, l'eucalyptus peut être utilisé pour traiter certaines inflammations : troubles gastro-intestinaux. Il stimule les villosités qui recouvrent les voies nasales (**Fabre et al., 1992**).

✓ **Propriétés médicinales d'*Eucalyptus globulus*:**

L'huile d'*Eucalyptus globulus* a un effet rafraîchissant indéniable sur la température corporelle.

Ceci est un réducteur de fièvre.


Il est utilisé dans de nombreuses spécialités pharmaceutiques

Respirez les vertus sur l'arbre.

Il favorise la dissolution et l'élimination du mucus bronchique (baumes, plus mince, expectorant), combat les infections bactériennes et virales.

Antiseptique des voies urinaires, il possède également des propriétés antirhumatismales, irritantes et Inspirant.

De plus, c'est un excellent antibiotique naturel (**Tesche et Metternich, 2008**).



CHAPITRE II
MÉTABOLISME
SÉCONDAIRE

Chapitre II

Métabolismes des végétaux :

Le métabolisme est un processus très dynamique. Les molécules se renouvellent sans cesse, la composition d'une cellule à un instant donné est un équilibre entre synthèse et dégradation. La majeure partie de la synthèse est dirigée vers la production de molécules importantes pour la structure et la fonction cellulaires. Chez les plantes, cependant, de grandes quantités de carbone et d'énergie sont allouées à la synthèse de molécules aux fonctions moins bien définies (**Hopkins, 2003**).

II.1. Métabolites primaires :

Nécessaires à la survie des plantes, présents dans toutes les cellules des organismes végétaux pour assurer leur survie, ils se répartissent en quatre grandes familles, à savoir les glucides, les lipides, les acides aminés (protéines) et les acides nucléiques.

II.2. Métabolite secondaire :

Le terme «métabolite secondaire» a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891 pour décrire une variété de composés chez les plantes qui sont responsables de fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie végétale, telles que la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques (**Berkal et Bouchama, 2016**).

Classification des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois groupes principaux: les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes contient un groupe très diversifié de composés avec un très large éventail d'activités en biologie humaine (**Krief, 2003**).

II.2.1. Les composés azotés :

II.2.1.1. Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles principalement dérivées de plantes, qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique et ont des propriétés de base à des degrés divers. Depuis l'identification du premier alcaloïde, le

Morphine - Plus de dix mille alcaloïdes ont été isolés à partir de plantes, à commencer par l'opium en 1806.

Les alcaloïdes sont principalement extraits de plantes à fleurs, mais existent également chez quelques animaux et sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de diverses voies de biosynthèse.

Les alcaloïdes sont présents dans toutes les parties de la plante, mais selon les espèces végétales, ils s'accumulent uniquement dans l'écorce, les racines, les feuilles **(Mauro, 2006)**.

a. Classification des alcaloïdes :

Véritables alcaloïdes : ils proviennent des acides aminés. Et contient un atome d'azote dans le système hétérocyclique. Ces substances sont dotées d'une activité biologique énorme.

Les pseudo-alcaloïdes: La plupart des propriétés des vrais alcaloïdes, mais pas des dérivés d'acides aminés.

Proto-alcaloïdes: sont des amines simples dont les azotes ne sont pas inclus dans le système hétérocyclique ; ils ont des caractéristiques essentielles et sont produits dans l'organisme à partir d'acides aminés. Elles sont communément appelées « amines biogènes » et sont solubles dans l'eau **(Badiaga, 2011)**.

b. Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes :

Le poids moléculaire des alcaloïdes est très variable : de 100 à 900 Daltons, et certains peuvent atteindre 1000 g/mol. Ce sont généralement des solides cristallisables, rarement colorés, et la plupart ont la capacité de tourner. Certains sont liquides à température ambiante, et ce sont des composés aux propriétés basiques. Ils forment des sels avec des acides inorganiques ou organiques. Leur solubilité dans différents solvants varie selon le pH, c'est-à-dire selon leur état **(Bruneton, 2009)**.

Les alcaloïdes ont des propriétés biologiques bénéfiques dans le traitement de diverses maladies ou dysfonctionnements du corps humain. La cocaïne est un alcaloïde utilisé comme anesthésique local depuis l'Antiquité **(Mohammedi, 2013)**.

Les alcaloïdes forment une grande famille très hétérogène de métabolites secondaires d'intérêt de par leurs propriétés pharmacologiques et leurs applications en médecine ; leur point commun est leur solubilité dans l'eau **(Hopkins, 2003)**.

Les alcaloïdes ont des propriétés biologiques bénéfiques dans différents traitements.

II.2.2. Composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont un groupe hétérogène de composés dérivés du métabolisme secondaire des plantes. Structuellement, les composés phénoliques ont au moins un cycle aromatique dans lequel un ou plusieurs groupes hydroxyle sont attachés à une structure aromatique ou aliphatique .(Figure 5) (Ambriz-Pérez *et al.*, 2016).

Les polyphénols sont les constituants actifs de nombreuses plantes médicinales ; ils ont la capacité de moduler l'activité de nombreuses enzymes et de certains récepteurs cellulaires (Sumner *et al.*,2005), ce sont de puissants antioxydants qui complètent et augmentent la fonction des vitamines et des enzymes antioxydantes pour la défense contre le stress oxydatif de l'oxygène (ROS) causée par une réaction excessive. Le représentant le plus simple de cette classe est le phénol (Tsao, 2010;González Mera *et al.*, 2019).

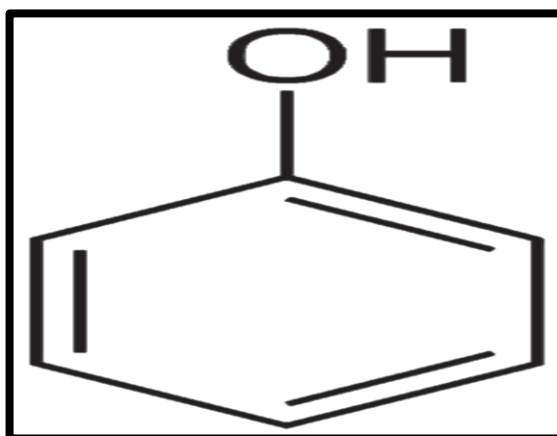


Figure 5:Structure chimique du phénol (Sobiesiak, 2017).

II.2.2.1. Classification des composée phénoliques:

Les polyphénols sont divisés en plusieurs catégories en fonction du nombre de cycles phénoliques qu'ils contiennent et des éléments structurels qui maintiennent ces cycles ensemble.

Les principales classes de polyphénols sont : les flavonoïdes, les acides phénoliques, les alcools phénoliques, le stilbène et les lignanes (D'Archivio, 2007).

a. Les flavonoïdes:

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, considérés comme des pigments végétaux quasi universels (Marfak, 2003).

La structure chimique de base des flavonoïdes (Figure 02) contient deux cycles benzéniques (A et C) sont liés par le cycle pyrane (B). Un cycle benzénique (A) est fusionné au cycle pyrane, tandis que l'autre cycle benzénique (C) est attaché au cycle pyrane en tant que substituant (Ayaz et al., 2019).

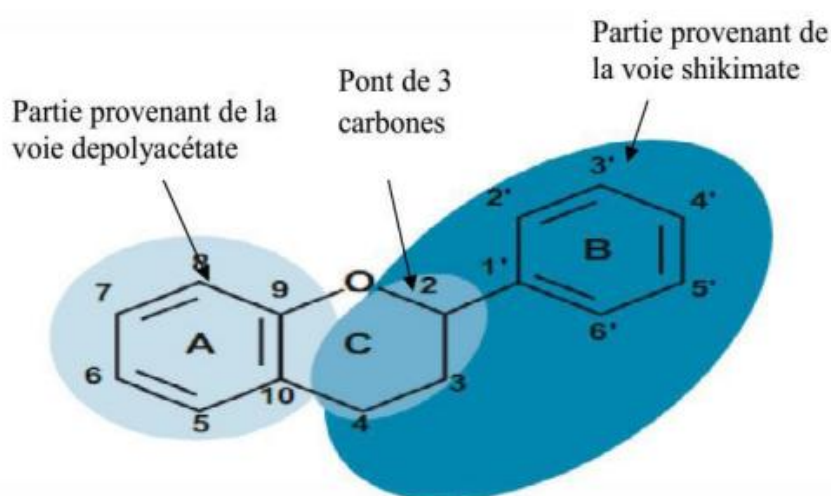


Figure 6:Structure de base des flavonoïdes (Karak, 2019).

✓ Structure des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont un terme général désignant des composés basés sur un squelette à 15 carbones qui forme deux cycles benzéniques en C6, les cycles A et B, reliés par un pont à trois carbones (structure C6-C3-C6). Ce dernier est situé entre les cycles A et B et est généralement cyclisé pour former le cycle C (le cycle central). Les atomes de carbone dans les cycles C et A sont numérotés de 2 à 8, et les atomes de carbone dans le cycle B sont numérotés de 2' à 6' (Bruneton, 1999).

✓ Classification des flavonoïde:

Les flavonoïdes et les flavonols sont les composés flavonoïdes les plus répandus, tandis que les flavanones, les flavanols, les chalcones et les anthocyanes sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires en raison de leur distribution naturelle limitée (Rahmani, 2017).

✓ Propriétés biologiques et Pharmacologies des flavonoïdes :

Les propriétés fondamentales des flavonoïdes sont leurs propriétés antioxydantes, qui assurent des fonctions biochimiques particulièrement intéressantes pour notre santé. Les flavonoïdes ont la capacité de capter les radicaux libres tels que les radicaux superoxyde, peroxyde ou hydroxyle par transfert d'hydrogène, qui sont ce que notre corps réagit aux agressions de l'environnement (cigarettes, polluants, infections, etc.) produits pour favoriser le vieillissement cellulaire. renforcer nos défenses naturelles en protégeant les composants tissulaires (Zakri, 2017). L'activité principale des flavonoïdes est les propriétés de la vitamine P.

Potentiel d'activité veineuse, ils diminuent la perméabilité des capillaires et augmentent leur résistance. Généralement anti-inflammatoires, les flavonoïdes peuvent être anti-allergiques, hépatoprotecteurs, antispasmodiques, hypocholestérolémiant, diurétiques, antibactériens, Médicaments antiviraux et quelques cytostatiques in vitro. Ce sont aussi des piègeurs de radicaux libres.

Généralement, les flavonoïdes sont des inhibiteurs enzymatiques de l'histidine décarboxylase, de l'élastase, de l'hyaluronidase et de l'AMPc phosphodiesterase (ObemEngonga, 2009).

b. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques à haut degré de polymérisation et de haut poids moléculaire (500 et 3000 Daltons). La caractéristique la plus frappante des tanins est leur capacité à former des complexes (par précipitation) avec des polymères naturels tels que les protéines et les polysaccharides (Rubenza et al., 2005).

Les tanins sont généralement divisés en deux catégories : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (CIEA, 1989).

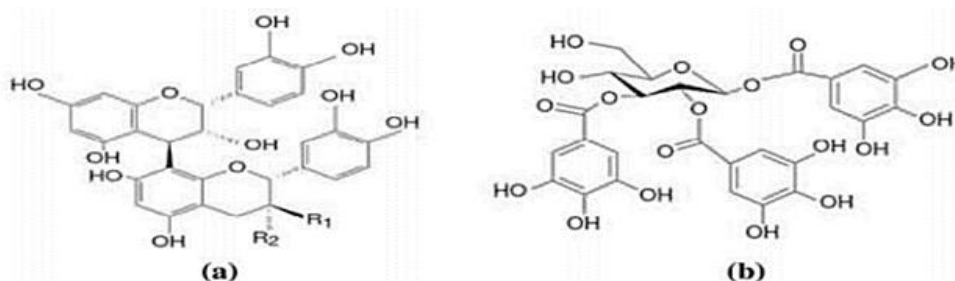


Figure 7: Structures chimiques (a) d'un tanin condensé et (b) d'un tanin hydrolysables (Favier, 2003).

c. Les Stilbènes :

Le stilbène est un composé phénolique de structure C6-C2-C6, avec deux noyaux benzéniques reliés par un pont vinylique. Ils sont produits par les plantes en réponse à une attaque fongique, bactérienne ou virale. On les trouve dans les bryophytes, les ptéridophytes les gymnospermes et les angiospermes (**Landrault et al., 2002**)

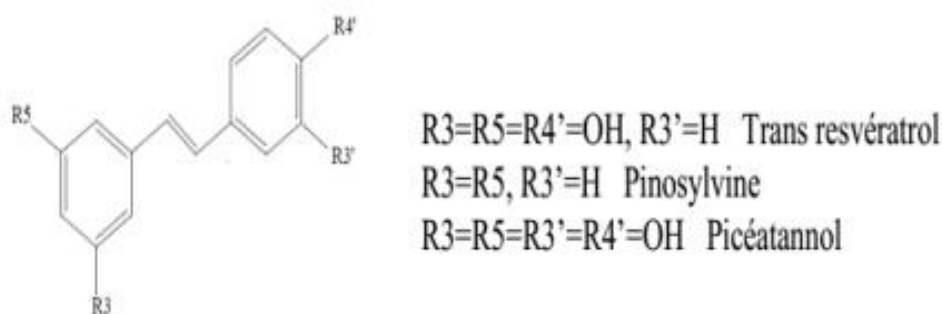


Figure 8:Structure des stilbènes (**Saffidine, 2015**)

d. Les lignanes :

Les lignanes résultent de la condensation d'unités phénylpropane. Quatre groupes peuvent être considérés : les lignanes (liaisons entre deux carbones bêta d'une chaîne latérale à deux unités dérivée du phénylpropane), les néolignanes (un seul carbone bêta est impliqué), les "oligomères", (condensation de 2 à 5 unités phénylpropane), et enfin les norlignans à squelette C17. Les néolignanes se trouvent principalement dans les espèces primitives (Magnolia, Piperine), alors que les lignanes se trouvent généralement dans le bois des gymnospermes et le tissu lignifié des angiospermes (**Sabrina, 2003**).

e. Coumarines

La coumarine est également un dérivé C6-C3 et appartient au groupe de composés connus pour être les benzo- α -pyrones, toutes substituées en position 7 par un groupe hydroxyle. Ils existent dans la nature libres ou liés aux sucres. Ils sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (**Benmiloud, 2014**).

La plupart des coumarines et leurs dérivés ont fait l'objet d'études approfondies pour évaluer leur impact sur la santé humaine, et des études ont montré qu'elles sont anti-VIH, antitumorales, anticancéreuses, antibactériennes, anti-inflammatoires (**Feryel, 2015**).

e.1. Classification de coumarine:

✓ Coumarines Simples

La coumarine simple est la plus répandue dans le règne végétal, avec des substitutions en 6 et 7 (OH ou OCH₃). Cette classe a deux sous-classes, les génines et les hétérosides (**Harkati, 2011**).

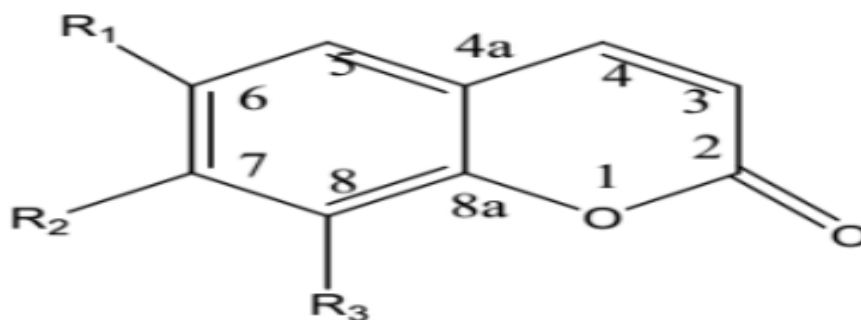


Figure 9: Structure de coumarine simple.

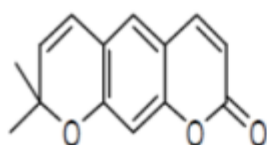
✓ Furanocoumarines

Les furanocoumarines (appelées aussi furocoumarines) constituent une famille de composés synthétisés par certaines espèces végétales supérieures, principalement issues des Ombellifères, par condensation avec l'acide isovalproïque en C5, et sont généralement liposolubles, on désigne : - Furocoumarines linéaires : issues du psoralène molécule

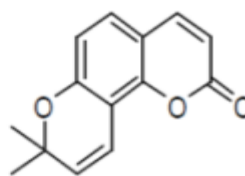
- **Les Furanocoumarines linéaires** : dérivant de la molécule de psoralène
- **Les Furanocoumarines angulaires** : basées sur la structure de l'angélicine.

✓ Pyranocoumarines

Les pyranocoumarines des Composés formés par la fusion d'un hétérocycle pyrane avec la coumarine, soit dans le prolongement (forme linéaire) comme le xanthylétine ou latéralement (forme angulaire) comme les séséline, visnadine (**Harkati, 2011**).



Xanthylétine



Séséline

Figure 10: Structures de quelques pyranocoumarines (**Harkati, 2011**).

- ✓ **Tricoumarines (coumarines trimériques)**
- ✓ **Tricoumarines (coumarines trimériques)**

Ce sont des composés issus de l'union de trois entités coumariques.

- ✓ **Les dicoumarines**

Les dicoumarines sont des composés formés par la liaison de deux unités coumariniques Simples.

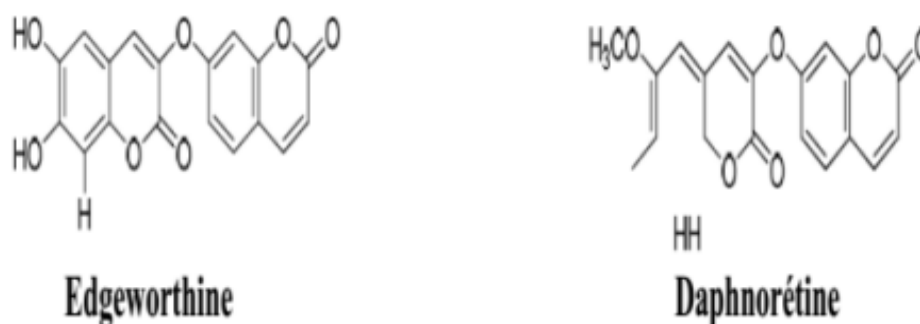


Figure 11: Structures des quelques dicoumarines (Harkati, 2011).

II.2.3. les terpenoïdes et Huiles essentielles:

II.2.3.1. Définition:

La norme AFNOR NF T 75-006 définit les huiles essentielles comme « les produits obtenus à partir de matières premières végétales par entraînement à la vapeur ou hydrodistillation ». L'OE est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques tels que la décantation ou en utilisant des solvants plus volatils que l'eau (éther diéthylique, pentane, etc) (Ngakegni-Limbili, 2012).

II.2.3.2. Localisation dans la plante:

Les huiles essentielles sont présentes dans de minuscules glandes dans différentes parties des plantes aromatiques : feuilles, fleurs, fruits, graines, écorce et racines de certaines plantes (Makhloufi, 2013). Les glandes sécrétoires sont réparties dans toute la plante et sont rares sur les faces supérieures des feuilles et des tiges, un peu plus sur la face inférieure des feuilles, mais sont particulièrement abondantes sur le calice des fleurs. La formation d'HE dans les plantes est le résultat de multiples réactions biochimiques, dont certaines ne sont pas encore clarifiées. Elles prennent naissance dans des appareils sécréteurs qui ont une forme variée (Djarri, 2011).

II.2.3.3. Caractéristique physico-chimiques des huiles essentielles:

Composition chimique des huiles essentielles. Les HE sont des substances composées de mélanges complexes de composés volatils, caractérisés par leur poids moléculaire inférieur à 300 Daltons et leur hydrophobicité (Sell, 2010). Il y a plus d'un millier de constituants chimiques dans les huiles essentielles (Belaiche., 1979).

On distingue selon leurs voies de biosynthèse : deux grandes classes de volatils, à savoir les terpénoïdes et les phénylpropanes :

Il existe des terpénoïdes (hydrocarbures)

✓ Monoterpènes

Elles sont constituées de deux unités isoprène (C10) couplées et constituent 90% des huiles essentielles aux structures variées (Bakkali et al., 2008), et elles ont de multiples fonctions (Belaiche., 1979).

✓ Sesquiterpènes

Ils sont assemblés à partir de trois unités d'isoprène (C15), mais leur structure et leur fonction sont similaires aux monoterpènes (Bakkali et al., 2008).

✓ Diterpènes (C20) et les triterpènes(C30)

Ce sont les molécules les plus couramment rencontrées dans les huiles essentielles.

Il faut souligner que seuls les terpènes de bas poids moléculaire (monoterpènes et sesquiterpènes) se retrouvent dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999), leur conférant des propriétés volatiles et olfactives (Pibiri, 2006).

✓ Les Phénylpropanes :

sont des métabolites volatils biosynthétisés à partir d'acides aminés aromatiques tels que la phénylalanine et la tyrosine, qui sont souvent caractérisés par la présence d'un groupe hydroxyle attaché à un cycle benzénique (Petersen et al., 2010).

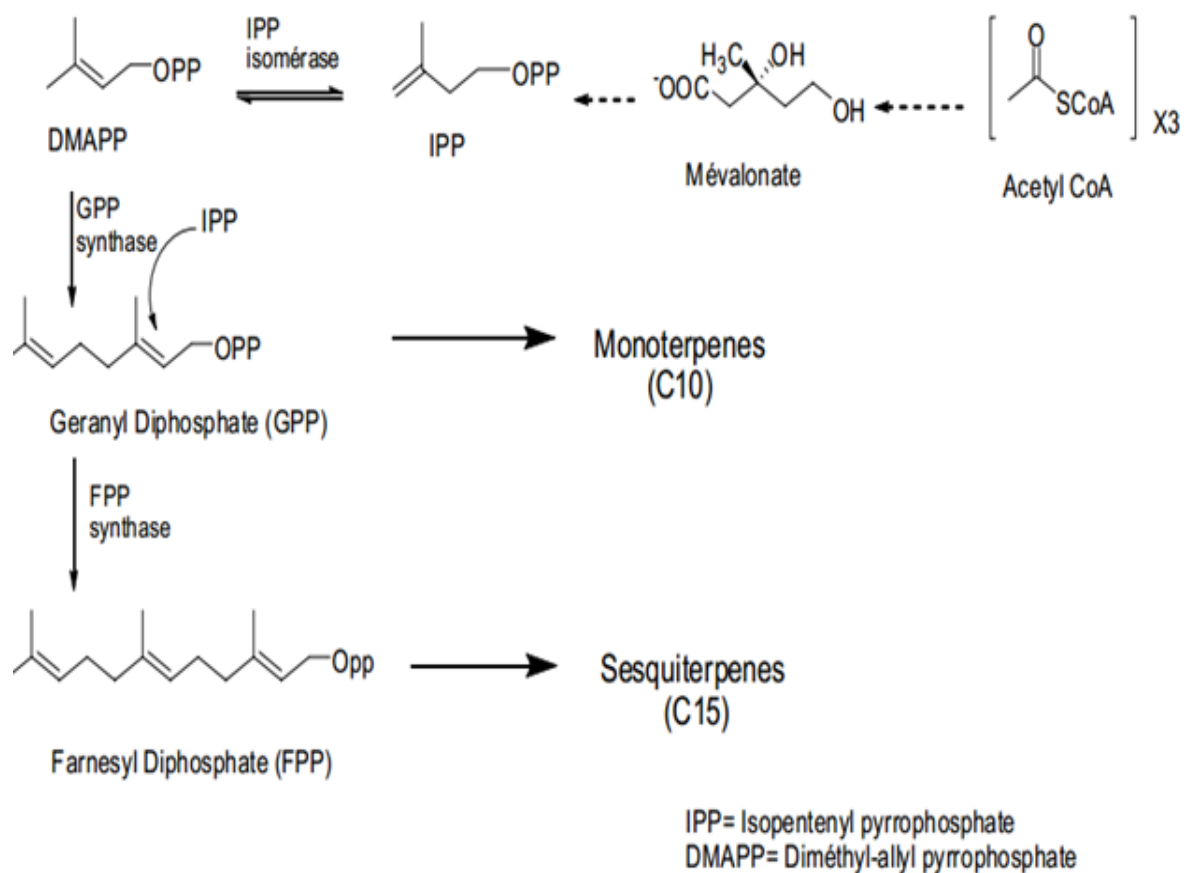


Figure 12: Biosynthèse des principaux constituants métaboliques des huiles essentielles.



CHAPITRE III

ACTIVITÉ

BIOLOGIQUE

Chpitre III

Activité biologique :

L'activité biologique des huiles essentielles est liée à leur composition chimique, aux groupes fonctionnels de la plupart des composés (alcools, phénols, terpènes et cétones) ou à ceux qui peuvent être actifs. Cependant, cette activité peut également dépendre d'un petit nombre de composés agissant de manière synergique (**Brut et al., 2004; Lahou, 2004**).

III.1. Activité antioxydant :

Les antioxydants sont définis comme toutes les substances qui peuvent retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, qui sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres pour les rendre inoffensifs. La capacité antioxydante des huiles essentielles est étroitement liée à toute teneur en phénol (**Anoosh et al., 2010**).

III.1.1. Stress oxydatif :

Ainsi, le stress oxydatif serait défini comme un déséquilibre entre la formation d'espèces réactives de l'oxygène aux propriétés pro-oxydantes et la régulation de leur production d'antioxydants en faveur des premières (**Halliwell et Aruoma, 1993 ; Azzi et al., 2004; Soares, 2005 ; Valavanidis et al., 2006 ; França et al., 2007**).

Le stress oxydatif est le résultat d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et la perturbation des systèmes de défense antioxydants (**Hamadi, 2010**).

III.1.2. Radicaux libres :

Un radical libre est une espèce chimique qui transporte un ou plusieurs électrons non appariés dans son enveloppe externe (**Carange, 2010**). Cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants pour tenter de capturer les électrons nécessaires pour gagner en stabilité, lorsque des radicaux libres apparaissent, la chaîne commence à attaquer la molécule stable la plus proche en arrachant des électrons, et la molécule attaquée elle-même devient Radicaux libres (**Martinez, 1995**).

Ces radicaux libres sont indispensables à la vie car ils participent à de nombreuses fonctions physiologiques de croissance ou de défense de l'organisme. En effet, ils interviennent dans le fonctionnement de certaines enzymes, la transduction des signaux cellulaires, la défense immunitaire contre les pathogènes, la différenciation cellulaire, La fonction de certains neurones, la fécondation de l'ovule. D'autre part, la production

excessive de radicaux libres peut endommager directement diverses biomolécules, à savoir l'ADN, les protéines et les lipides, et l'organisme devra se protéger de ces dommages excessifs par divers systèmes antioxydants (**Favier, 2003**).

III.1.2.1. Les différentes espèces radicalaires :

Les composés chimiques dérivés de l'oxygène représentent la classe la plus importante de ces espèces générées dans les systèmes vivants et parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (OH^-), le monoxyde d'azote (NO^-), le radical peroxyde (ROO^-) et le radical alkoxy (RO^-), les autres radicaux libres dits radicaux secondaires telles que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier, 2003**).

III.1.3. Différent types des antioxydants :

III.1.3.1. Les antioxydants endogènes (enzymatique) :

Les systèmes enzymatiques antioxydants sont principalement représentés par des protéines cellulaires dont la fonction principale est de maintenir un environnement intracellulaire réduit (99). Ce sont des enzymes ou des protéines antioxydantes qui sont produites par notre corps à l'aide de certains minéraux. Ils sont présents en permanence dans l'organisme mais augmentent en nombre avec l'âge (**Mika et al., 2004**).

✓ Le superoxyde dismutase (SOD):

accélère la dismutation de l'anion super oxyde en peroxyde d'hydrogène, il existe plusieurs iso enzymes de SOD ; SOD ferreux (Fe-SOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD) (**Piquet et Hebuterne, 2007**).

✓ Glutathion peroxydases

Les glutathion peroxydases sont localisées dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques ($ROOH$) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**Valko et al., 2007**).

✓ **Catalases**

Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes .Elle permet de convertir deux molécules de H₂O₂ en H₂O et O₂ (**Valko et al., 2007**).

✓ **La thiorédoxine (TRX)**

Cette enzyme a une structure similaire à la glutathion réductase. Il consomme également du NADPH en fonctionnement. En raison de ses propriétés de piégeage des radicaux libres, il protège contre une variété de stress oxydatifs. Les données biochimiques suggèrent que la thiorédoxine réduit le développement, la division cellulaire ou une protéine clé en réponse au stress oxydatif (**Reichheld et al., 2005**).

III.1.3.2. Les antioxydants exogènes (non enzymatique) :

Les antioxydants exogènes sont largement utilisés comme additifs pour prévenir le rancissement des aliments en raison de leur grande efficacité, de leur faible coût et de leur disponibilité aisée. Cependant, leur innocuité est controversée car ils nécessitent des recherches en tant que matériau alternatif basé sur des sources naturelles comme antioxydants alimentaires (**Wang et al., 2003**).

✓ **Vitamine C (acide ascorbique) :**

Empêche l'oxydation des LDL par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase). Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, il passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical acide ascorbique), qui joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E oxydée (**Chen et al., 2000**).

✓ **Vitamine E**

Il est bien établi que les radicaux libres des tocophérols sont régénérés par l'acide ascorbique, et sans cette synergie, les tocophérols sont inactifs (**Carr et al., 2000**). Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, après attaque radicalaire, l' α -tocophérol (α TocH), connu comme inhibiteur de la prolifération lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi les radicaux libres RO₂, constituant ainsi le seul liposoluble les antioxydants assurent cette protection (**Khalil, 2002**).

✓ **Oligoéléments**

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels contre le stress oxydatif. Ces oligo-éléments agissent comme cofacteurs pour maintenir l'activité catalytique des enzymes antioxydantes (**Garait, 2006**).

✓ **Les polyphénols**

Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation, les plus importants étant les flavonoïdes (**Médart., 2009**). Ils sont naturellement capables de le capter en disproportionnant l'oxygène singulet $1O_2$ et le radical anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2 (**Chen et al., 2000**). Selon (**Achat , 2013**) Les composés phénoliques exercent une activité antioxydante . Via plusieurs mécanismes:

- Le piégeage direct des ERO
- L'inhibition des enzymes génératrices d'ERO
- La chélation des ions de métaux de transitions, responsables de la production des ERO
- L'induction de la biosynthèse d'enzymes antioxydantes

III.1.4. Mécanismes d'action des antioxydants :

Les antioxydants ont divers mécanismes d'action, notamment le piégeage de l'oxygène exotique, l'inactivation des radicaux libres par des réactions covalentes, la réduction des radicaux libres ou des peroxydes et la chélation des métaux de transition. Catégorie:

Système de défense primaire : comme la catalase, le glutathion (GSH), ces antioxydants empêchent la production d'espèces réactives de l'oxygène en limitant le stade initial de la réaction oxydative. Ils jouent donc un rôle préventif :

Système de défense secondaire : Par exemple, les tocophérols sont capables de capter directement les radicaux libres oxydants et sont donc des antioxydants (destructeurs) de la chaîne radicalaire, bloquant ainsi les réactions de propagation (**Labiod, 2016**).

III.2. Activité antimicrobienne :

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont porté sur l'évaluation des propriétés antibactériennes et antifongiques des polyphénols, et à l'heure actuelle, cet effet est bien établi et démontré par de nombreuses études expérimentales. (**Ulanowska et al ., 2007**) ont étudié l'effet inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne. Ils ont montré que de

nombreux composés flavonoïdes (apigénine, kaempférol, etc.) ont des effets importants sur différentes souches bactériennes gram-négatives (*Escherichia coli*...) et gram-positives (*Staphylococcus aureus*...).

Moroh et al. (2008) ont démontré l'effet antibactérien d'un extrait d'acide acétique riche en alcaloïdes et flavonoïdes de *Morinda officinalis* contre 8 souches d'*Escherichia coli*, bactérie de la flore intestinale.

III.2.1. Activité antimicrobienne des polyphénols :

Les recherches scientifiques menées ces dernières années ont conduit à un intérêt croissant pour leur rôle potentiellement important dans le maintien de la santé humaine (**Malesev et Kunti, 2007**). Les flavonoïdes sont l'un des produits naturels les plus courants ayant une activité antimicrobienne à large spectre (**Xiao et al., 2014**). De nombreux flavonoïdes ont été isolés et identifiés comme ayant des activités antifongiques, antivirales et antibactériennes (**Cushnie et Lamb, 2005**).

III.2.2. Définition des bactéries :

Ce sont des procaryotes : leur ADN est contenu dans un seul chromosome qui n'est pas contenu dans le noyau. Les trois formes de base trouvées dans le sol sont les cocci (sphériques ou ovales), les bacilles et les bactéries spiralées. Les bactéries se reproduisent par division cellulaire, c'est-à-dire qu'une cellule se divise en deux et produit deux cellules qui se divisent, donc en (**Jeff et Wayne, 2008**).

III.2.3. Définition des antibiotiques :

Le terme « antibiotique » (du grec anti, signifiant « contre », bios, signifiant « vie ») a été créé à la fin du 19^{ème} siècle. Il désignait à l'origine toute substance qui présentait un "effet antagoniste" à de faibles concentrations contre l'organisme général. Au milieu du XX^e siècle, la définition était limitée à toute substance d'origine naturelle produite par des micro-organismes (généralement des bactéries ou des moisissures) capables d'inhiber la croissance ou de détruire d'autres micro-organismes. Depuis, de nombreuses molécules antibiotiques ont été synthétisées ou modifiées en laboratoire. Quelle que soit son origine, pour qu'une substance soit un antibiotique, deux caractéristiques importantes doivent être présentes : elle est efficace à faible dose et présente une toxicité propre à un groupe de micro-organismes ; elle est donc non toxique pour les cellules hôtes (**Chevalier, 2003**).

III.2.4. Description des bactéries étudiées :

III.2.4.1. *Bacillus subtilis*

Est une bactérie aérobie à Gram positif, sporogène, se présentant sous forme de bâtonnets généralement mobiles (Julien, 2002).



Figure 13: Vue sous le microscope électronique de *Bacillus subtilis*.

III.2.4.2. *Staphylococcus aureus* :

C'est une espèce de la famille de Micrococcaceae, constituée de cellules arrondies (cocci à gram positif) disposées en amas ou en grappes de raisin d'où le nom staphylos en grec (Berreghioua, 2016).

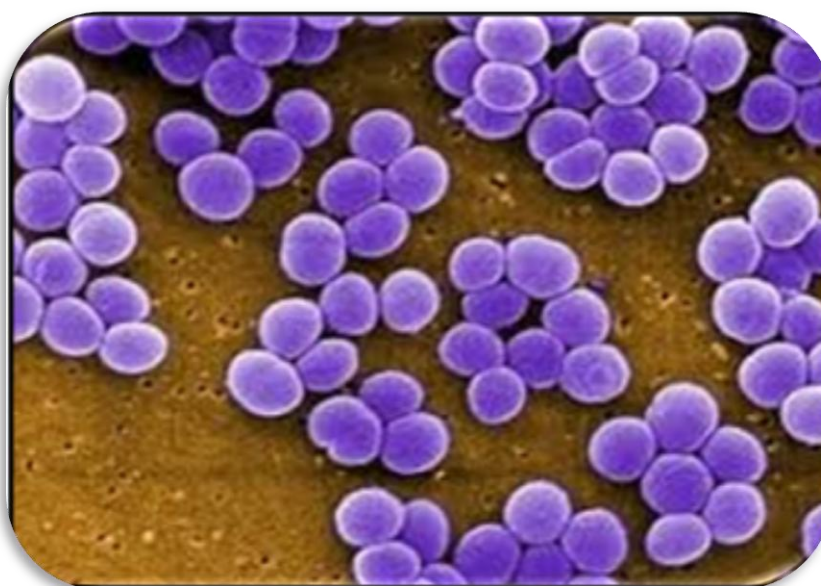


Figure 14: Vue sous le microscope électronique de *Staphylococcus aureus*.

III.2.4.3. *Pseudomonas aeruginosa*

C'est un germe appartenant au groupe des bacilles à Gram négatif, il pousse facilement sur les milieux usuels, cette espèce se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ces colonies (**Berregioua, 2016**).

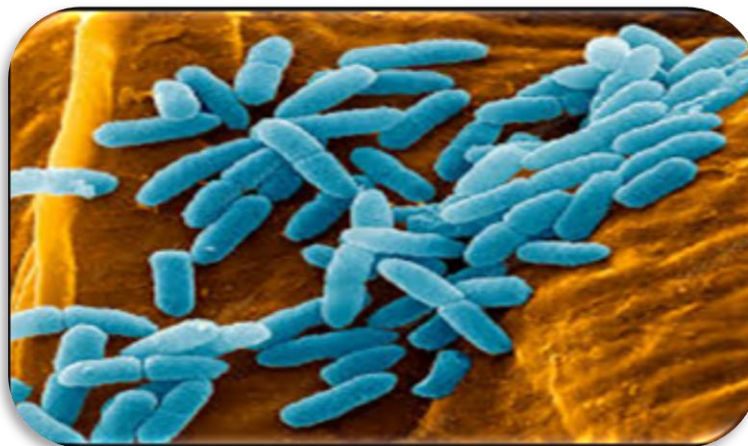


Figure 15: Vue sous le microscope électronique *Pseudomonas aeruginosa* (**Elmeskini, 2011**).

III.2.4.4. *Escherichia coli* :

E.coli est un bacille à gram négatif (**Berche et al., 1988**), de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 μm , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm (**Steven et al., 2004**).

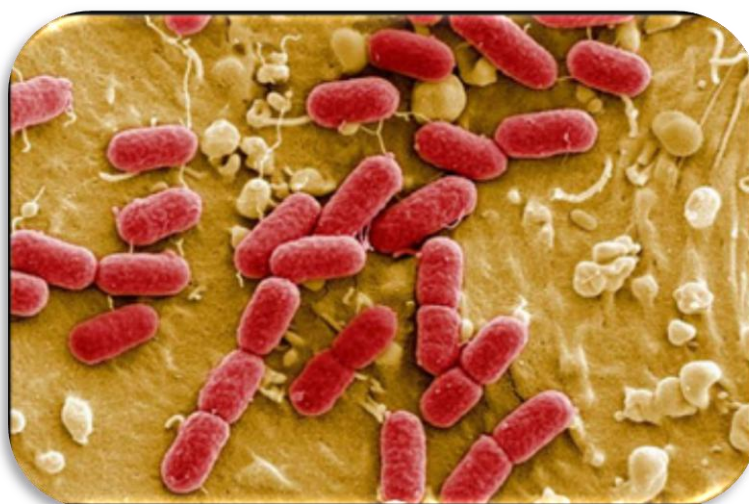



Figure 16: Vue sous le microscope électronique de *Escherichia coli*



PARTIE 02

PARTIE

EXPÉRIMENTALE



CHAPITRE I
MATÉRIEL ET
MÉTHODE

Chapitre I

I.1.Objectif:

L'objectif de notre étude consiste à faire l'extraction des huiles essentielles et des extraits d'*Eucalyptus globulus* et faire leur caractérisation suivie d'une étude de l'activité antioxydant des différents extraits et d'huile essentielle en utilisant la technique suivante : la réduction du piégeage du radical libre DPPH et l'évaluation de l'activité antibactérienne. Le but d'étude et de détermination des caractéristiques et l'utilisation des produits essentiels de l'arbre *Eucalyptus globulus*

I.2. Matériel végétal :

La plante "*Eucalyptus globulus*" a été récoltée la fin de Mars et le début d'Avril dans la région de M'sila (**Figure 17**), Les feuilles de la plante ont été nettoyées, séchées à l'obscurité dans un endroit bien aéré, puis broyées et stockées à l'abri de la lumière et de température ambiante jusqu'à l'utilisation.



Figure 17: arbre, feuilles *Eucalyptus globulus*



Figure 18: Matière sèche de l' *Eucalyptus globulus*

I.3.Extraction des huiles essentielles :

I.3.1.la technique d'hydrodistillation:

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (**Figure 19**) au niveau des laboratoires de la faculté des sciences de la nature et de vie et des sciences de la terre et de l'université MOHAMED BOUDIAF M'SILA, Algérie.

Le principe de l'hydrodistillation consiste à submerger une quantité de matière végétale (50 à 100g). dans un ballon de 1 litres d'eau distillée. Le tout est porté à ébullition pendant 3 heures. L'huile obtenue est récupérée dans des flacons en verre fumé (sombres), préalablement pesés et tarés.

Le rendement en huiles essentielles (volume en mL) est déterminé par rapport à 100 g de la matière végétale (**Laghchimi et al., 2014**). Les flacons sont ensuite bien scellés et conservés à une température de -4°C jusqu'à utilisation.



Figure 20: 50 g matière végétale sèche.

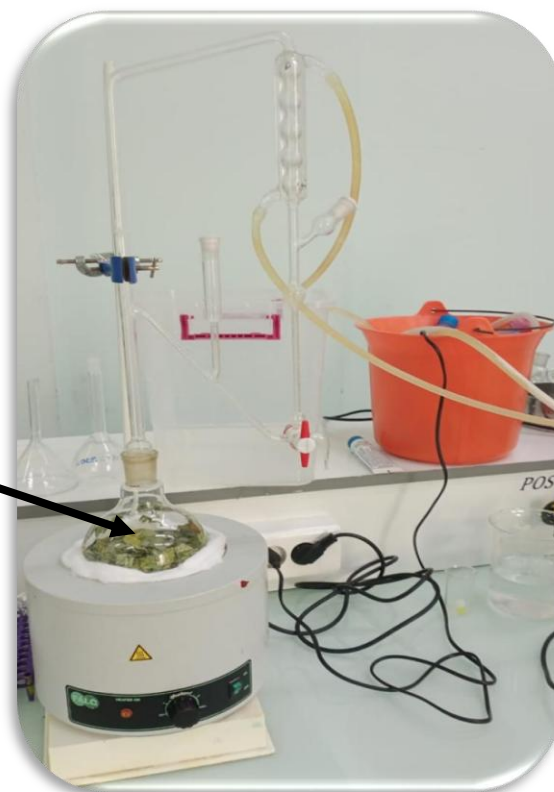


Figure 19: Photographie du montage de type Clevenger utilisé pour l'extraction des huiles essentielles (Photo originale).

I.3.2. Détermination du rendement en huiles essentielles :

Le rendement est la quantité maximale d'huile essentielle que donne une masse donnée de végétal pendant une période donnée. C'est le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue sur la masse du matériel végétal utilisé. Le rendement est calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = \text{Masse (HE)} / \text{Masse (M V)} \times 100$$

R (%) :Rendement en huile essentielle.

Masse (HE) : masse de l'huile essentielle.

Masse (MV) : masse du matériel végétal sec ou frais.

I.3.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue *Eucalyptus globulus*:

la conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables. C'est pour cela nous les avons conservées à une température voisine de 4°C, dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière.

I.4. Evaluation quantitative des substances bioactifs *Eucalyptus globulus* :

I.4.1.Extraction solide- liquide :

I.4.1.1. la macération :

✓ **Principe :**

- La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante.

- L'extrait méthanolique de la plante *Eucalyptus globulus* a été préparé à partir de :
50g poudre des feuilles, des poudre qui a été mise à macérer dans un mélange hydro-alcoolique méthanol/eau (80/20 : v/v), à température ambiante pendant (24 à 48) heures. Cela répété trois fois pour obtenir l'extrait méthanolique.

- L'extrait aqueux de la plante *Eucalyptus globulus* a été préparé à partir de :
50g poudre des feuilles, des poudre qui a été mise à macérer dans un mélange de l'eau distillée (100v), à température ambiante pendant (24 à 48) heures. Cela répété trois fois pour obtenir l'extrait aqueux.

I.4.1.2. Evaporation :

Les solvants ont été récupérés du filtré par évaporation dans un rotavapeur de type BUCHI R-210, à une température de 58°C.

I.4.1.3. Conservation de l'extrait obtenu :

La conservation des l'extraits exige certaines précautions indispensables ; Il doit être conservé à une température voisine de 4°C, dans un flacon en verre stérile fermé hermétiquement pour le préserver de l'air et de la lumière (en utilisant le papier Aluminium) jusqu'à l'utilisation (**Mahmoudi et al., 2012**).

I.4.2. Extraction liquide-liquide :

Le but de partager les molécules selon leurs propriétés physico-chimiques, un fractionnement liquide-liquide est réalisé entre deux phases non miscibles (**Mosbah, 2017**).

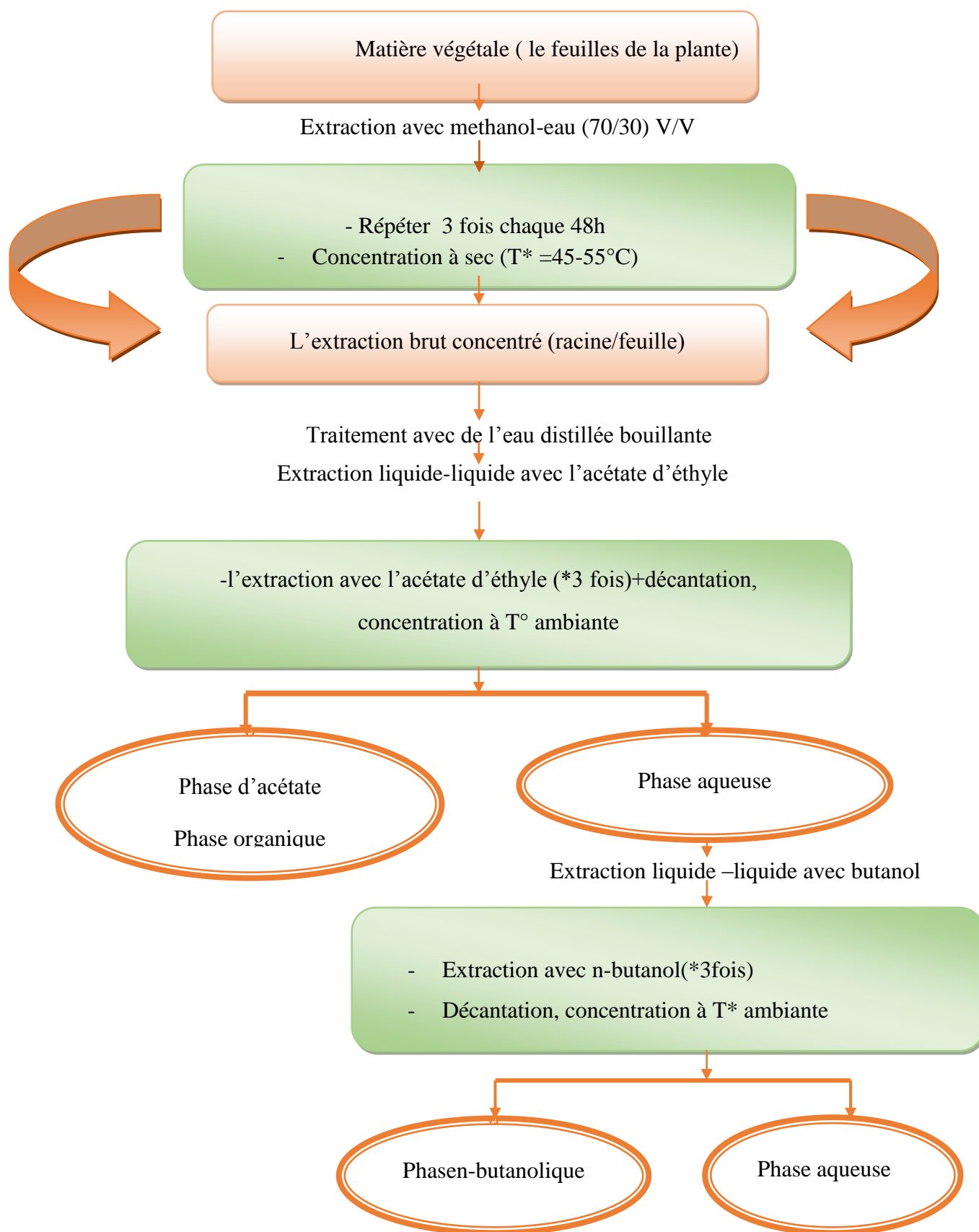


Figure 21: les étapes d'extraction des Flavonoides (Ciulel, 1983).

✓ Calcule du rendement:

Chaque extrait est pesé pour calculer le rendement de l'extraction, exprimé en gramme de lyophilisat et huile 4 par 150 g de matière sèche et 200 g de matière fraîche respectivement. Le rendement est calculé par la formule suivante :

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

R: Rendement de chaque phase.

M: masse de l'extrait de chaque phase et de l'huile essentielle.

M': masse de la matière sèche de la plante et de matière fraîche pour l'huile.

I.5. Extraction des coumarines :

La méthode de travail est réalisée selon les étapes suivantes:

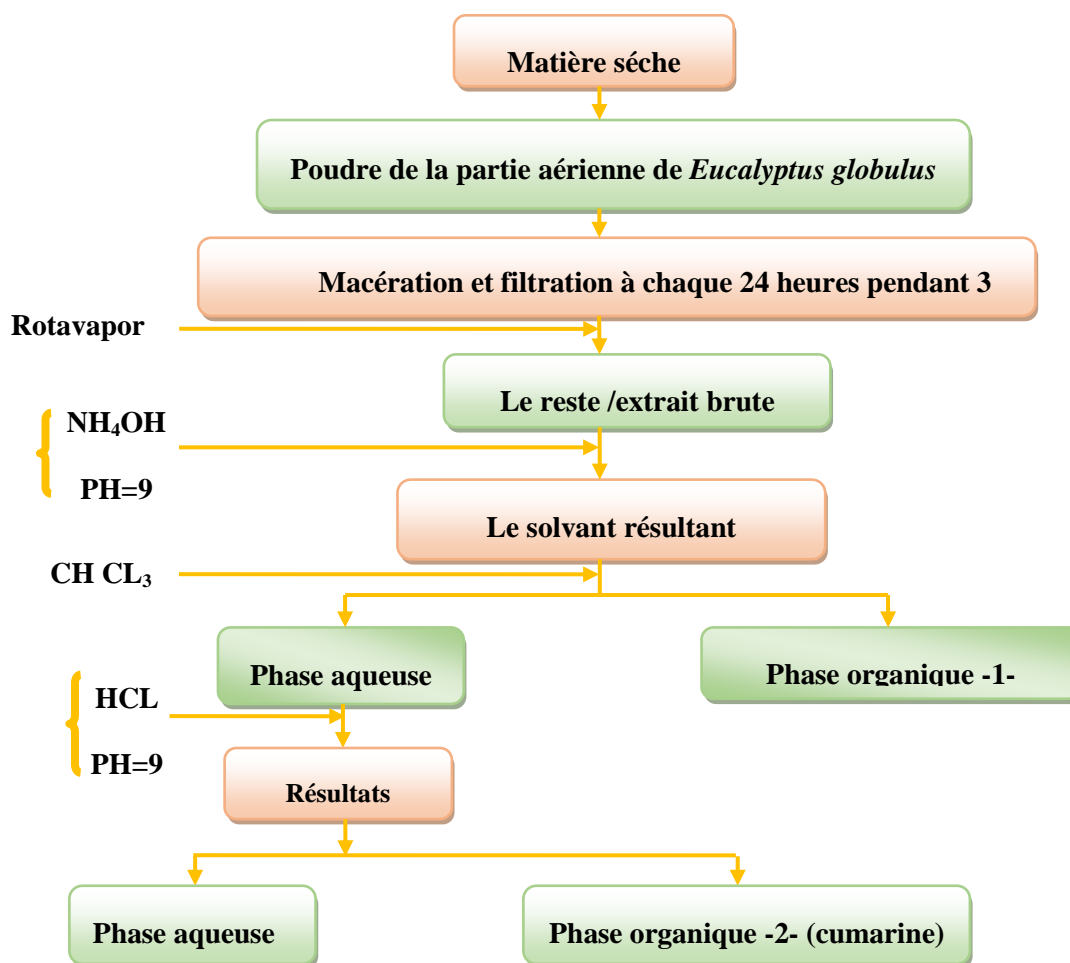


Figure 23 : L'extraction de la coumarine de la plante *Eucalyptus globulus*(Ciulel, 1983).

I.6. Evaluation qualitatives des substances bioactive de *Eucalyptus globulus* :

I.6.1. Chromatographie sur couche mince :

✓ Objectif :

L'objectif de cette étude à savoir la présence de quelque groupe chimique (polyphénols, flavonoïdes, cumarines) dans nos extraits.

✓ Principe :

Séparer les différentes molécules présentes dans les extraits par Chromatographie sur couche mince (CCM). Puis, tirer le spectre UV-visible de chaque molécule. La comparaison de ces spectres avec des témoins permettait de connaître la nature des molécules présentes.

Les composés présents dans les différentes phases ont été séparés par une CCM préparative, qui se réalisait sur des plaques en verre de 20x20 cm.

Certains composés apparaissent forme de taches brillantes.

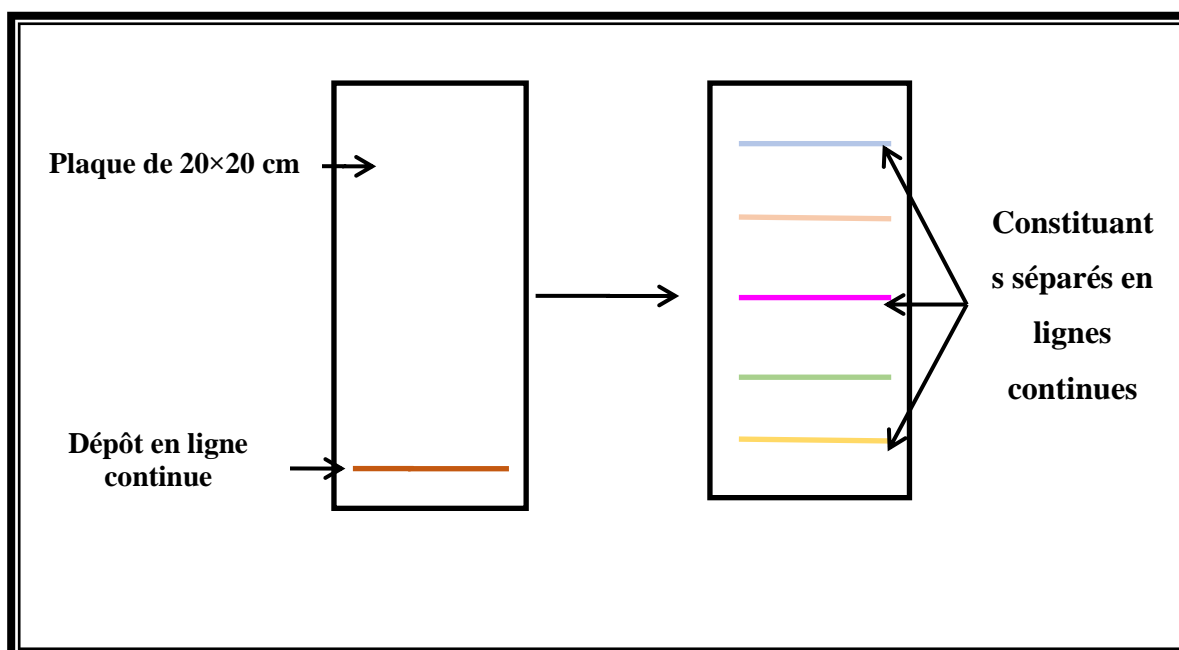


Figure 24: CCM préparative donnant des flavonoïdes sous forme de lignes séparées.

✓ Les phases de chromatographie sur couche mince :

Toute méthode de chromatographie est basée sur la distribution des substances à séparer entre deux phases, La phase mobile s'écoule au long d'une phase stationnaire. Selon leur affinité, les substances en solution sont plus ou moins retenues par la phase stationnaire, ce qui rend possible leur séparation, Il existe plusieurs applications pratiques. les phases peuvent en particulier être solides, liquides ou gazeuses.

La chromatographie sur couche mince repose principalement sur des phénomènes d'absorption: la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long de la phase stationnaire solide fixée sur une plaque de verre ou sur feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium (**Kebbab, 2014**).

✓ Méthode :

La mise en oeuvre d'une CCM nécessite plusieurs étapes :

Choix de la phase stationnaire: des plaques de silice fluorescente (silicagel 60 F254, de 0,25 mm d'épaisseur) déposées sur feuille d'aluminium gel de silice . Ces plaques sont découpées selon les dimensions: 2,5 cm de diamètre, et 10 cm de long.

Choix de la phase mobile: qui peut être généralement un mélange de solvants organiques T.

Pour cela, différents systèmes solvants ont été essayés pour définir ceux qui donnent les meilleures séparations. En plaçant la plaque sous une lampe UV à 365 nm, Certains composés apparaissent sous forme de taches brillantes.

Tableau 2: les différents systèmes des solvants utilisés pour la chromatographie sur couche mince (Belkassam, 2009).

Systèmes solvants	N°	Proportion	Référence
Heptane / Acétate d'éthyle	01	(2 ; 8, v/v)	(Belkassam, 2009)
Chloroforme / Acétate d'éthyle	02	(8 ; 2, v/v)	(Belkassam, 2009)
Heptane / Acétate d'éthyle	03	(2 ; 6, v/v)	(Belkassam, 2009)
Chloroforme /Méthanol	04	(2 ; 2, v/v)	(Belkassam, 2009)
Chloroforme /Méthanol	05	(6 ; 2, v/v)	(Belkassam, 2009)
Hexane /chloroforme/Méthanol	06	(7 ; 4 ; 0.2, v/v)	(Belkassam, 2009)
Hexane /chloroforme/Méthanol	07	(7 ; 4 ; 0.5, v/v)	(Belkassam, 2009)

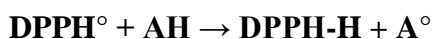
I.7.Activités biologique

I.7.1. Evaluation de l'activité antioxydant:

L'activité anti-radicalaire des différents composés extraits a été évaluée *in vitro*, par le test au DPPH*. **Test de radical libre DPPH (2,2-diphényl 1-1-picrylhydrazyl)**

✓ Principe

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits (Wu *et al* 2007). Le DPPH initialement violet, se décolore lorsque l'électron libre s'apparie selon la réaction suivante :



où AH est un composé capable de donner un H⁺ au radical DPPH (Figure 25). Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres, loin de toutes activités enzymatiques.

Dans ce test, le substrat est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule antioxydante se transforme en DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) avec perte de son absorbance caractéristique à 517 nm. Les réactions ont lieu en milieu éthanolique à

température ambiante, cela permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Ce test est très utilisé car il est rapide, facile et non couteux (**Hadbaoui, 2012**).

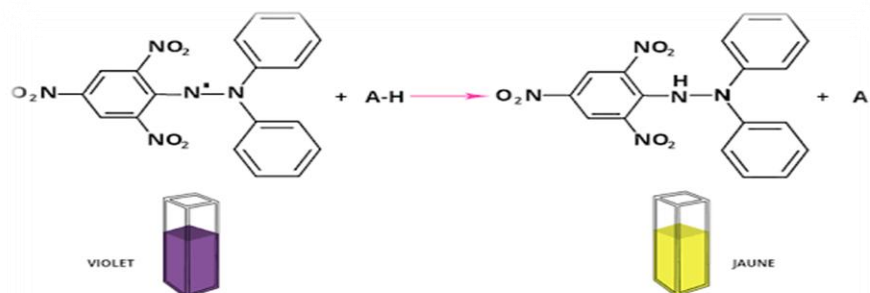


Figure 25: Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant (**Molyneux, 2004**).

✓ Mise en oeuvre pratique

- Le DPPH est solubilisé dans le éthanol pour avoir une solution 4000ppm (4g de DPPH avec 100ml d'éthanol), et mélangée avec différentes concentrations des extraits de *Juniperus phoenicea* L. (10, 25, 50, 100 µg/ml);
- Mettre (2, 5, 10, 20 µl/ml) respectivement de chaque dilution de ces extraits dans un tube ;
- Ajouter l'éthanol (38, 35, 30, 20 µl);
- Ajouter 160 µl de solution éthanolique de DPPH ;
- Le mélange est vigoureusement agité, puis les sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes ;
- Pour préparer le contrôle négative, on mélange (2, 5, 10, 20 µl) d'éthanol respectivement avec 160 µl de DPPH ;
- La réduction du DPPH s'accompagne par le passage de la couleur violette à couleur jaune de la solution. Toutes les lectures sont effectuées à 517 nm par un spectrophotomètre. Toutes les opérations sont répétées trois fois.

✓ Expression des résultats

L'activité antioxydante, qui exprime la capacité de l'extrait à piéger le radical libre DPPH est donnée par la formule suivante (**Burits et Bucar, 2000**).

$$\text{Inhibition \%} = \frac{(\text{Abs control} - \text{Abs test}) \times 100}{\text{Abs}}$$

Avec : Abs control : Absorbance du control négatif à longueur d'onde 517 nm ;

Abs test : Absorbance de l'échantillon à la longueur d'onde 517 nm.

✓ **Calcul des concentrations inhibitrices à 50 % " IC₅₀"**

IC₅₀ (Concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC₅₀ (Concentration efficace50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH.

Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés (**Torres *et al*, 2006**).

I.7.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne :

Seul l'extrait méthanolique est subi le test de l'activité antibactérienne.

I.7.2.1. choix des souches microbiennes :

Quatre souches de référence ont servi à l'étude de l'activité antibactérienne des extraits. Ces bactéries ont été sélectionnées en fonction de leur pouvoir pathogène pour l'Homme.

✓ **Bactéries à Gram positif**

-Staphylococcus aureus ; ATCC 25923 (SAIDAL- Antibiotical)

-Bacillus subtilis; ATCC 6633 (SAIDAL Antibiotical)

✓ **Bactéries à Gram négatif**

-Escherichia coli(ATCC25922)

-Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853)

I.7.2.2. Choix Les milieux de culture :

Selon les méthodes utilisés dans l'essai et selon les souches, nous avons utilisé les milieux suivants:

- La gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes;

- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits de *Hertia cheirifolia* L.

I.7.2.3. Préparation de l'inoculum:

A partir d'une culture pure des bactéries sur milieu d'isolement (gélose nutritive) ayant au maximum 24h, on racle à l'aide d'une pipette pasteur scellée quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Ensuite, on décharge la pipette pasteur dans 10 mL d'eau physiologique stérile et on homogénéise la suspension bactérienne; son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland qui correspond à 10⁸ UFC/mL, puis diluer pour obtenir

un inoculum à 10^6 UFC/mL (Tyagi et Malik, 2011), L'ensemencement des souches bactériennes sur la gélose nutritive et l'incubateur à 37°C .

I.7.2.4. Préparation des dilutions d'extraits *Eucalyptus globulus* :

Après la préparation de l'extrait Méthanolique brut de quantité 30 mg qui devient testé, on à ajouté dans 2ml de **DMSO** ensuite nous pronons 1ml et ajoutons dans un tube avec des dilutionssuccessives à La moitié(1/2) pour données quatre concentration $C_1=15\text{mg/ml}$, $C_2=7.5\text{mg/ml}$, $C_3=3.75\text{mg/ml}$, $C_4=1.875\text{mg/ml}$.

I.7.2.5. L'ensemencement :

La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzen Immerge un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;En fait Frotter l'écouvillon sur les boites pétrie qui contient la gélose nutritif (**Mueller Hinton**) ;

L'opération doit se faire deux fois en tournant la boîte de pétrie d'un angle de 60° à chaque fois. sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finirl'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (**Benzeggouta,2005**).

I.7.2.6. L'application des disques :

Dans cette étape on a disposeles disques sur la surface du milieu gélosé à l'aide d'une pipette pasteur stérile au nec benzène de diamètre 0.8 mm .Puis On a prélève 150 ul et on la met dans les disques (dans chaque trou à chaque boîte avec déffirente concentration).

I.7.2.7. La lecture :

Pendant 18 à 24 heures à 37°C , pour toutes les boîtes, et à température ambiante (température de la chambre) pour les boîtes qui contiennent des disques imbibés l'extrait Méthanolique brut


Les résultats sont observés le lendemain des expériences, en Mesurant les diamètres des zones d'inhibition. Si le diamètre des zones d'inhibition est :

< 8 : la bactérie résistante.

8 << 14 : la sensibilité est limitée.

14 << 20 : un peu sensible.

> 20 : la bactérie très sensible



CHAPITRE II
RÉSULTATS ET
DISCUSSION

Chapitre II

II.1. Evaluation des techniques d'extraction :

II.1.1. Extraction des polyphénols :

La méthode d'extraction par macération des différents parties de la partie aérienne (feuille) *Eucalyptus globulus* a été réalisée par les solvants suivants : Méthanol, acétate d'éthyle, n-butanol, chloroforme.

Cette méthode a permis d'obtenir des extraits de chaque partie: l'extrait brut (EBr.aq) (EBr.méth), l'extrait d'acétate d'éthyle (EAcOEt), l'extrait de butanol(En-BuOH) .

La macération répétée 3 fois suivie d'une évaporation, la deuxième technique utilisée est l'extraction liquide-liquide.

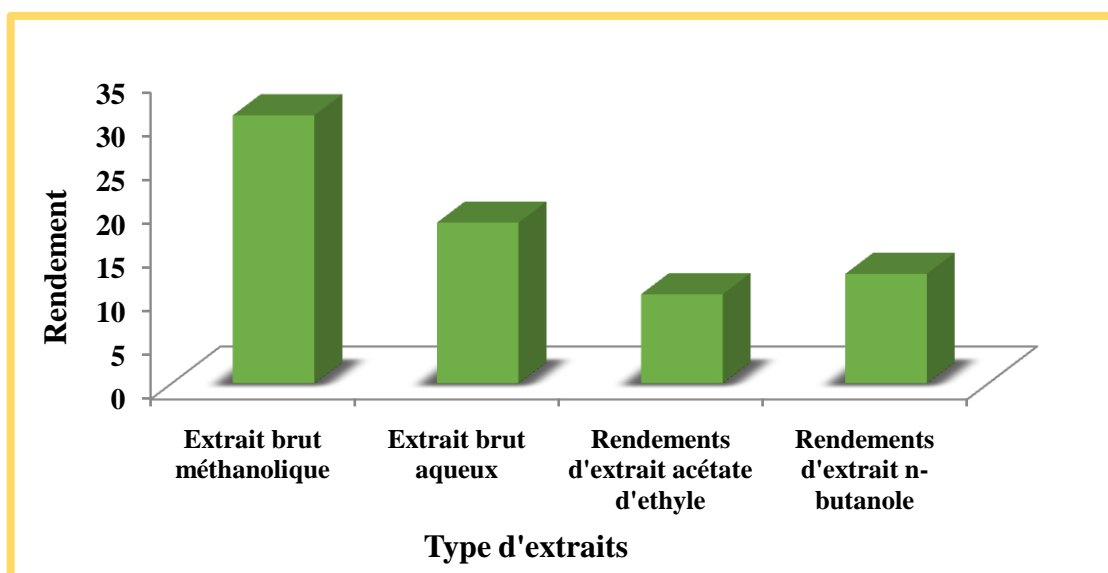


Figure 26: Rendement des différents extraits de l'espèce *Eucalyptus globulus*.

Le rendement a été déterminé par rapport au poids du matériel végétal sec rendu en poudre, les résultats ont été exprimés en pourcentage. Les résultats obtenus montrent que les rendements des extraits sont variables .

le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait méthanolique brut (30,63%), suivi par l'extrait aqueux brut de feuille (18,37%).

La fraction butanolique présente un rendement important (12,52%) par rapport à la fraction acétate d'éthyle faible (10,2) .

Les résultats obtenus montrent que les rendements en extraits de la plante *Eucalyptus globulus* sont plus ou moins variables.

II.1.2. Extraction des coumarines et des huiles essentielles de la plante *Eucalyptus globulus* :

Les résultats des rendements des coumarines et des huiles essentielles adécrits dans ce histogramme :

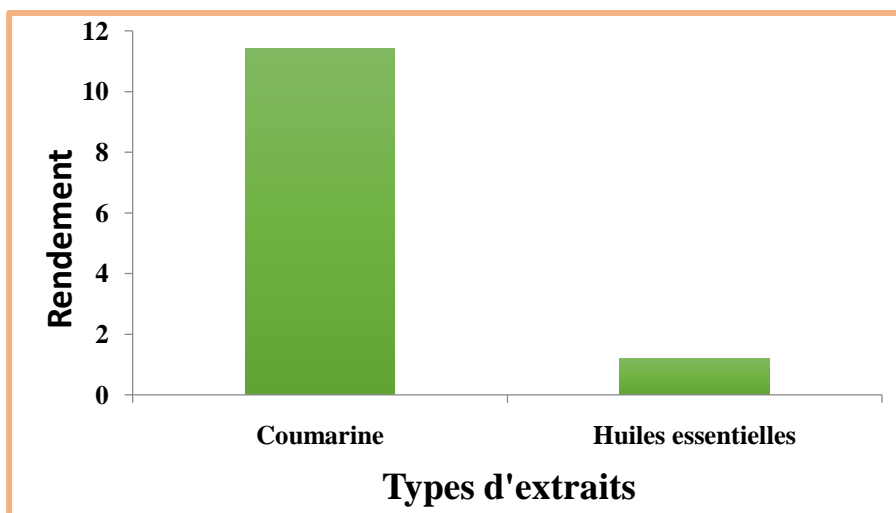


Figure 27: Rendement des coumarineset des huiles essentielles de l'espèce *Eucalyptus globulus*.

Les résultats obtenus ont été exprimés en pourcentage de masse d'extrait par rapport à lamasse de la plante *Eucalyptus globulus*, le résultat faible obtenus par extrait de coumarine (11,4%).

Nous avons observé le rendement d'extraction des huiles essentielles est important, il est égal à 1,2 %. Ce résultat est différent que le résultat trouvé par (**Boudiaf etBentayeb, 2016**). Dans la même espèce on trouve le rendement en huile essentielle de *Eucalyptus globulus* .est égale 0.4 % pour chaque 100g de matière végétale.

les études de (**Karmiche et Chaougui, 2013**). Le rendement des huiles essetielles de *Eucalyptus globulus* a marqué la valeur 0,48%,etles études (**Rabiai, 2014**). Le rendement égale 0,43 % pour 190g de matière végétale de l'*Eucalyptus globulus*. Et d'après (**Daraoui, 2011**). pour 100g de l'Eucalyptus obtenu 2,5% de huile de couleur jaune et d'odeur agréable.

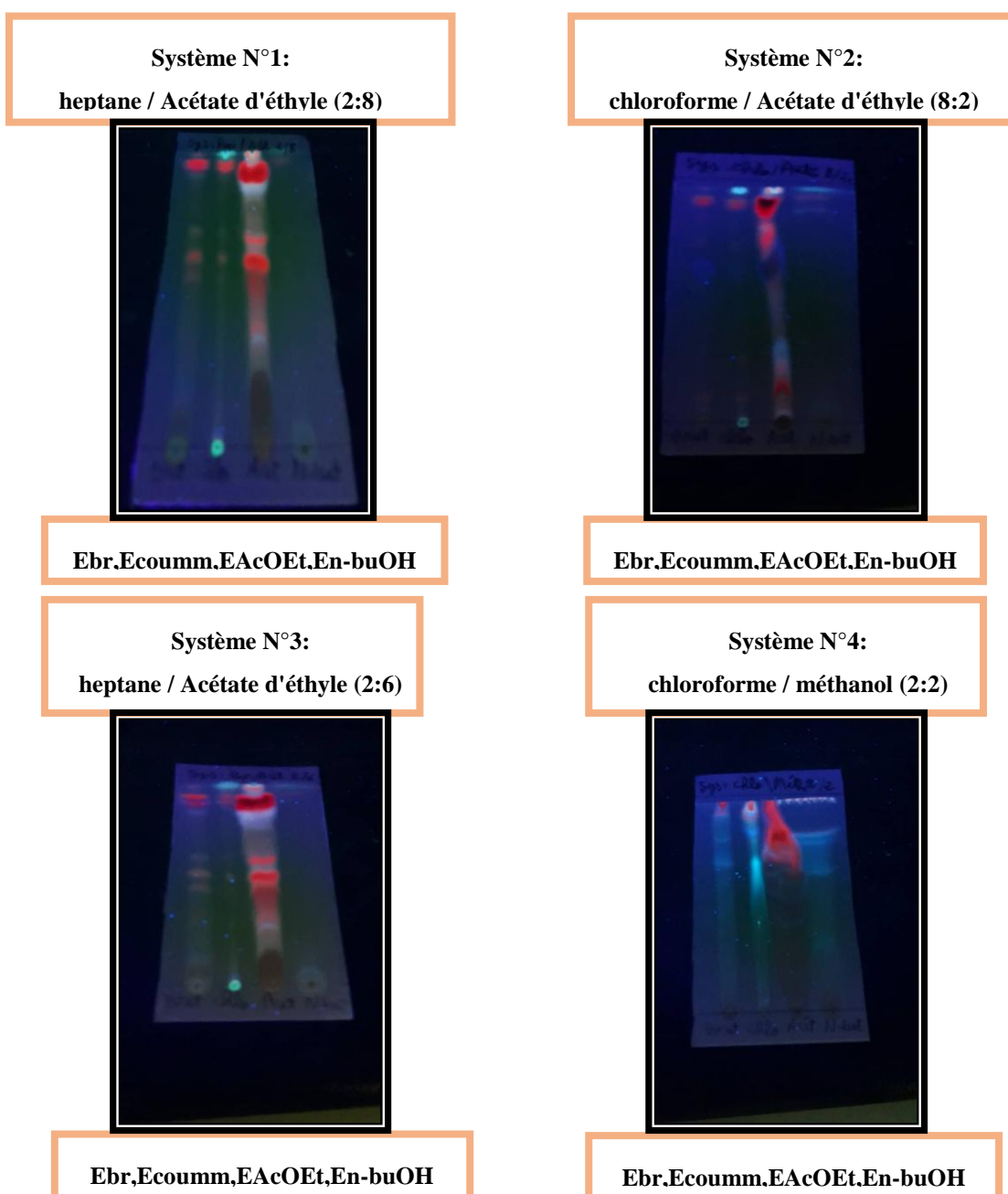
Selon (**Boukhalfoun, 2012 ; Taleb-Toudert, 2015**). La composition chimique de huile essentielle de l'*Eucalyptus globulus* révèle qu' elle est composée essentiellement des mono terpènes .

Le rendement des huiles essentielles sont variés beaucoup, cette variation probablement due à plusieurs facteurs à savoir la composition chimique du sol, origine géographique, et même les facteurs pédoclimatiques.

II.2. Chromatographie analytique sur couche mince (CCM) :

Les résultats de la chromatographie sur couche mince (CCM) de nos HEs est résumés dans les tableaux et les figures suivants. Il s'agit des informations sur les facteurs de rétention (RF) des constituants chimiques, leur comportement à la lumière UV (à 360nm), et leur coloration.

✓ photographie représentant les plaques CCM :



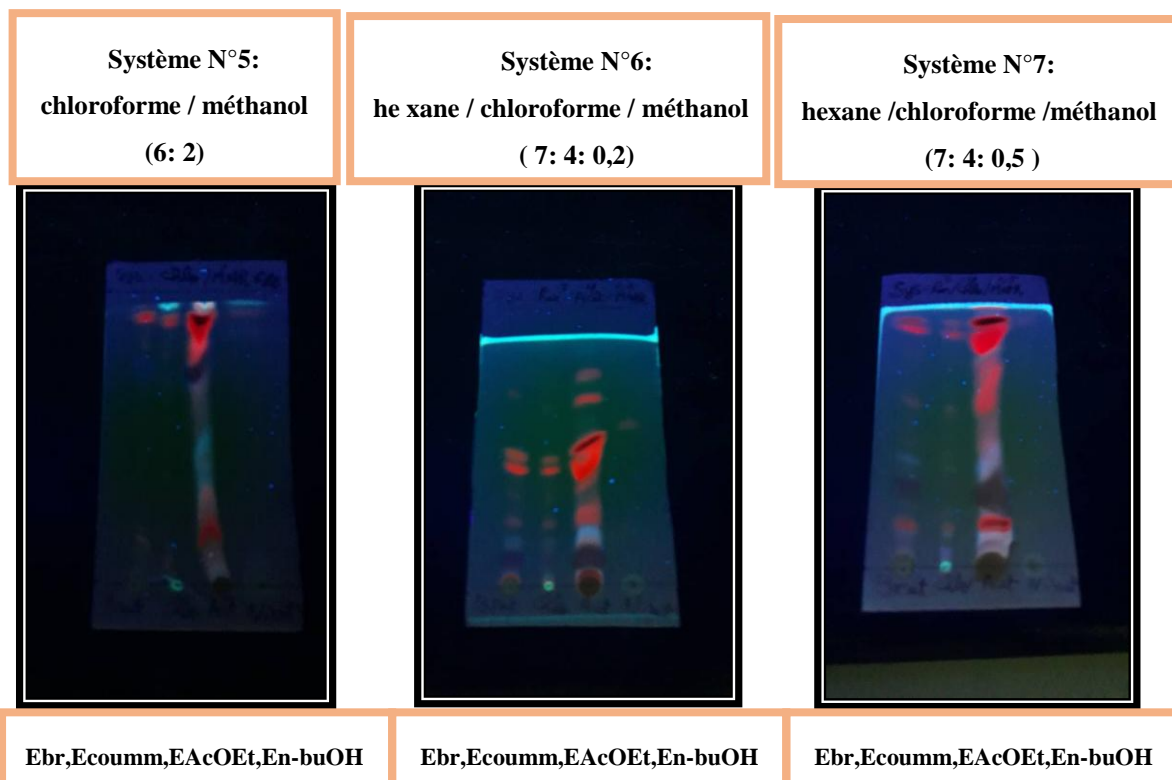


Figure 28: Révélation de la CCM par la lampe UV à la longueur d'onde 360 nm des l'extraits d'acétate d'éthyle(EAcOEt), l'extrait brut , l'extrait de butanol (En-BuOH) et l'extrait de coumarine des feuilles de l'espèce *Eucalyptus globulus*.

Tableau 3: Les RFs et couleurs des spots obtenus dans les 7 systèmes par CCM dans l'extrait brut de *Eucalyptus globulus*.

N° des systèmes de solvants	Extrait brut		
	N° des spots	Couleur des spots	RF
01 heptane / Acétate d'éthyle (2:8)	1	marron	0,06
	2	violet	0,15
	3	rouge	0,56
	4	rose	0,67
	5	bleu	0,91
	6	rouge	0,97
02 chloroforme / Acétate d'éthyle (8:2)	1	rose	0,05
	2	rouge	0,1
	3	mouve	0,6
	4	rouge	0,9

03 heptane / Acétate d'éthyle (2:6)	1	marron	0,06
	2	violet claire	0,12
	3	rose	0,43
	4	orange	0,9
	5	violet	0,96
04 chloroforme / méthanol (2:2)	1	bleu	0,6
	2	vert	0,8
	3	violet	0,9
	4	rouge	0,96
05 chloroforme / méthanol (6: 2)	1	orange	0,13
	2	rouge	0,9
06 hexane / chloroforme / méthanol (7: 4: 0,2)	1	rouge	0,02
	2	violet	0,11
	3	bleu	0,15
	4	rouge	0,4
	5	orange	0,45
07 hexane / chloroforme / méthanol(7: 4: 0,5)	1	rouge	0,13
	2	violet	0,27
	3	bleu	0,3
	4	rose	0,88

Dans le système de solvants N°1 : heptane / Acétate d'éthyle (2/8) . D après ces résultats on constate que l EBr donnent une meilleur séparation des composés phénoliques , ou le nombre des spots est égal 6 spots avec une variabilité des RF et différents couleur (**marron , violet , rouge ,bleu , rouge**) .

Dans le système de solvants N°2 : chloroforme / Acétate d'éthyle (8/2) . D après ces résultats se trouve 4 taches avec une variabilité des RF et différents couleur (**rose ,orange , mauve , rouge**) .

Dans le système de solvants N°3 : heptane / Acétate d'éthyle (2/6).D après ces résultats se trouve 5 taches avec une variabilité des RF et différents couleur (**marron , violet clair , rose , orange , violet**) .

Dans le système de solvants N°4 : chloroforme / méthanol (2/2) . D après cesrésultats se trouve 4 taches avec une variabilité des RF etdifférents couleur (**bleu , vert , violet , rouge**).

Dans le système de solvants N°5 : chloroforme / méthanol (6/2) . on remarquer 2 taches avec une variabilité des RF etdifférents couleur(**orange , rouge**) .

Dans le système de solvants N°6 : hexane / chloroforme / méthanol (7/4/0,2) .D après cesrésultats se trouve 5 taches avec une variabilité des RF etdifférents couleur (**rouge , violet , bleu , rouge , orange**) .

Dans le système de solvants N°7: hexane / chloroforme / méthanol (7/4/0,5) . D après cesrésultats se trouve 4 taches avec une variabilité des RF etdifférents couleur (**rouge , violet , bleu , rose**) .

Tableau 4: Les RFs et couleurs des spots obtenus dans les 7 systèmes par CCM dans l'extrait de coummarine du *Eucalyptus globulus*

N° des systèmes de solvants	Extrait de coummarine		
	N° des spots	Couleur des spots	RF
01 heptane / Acétate d éthyle (2:8)	1	bleu	0,01
	2	rose	0,4
	3	rouge	0,5
	4	violet	0,65
	5	rouge	0,96
	6	bleu vert	0,98
02 chloroforme / Acétate d éthyle (8:2)	1	bleu ciel	0,01
	2	rose	0,1
	3	bleu	0,6
	4	rouge	0,9
	5	bleu vert	0,97
03 heptane / Acétate d éthyle (2:6)	1	bleu vert	0,01
	2	bleu	0,03
	3	orange	0,5
	4	rouge	0,93
	5	bleu	0,98

04 chloroforme / méthanol (2:2)	1	Vert	0,67
	2	bleu	0,83
	3	rose	0,9
	4	rouge	0,96
05 chloroforme / méthanol (6: 2)	1	rose	0,03
	2	mouve	0,15
	3	rouge	0,91
	4	bleu ciel	0,98
06 hexane / chloroforme / méthanol (7: 4: 0,2)	1	rouge	0,2
	2	orange	0,37
07 hexane / chloroforme / méthanol(7: 4: 0,5)	1	bleu	0,03
	2	rouge	0,12
	3	rose	0,85

Dans le système de solvant N°1: heptane / Acétate d'éthyle (2/8) de l'extrait de coumarine donnent un meilleur séparation des composés phénoliques ou le nombre de spots est égal 6 spots avec une variabilité de RF et différents couleurs (**bleu , rose , rouge , violet , rouge , bleu vert**) par contre les autres systèmes.

Dans le système N°2: chloroforme / Acétate d'éthyle (8/2) et N°3: heptane / Acétate d'éthyle (2/6) le nombre des spots est égale(5 spots) avec une variabilité de RF et différents couleurs (N°2: **bleu ciel , rose , bleu , rouge , bleu vert**) ; (N°3 : **bleu vert , bleu , orange , rouge , bleu**).

Dans le système N°4chloroforme / méthanol (2/2) et le système N°5: chloroforme / méthanol (6/2) le nombre des spots est égale (4 spots) avec une variabilité de RF différents couleurs (N°4: **vert , bleu , rose , rouge**) ; (N°5: **rose , mauve , rouge , bleu ciel**).

Dans le système N°6: hexane / chloroforme / méthanol (7/4/0,2) et N°7: hexane / chloroforme / méthanol (7/4/0,5) donnent faible séparation présente 2 spots et 3 spots avec une variabilité de RF et différents couleurs (N°6 : **rouge , orange**) ; (N°7 : **bleu , rouge , rose**) ces résultats sont différents que notre travail qui donne 6 spots dans le système N°1.

Tableau 5: Les RFs et couleurs des spots obtenus dans les 7 systèmes par CCM dans l'extrait de d'acétat d'éthyl *Eucalyptus globulus*.

N° des systèmes de solvants	Extrait d'acéat d'éthyl		
	N° des spots	Couleur des spots	RF
01 heptane / Acétate d'éthyle (2:8)	1	mouve claire	0,25
	2	violet	0,26
	3	bleu	0,27
	4	orange	0,31
	5	orange	0,56
	6	bleu claire	0,81
	7	rouge	0,95
02 chloroforme / Acétate d'éthyle (8:2)	1	violet	0,03
	2	marron	0,06
	3	rouge	0,12
	4	mouve claire	0,25
	5	bleu	0,31
	6	violet	0,7
	7	rouge	0,82
	8	rouge noir	0,83
	9	bleu	0,96
03 heptane / Acétate d'éthyle (2:6)	1	mouve claire	0,17
	2	violet foncé	0,23
	3	violet claire	0,25
	4	orange	0,3
	5	orange claire	0,4
	6	bleu	0,8
	7	rouge noir	0,9
04 chloroforme / méthanol (2:2)	1	rouge	0,8
05 chloroforme / méthanol (6: 2)	1	bleu	0,3
	2	marron	0,12
	3	rouge	0,3
	4	mouve claire	0,32
	5	bleu	0,5
	6	violet	0,8

06 hexane / chloroforme / méthanol (7: 4: 0,2)	1	violet	0,12
	2	bleu	0,16
	3	orange	0,25
	4	rouge	0,46
	5	rouge	0,62
07 hexane / chloroforme / méthanol(7: 4: 0,5)	1	mouve	0,2
	2	rouge	0,15
	3	violet	0,27
	4	bleu	0,32
	5	orange	0,8

Dans le système de solvant N°1: heptane / Acétate d'éthyle (2/8) et N°3: heptane / Acétate d'éthyle (2/6) le nombre des spots est semblable(7 spots) avec une variabilité de RF et différents couleurs (N1°: **mauve clair , violet , bleu , orange , orange , bleu clair, rouge**) ; (N°4 : **mauve clair , violet foncé , violet clair , orange , orange clair , bleu , rouge noir**).

Dans le système N°2: chloroforme / Acétate d'éthyle (8/2) on remarque l'extrait d'acétate d'éthyle est riche en composés phénoliques (9 spots) avec une variabilité des RF et différents couleurs (**violet , marron , rouge , mauve clair , bleu , violet , orange , rouge noir , bleu**) .

Dans le système N°4 chloroforme / méthanol (2/2) se trouve une seule tache qui apparaît dans UV en couleur rouge .

Tableau 6: Les RFs et couleurs des spots obtenus dans les 7 systèmes par CCM dans l'extrait de n-butanol d' *Eucalyptus globulus*.

N° des systèmes de solvants	Extrait de de n-butanol		
	N° des spots	Couleur des spots	RF
01 heptane / Acétate d éthyle (2:8)	1	rose	0,37
02 chloroforme / Acétate d éthyle (8:2)	1	vert	0,86
	2	orange	0,93
	3	bleu	0,96
03 heptane / Acétate d éthyle (2:6)	1	violet	0,98
04 chloroforme / méthanol (2:2)	1	vert	0,8
05 chloroforme / méthanol (6: 2)	1	orange	0,9
	2	bleu	0,91
06 hexane / chloroforme / méthanol (7: 4: 0,2)	-	-	-
07 hexane / chloroforme / méthanol(7: 4: 0,5)	-	-	-

Dans les premiers cinq systèmes on remarquer une faible séparation des composés phénoliques avec une variabilité des RF et différents couleurs par contre dans le système N°6 et le système N°7 on remarquer aucun séparation que **En-BuOH** .

A partir des résultats de ces tableaux on constate que le meilleurs systèmes les qu' ont plus séparer les différents constituants dans les extrais de *eucalyptus globulus* dans tous phases AcOEt et n-BuOH et extrait brut et extrait des coummarines sont le système N°1 heptane / Acétate d éthyle (2/8) et le système N°2 chloroforme / Acétate d éthyle (8/2) par rapport les autres systèmes sont donne un faible séparation dans la plaque de CCM .

D'après le chromatogramme on remarque plusieurs taches sur la plaque CCM avec des Rf différents ce qui variétés compositionnelle d'où les variétés des colorations des différents spots sur la plaque (violet, bleu, marron, rouge) qui peuvent être des flavonoïdes ou des coumarines.

D'après les études de (Conde *et al.*, 1997). Les flavonoïdes les plus abondants dans les feuilles sont essentiellement des flavonols aglycone (quercétine, myricétine et kaempférol) et glycosides tels que les dérivés de la quercétine (quercétine-3-glucoside, quercétine-3-rhamnoside); du kaempférol (kaempférol-3-rhamnoside, kaempférol-3-rutinoside) et de la myricétine (myricétine -3-glucoside, myricétine-3-rutinoside).

II.3. Résultats activité biologiques de la plante *Eucalyptus globulus* :

II.3.1. Activité antioxydant :

✓ Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits *Eucalyptus globulus*

par la méthode DPPH

L'activité antioxydants des différents extraits de la *Juniperus phoenicea* L. a été testée par la méthode du radical libre DPPH à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les résultats obtenus sont représentés sous forme de histogramme sont les suivants:

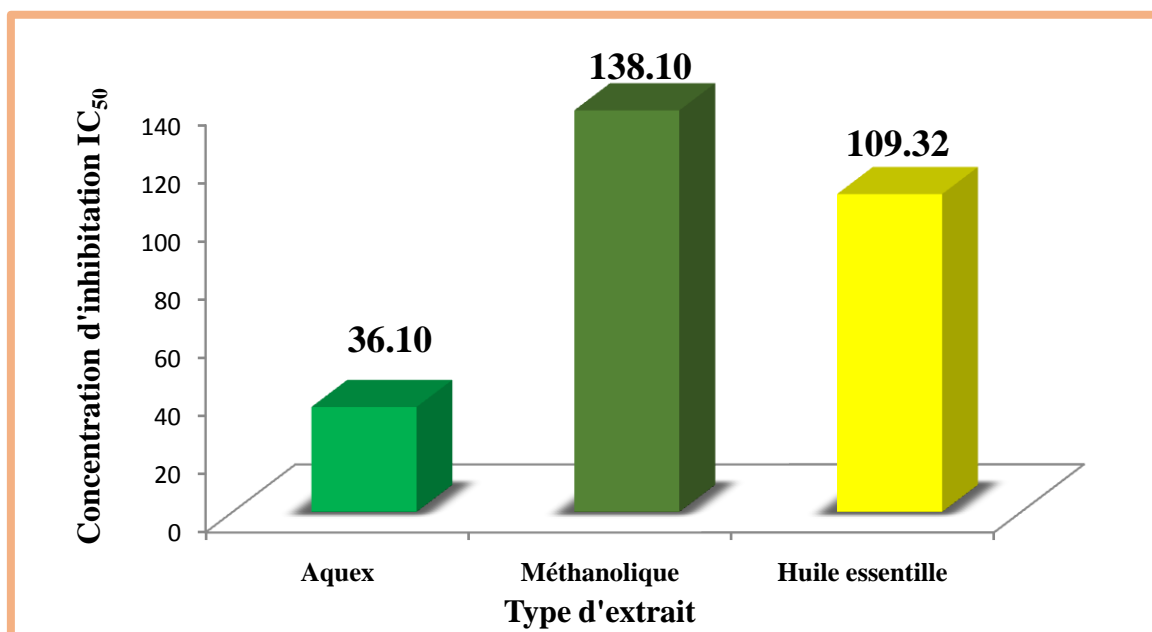


Figure 28 : Représentation de l'Inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs d' IC_{50} des différents extraits d'*Eucalyptus globulus*

Les résultats obtenus de IC₅₀ de notre extraits, montre que l'extrait aqueux des feuilles de *Eucalyptus globulus* présente une meilleure activité antioxydante d'IC₅₀ = 36.10 µg/ml, par contre à l'autre extrait et les huiles possèdent une faible activité antioxydante, les résultats sont interprétés comme suit: l'extrait aqueux > extrait de méthanol > les huiles essentielles.

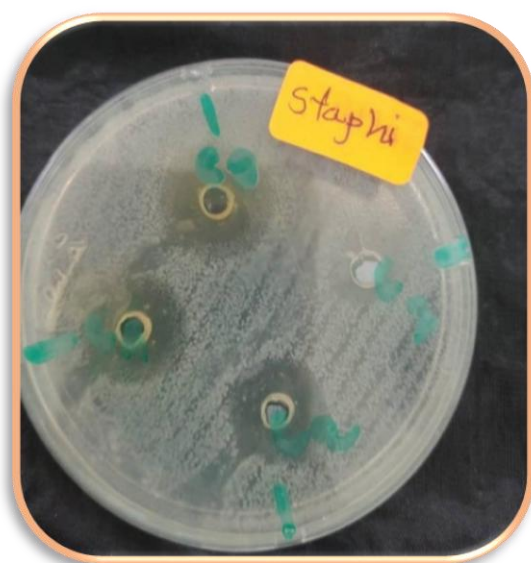
D'après **Gueddah et Soualat (2019)** les résultats de l'action antiradicalaire de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* montrent une IC₅₀ (feuilles) de l'ordre de (0,0189 ± 0,0015 mg/ml) possède une activité antioxydante plus importante que le résultat de notre travail (IC₅₀=36.10).

D'après les études de **Erau (2019)** dans le même genre d'*Eucalyptus* on trouve les résultats de l'action antiradicalaire montrent une IC₅₀ (feuilles) de l'ordre des huiles essentielles (110 ± 139.8 µg/ml) possède presque même activité antioxydante que le résultat de notre travail (IC₅₀=109.32).

II.3.2. Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne a été évaluée in vitro par l'action de l'extrait brut méthanolique des feuilles de la plante *Eucalyptus globulus* sur quatre souches bactériennes (deux à Gram négatif *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923 et deux à Gram positif *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé (méthode de puits).

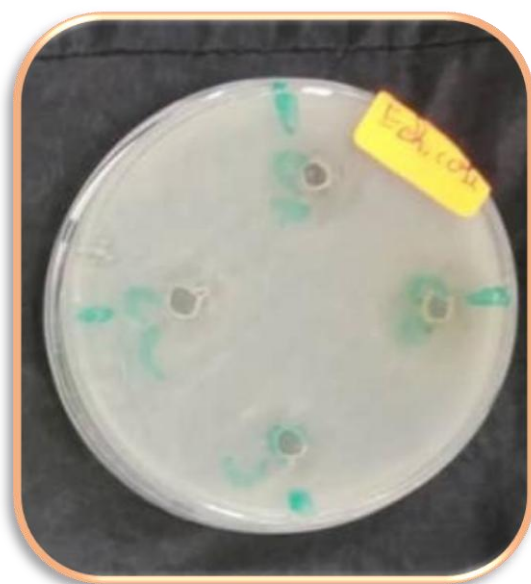
Les résultats de test présentés dans les Figures et les tableaux suivants :



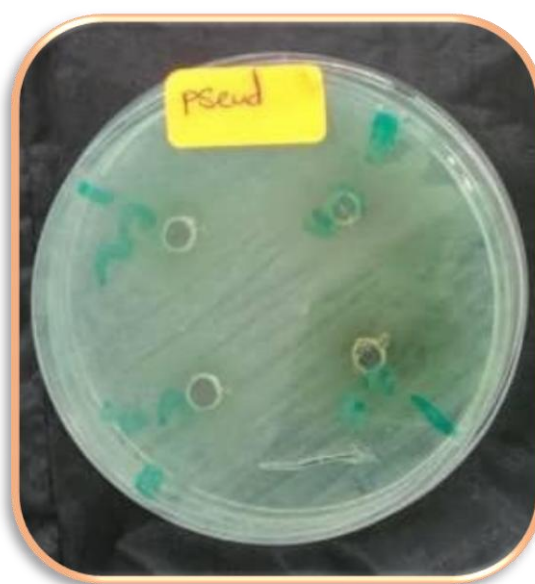
Extrait brut méthanoïque de feuille
(*Staphylococcus aureus*)



Extrait brut méthanoïque de feuille
(*Bacillus subtilis*)



Extrait brut méthanoïque de feuille
(*Escherichia coli*)



Extrait brut méthanoïque de feuille
(*Pseudomonas aeruginosa*)

Figure 29: présentation des résultats de l'activité antibactérienne des produits d'extrait brut méthanoïque des feuilles de la plante *Eucalyptus globulus*

Les résultats sont observés le lendemain des expériences, en Mesurant les diamètres des zones d'inhibition. Si le diamètre des zones d'inhibition est :

- < 8 : la bactérie résistante.
- 8 << 14 : la sensibilité est limitée.
- 14 << 20 : un peu sensible.
- 20 : la bactérie très sensible

Tableau 7: Diamètre en (mm) de la zone d'inhibition de Ebr Méthanolique des feuilles d'*Eucalyptus globulus* sur les quatres souches de la bactéries

	Ebr Méthanolique				
	Concentration d'Ebr Méthanolique des feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i>				
Les Souche	15 mg/ml	7.5 mg/ml	3.75 mg/ml	1.875 mg/ml	Sensibilité
<i>Staphylococcus Aureus</i>	22.2	17.2	14.2	11.2	++
<i>Bacillus subtilis</i>	19.2	18.2	14.2	12.2	++
<i>Echerichea. Coli</i>	17.2	15.2	12.2	10.2	++
<i>Psaudomonas aerogenosa</i>	12.2	12.2	11.2	11.2	++

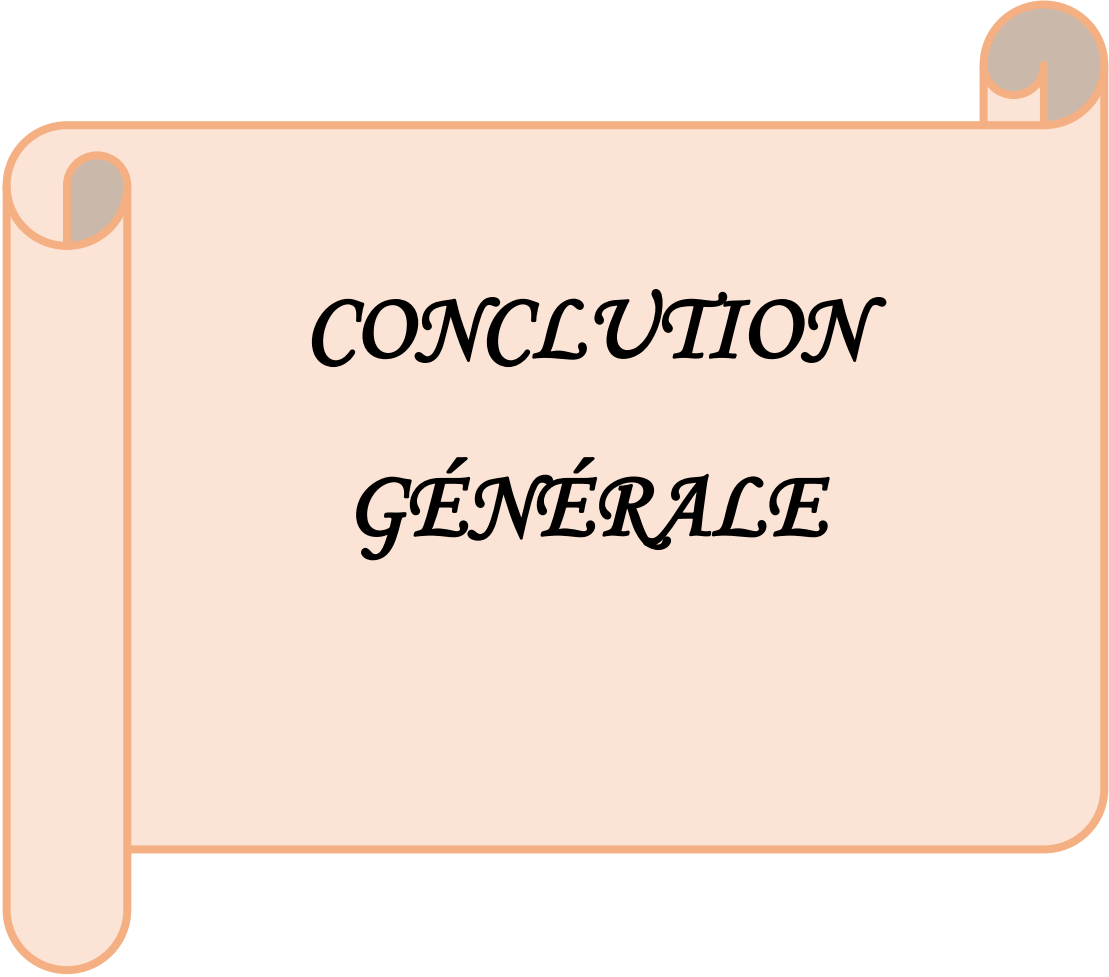
Les résultats d'activité antimicrobienne des différentes concentrations de l'extrait **Ebr** Méthanolique sont présentées dans le tableau au-dessous, montre que la fraction **Ebr**, chez la bactérie *Staphylococcus aureus* présent une activité antibactérienne plus élevées et forte que les autres bactéries avec la zone d'inhibition d'orde : 22.2 mm..

Le pouvoir d'inhibition bactérienne sur la bactérie *Bacillus subtilis* élevée,était d'ordre (19.5 mm-18.2) dans la concentrationvarie entre 15mg /ml et 7.5mg/ml une même zone d'inhibition contre les deux bactéries ,*Staphylococcus aureus* et*Escherichiacoli* de17. 2 mm été enregistré par la fraction **Ebr** Méthanolique avec déffirente concentration 7.5 mg/ml et 15 mg/ml.

Cependant, la fraction **Ebr Méthanolique** exerce une activité antibactérienne modérée estimée à 12.2 mm sur les trois bactéries *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* avec la concentration 1.875mg/ml, 3.75mg /ml et (dans les concentrations 15mg /ml – 7.5mg/ml). La bactérie *Bacillus subtilis* représente la zone d'inhibition de l'ordre de 1.9 cm pour la concentration 7.5mg/ml. La fraction étudiée **Ebr Méthanolique** possède une faible activité antibactérienne de zones d'inhibitions environ entre 1.2cm et 1.1 cm sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. Le diamètre de zone d'inhibition diffère d'une concentration à une autre mais est proche et dans certaines concentrations est nul pour les quatre souches.

Les interprétations sont faites en se référant à l'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne donnée par **Ponce et al., (2003)**. A partir de cette échelle on peut classer les bactéries de la plus sensible à la plus résistante comme suit: *S. aureus* > *B. subtilis* > *E. coli* = *P. aeruginosa*.

Ces résultats, s'accordent avec ceux de **Raho et benali, (2008)** sur la sensibilité de *S. aureus* et la résistance de *P. aeruginosa* vis à vis de l'extrait des feuilles d'*E.globulus*. La méthode de diffusion des disques a révélé que l'effet antibactérien d'extraits de la plante médicinale d'*E.globulus* diffère d'une souche à une autre. Les bactéries *E. coli* et *P.aeruginosa* sont avérées les plus résistantes alors que *S. aureus* et *B. subtilis* sont les plus sensibles. Ces résultats sont en accord avec plusieurs publications concernant les extraits de plantes médicinales où les bactéries à Gram négatif dévoilent une forte résistance aux extraits de plantes que les bactéries à Gram positif (**Arias et al., 2004; Khan et al., 2009; Oliviera et al., 2008**).



*CONCLUSION
GÉNÉRALE*

Conclusions générales

Eucalyptus globulus est l'un des plantes médicinales qui Appartenant à la famille myrtacées, elle est très importante dans notre ère actuelle, surtout après avoir détecté ses effets positifs et thérapeutiques sur le coronavirus, donc nous avons étudié la qualité et la quantité des composants chimiques et biologiques qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. de notre plante l'étude phytochimique et biologique que nous avons faite dans la région de M'silavise à la détermination de rendement des huiles essentielles après l'extraction par la méthode de hydrodistillation, puis la détermination des rendements des différents extraits (Ebr Méthanolique, aqueuse, acétate d'éthyle, n-butanol) ,l'évaluation de l'activité antioxydant et l'activité antibactérienne des feuilles de la plante *Eucalyptus globulus*. donné les résultats comme suit :

L'extrait Méthanolique brut représente la meilleure valeur du rendement avec un pourcentage de 18,378 % - 30.63 % respectivement . Par contre les extraits acétate d'éthyle et n-butanol qui donne une faible valeur du rendement de 10.2 % et 12.52% tandis que le rendement d'huile essentielle est important par rapport les autres payes avec 1.2% .

L'analyse phytochimique qualitative s'est faite par la chromatographie sur couche mince (CCM) des extraits. Est indiquée la présence des molécules bioactives qui par leur tour jouent un rôle dans l'activité biologique, ces molécules sont : les flavonoïdes (les plus abondants) , tannins, Les Stilbènes. Les lignanes, Les saponines, et l'absence des coumarines. Et montré que les meilleurs systèmes les qu' ont plus séparé les différents constituants dans les extraits de *Eucalyptus globulus* dans toutes phases **AcOEt**, **n-BuOH** , extrait brut et extrait des coumarines sont le système N°1 heptane / Acétate d'éthyle (2/8) et le système N°2 chloroforme / Acétate d'éthyle (8/2) avec 7 spots et 9 spots respectivement.

L'évaluation de l'activité antioxydant de l'extrait Méthanolique des feuilles de *eucalyptus globulus* par le test de DPPH révèle que l'Ebr Méthanolique possède un pouvoir antioxydant intégré avec une meilleure activité antioxydant d'IC₅₀=36.10 µg/ml, par contre à l'autre extrait et les huiles possèdent une faible activité antioxydant, les résultats sont interprétés comme suit: l'extrait aqueux < extrait de méthanol < les huiles essentielles.

L'activité antibactérienne de l'extrait Méthanolique Ebr se fait par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé ou aromatoigramme vis-à-vis les quatres souches étudiées: *Staphylococcus Aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Eschershia. Coli*, les les résultats de test montre que les quatres souches des Grams positifs et grand négatif sont résistantes à l'extrait testé .

Enfin l'ensemble de ces résultats analysés ouvre des perspectives d'utilisation de cette plante pour différents usage et ne constitue qu'un début dans le domaine de la recherche des substances naturelles biologiquement actives. Des essais complémentaires seront nécessaires afin de pouvoir confirmer les activités mises en évidence. Il sera intéressant de poursuivre ce travail afin de:

- L'extraction au soxhlet par plusieurs solvants différents. L'extraction par lixiviation.
- L'étude du pouvoir antioxydant des extraits obtenus par les différentes méthodes d'extraction et différents solvants.
- D'étudier d'autres propriétés biologiques de ces plantes, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, anticancéreuses, antispasmodiques, antimutagènes. Antidiabétiques ect.....
- De tester les composés identifiés individuellement en faisant appel à des tests pharmacologiques in vivo. De vérifier l'absence d'effets toxiques de ces composés.



RÉFÉRENCE

BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE :

Achat, S. (2013). Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métallique. Thèse de docteur en Sciences Alimentaires., Université A. MiraBejaia.P 22

Aït yousef, M. (2006). Eucalyptus globulus L. InPlante Médicinale de Kabylie « Ed.: Paris,pp: 126-130.

André, ED . (1863). Eucalyptus globulus .Montereau.Paris. P . 7

Annosh, E., et Fatemeh, S. (2010). Dtermination of Total Phenolic and Flavonoids Contents in Methanolic and Aqueous Extract of Achillea Millefolium, Iran journal Org. Chem. Vol 2. PP: 81-84.

Ambriz-Pérez D.L., Leyva-López N., Gutierrez-Grijalva E.P., et Heredia J.B. (2016). Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review.

Arias, E., Gomez, D., Cudmani, N., Vattoune, A., Isla, I . (2004). Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of acacia aroma Gill. Life Science, 75: 191-202P

Ayaz M., Sadiq A., Junaid M., Ullah F., Ovais M., Ullah I., Ahmed J ., et Shahid M. (2019). Flavonoids as Prospective Neuroprotectants and Their Therapeutic Propensity in Aging Associated Neurological Disorders. *Frontiers in Aging Neuroscience*.11.1–20.

Azzazy, M. (2016). Environmental Impacts of Industrial Pollution on Pollen Morphology of Eucalyptus globulus Labill. (Myrtaceae). Journal of Applied Biology& Biotechnology, 4(05), 57–62. <https://doi.org/10.7324/jabb.2016.40509> **Badiaga, M.**

(2011). Etude ethanobotanique phytochimique et l'activité biologique de Nauclea latifolia smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali .Thèse Doct., Univ.Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes ,137p .

Bakkali, F., Averbek S., Averbek D., et Idaomar, M . (2008). Biological effects of essential oils-A review. Food Chem Toxicol.46: 446-475.

Bekka, F. (2009). Effet Des Huiles Essentielles D'origanum Glandulosum Desf. Et Artemisia Herba Alba Asso Sur Des Bactéries Multirésistantes. Memoie De Magister En Microbiologie Appliquée. Université Se Béjaia

Belaiche, P. (1979). Traité de phytothérapie et d'aromathérapie.

L'aromatogramme Tomme 1, Edition Maloine.

Belkessam, A. (2009). L'effet Des Facteurs Climatiques De Métabolisme Secondaires Dans Une Plante Médicinale Ruta Montana L. Thèse De Magistère. Université Oum Elbouaghi.

Benmiloud, K. (2014). Criblage phytochimique, activités antioxydantes et anticandidose des extraits de *Nepeta amethystina* (Gouzeia). Mémoire de Master-Chimie, 47p

Benzeggouta, N. (2005). Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme Aliments. Thèse de magister en pharmacochimie, Université Mentouri de Constantine, p14-18.

Berche, P. (2003). Les staphylocoques. In "Bactériologie systématique", Faculté de médecin Necker-Enfants malades, p12.

Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Hill, R. A., Klaassen, C. D., Liebler, D. C., James, G., Shank, R. C., Slaga, T. J., et Snyder, P. W. (2018). Safety Assessment of Amino Acid Alkyl Amides as Used in Cosmetics Status : Release Date : Panel Meeting Date : Draft Final Report for Panel Review.

Berkal, G., et Bouchama, S. (2016). Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale : *Euphorbia characias L.* Thèse de Mastre-Biochimie et biologie cellulaire et moléculaire, Univ. Frères Mentouri, Constantine, pp.11-26.

Berreghioua, A. (2016). Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux Brassicaceae médicinales du sud Algérien : *Moricandia arvensis* et *Zilla macropetra*. Thèse de doctorat en chimie organique, Université de Tlemcen, p37-38-208.

Boudiaf, A., et bentayeb, D. (2016). Pouvoir allélopathique et biologique des huiles essentielles d' *Eucalyptus globulus* et *Mentha spicata L.* mémoire master, p41

Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., et Mekarnia, M. (2017). *Eucalyptus globulus* (Labill.): un arbre à essence aux mille vertus. Phytothérapie. <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1114-3>.

Boukhalfoun, L. (2012). Extraction des composés actifs chez *Eucalyptus globulus*. In Mémoire de Magister: biotechnologie végétale, Université Saad Dahleb De Blida.

- Bouzabata, A. (2015).** CONTRIBUTION A L'ETUDE D'UNE PLANTE MEDICINALE ET AROMATIQUE MYRTUS COMMUNIS L. Diplome de doctorat, université de badji mokhtar annaba. P.46
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 4^{ème} édition, Tec. ET DOC, Paris .
- Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales , 4 édition, TEC et DOC. Paris.
- Burns , Russell M. , and Barbara H. Honkala , tech . coords. (1990).** Silvics of North America : 2. Hardwoods . Agriculture Handbook 654. U.S. Department of Agriculture , Forest Service , Washington , DC . vol . 2 , 877 p
- Capasso, F., Timothy, S. G., Giulainoi, G et Angelo A. I. (2003).** Phytotherapy A Quick Reference to Herbal Medicine. Springer, New York. p .424
- Carange. (2010).** Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection. 71 pages. Thèse de doctorat. Université du Québec Trois-Rivières .Canada.
- Carr, AC., Zhu, BZ., et Frei, B. (2000).** Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (Vitamin C) and alpha-tocopherol (Vitamin E). Circ Res. 7(5): 349-354
- Chabert, G. (2014).** Myrtacées et aromathérapie Géraldine Chabert To cite this version : HAL Id : dumas-00925796.
- Chavalier, J., Choisy, C., Crémieux, A., Dabord J.-C., Davin-Régli A., Dubreuli L., Finance, C., Linxe, C., Quero, A.-M. et Rynaude, A. (2003).** Agents antimicrobiens, -antiviraux-antibiotiques-. In "Microbiologie générale et santé" Ed.: Eska, ISBN:2-74726-0420-0, pp:278-321.
- Chen, K., Suh, J., Carr, A.C., Morrow, J.D., Zeind, J., et Frei, B. (2000).** Vitamin C suppresses oxidative lipid damage in vivo, even in the presence of iron overload. American Journal Physiology Endocrinology Metabolism, Vol 279(6), pp. 1406-1412
- CIEA (Centre Internationale pour l'Eelavage en Afrique), (1989).** Bullen du Cipea, Addisa.
- Cockcroft, A., Cosgrove, B., et Wood, RJ. (1998).** Comparative repellency of commercial formulations of deet, permethrin and citronellal against the mosquito *Aedes*

aegypti using a collagen membrane technique compared with human arm tests. *Medical Veterinary and Entomology*, 12, 289-294

Conde, E., Cadahia, E., et García-Vallejo, M. C. (1997). Low Molecular Weight polyphenols in leaves of *Eucalyptus camaldulensis*, *E. globulus* and *E. rudis*. *Phytochemical Analysis*, 8, pp: 186-193.

Coppen, J. J. W. (2002). Eucalyptus: The Genus Eucalyptus (Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles). In *Journal of Chemical Information and Modeling*.

Cuilel, N. (1983). Methodology analysis of vegetal drugs. Rmania. P: 1-32.

Cushnie, T. et Lamb, J. (2005). Antimicrobial activity of Flavonoids. *International Journal Antimicrobial Agents*, 26(5):343-356.

Daraoui, M. (2011). Etude phytochimique et biologique des espèces *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniolobos olusatrum* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* *Chrysanthemum trifurcatum* (Asteraceae), **mémoire de doctorat, Constantine.**

De Paulo Farias, D., Neri-Numa, I. A., de Araújo, F. F., et Pastore, G. M. (2020). A critical review of some fruit trees from the Myrtaceae family as promising sources for food applications with functional claims. *Food Chemistry*, 306(September 2019), 125630. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125630>.

Djarri, L. (2011). Contribution à l'étude des huiles essentielles et des métabolites secondaires de trois plantes Algériennes de la famille des Apiaceae *Daucus reboudii* Coss. ex Batt. & Trab., *Kundmannia sicula* (L.) DC., et *Elaeoselinum thapsioides* Maire. Thèse de doctorat en Phytochimie. Université Mentouri de Constantine.

Dupont, F. (2015). Botanique. Les familles des plantes, Tome 15 : Elsevier Masson . Paris . P .309.

D'Archivio, M., Filesi C., Benedetto R., Gargiulo R., C., Giovannini, C., Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Centro nazionale per la qualità degli alimenti*, Vol.43, N. 4, pp.348-361.

Elmeskini, M. K. (2011). Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de Doctorat Université Mohamed V- Rabat, P4.

Emmanuel Claud, F. (1872). L'Eucalyptus globulus Thèse, Ecole Supérieure de Pharmacie Administrateurs . Paris. P .10

- Erau P. (2019).** L'Eucalyptus : Botanique, Composition Chimique, Utilisation Thérapeutique et Conseil à L'office , Diplôme doctorat, Marseille.
- Fabre ,M.C., Genin, A., Merigoux, J., et Moget, E. (1992).** Herboristerie Familiale
 ,Des Recettes Simples Avec Des Plantes Simples Pour Résoudre Les
 Problèmes Simples
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique,p108.beba,Ethiopie,p.4.
- Feryel, D. (2015).** Synthèse et caractérisation des dérivés quinoniques. Application du tannage et test biologiques. Thèse de Doctorat. Université M'hamed Bougara, Boumerdés.p8.
- Fintelmanny., et Fweise , R. (2004).** « Manuel pratique de phytothérapie » , Ed , vigot, p 438.
- Fisher, K., et Philip, C. (2008).** Potential Antimicrobial Uses Of Essential Oils In Food:Is Citrus The Answer? Potential Antimicrobial Uses Of Essential Oils In Food:Is Citrus The Answer? Trends In Food Science &Technology 19 (2008) 156e164.
- Garait, B. (2006).** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la Glisodin .Thèse de doctorat . Université – Joseph Fourier –Grenoble1.
- Gayet, C. (2013).** Guide de poche de phytothérapie. Ed. Quotidien malin. Paris.33p.
- Gomes-Carniero, MR. I., Felzenszwalb, I ., et Paumgarten, FJ. (1998).** Mutagenecity testing (+/-)-camphor, 1,8-cinol,citral,citronellal,(-)-menthol and terpineol with the *salmonella*/microsome assay . *Mutation Research*, 416, 129-136.
- Gueddah, A., et Soualat, kh. (2018).** Activité antioxydante et antibactérienne D'Eucalyptus globulus, Mémoire master académique,m'sila.
- Hadbaoui, Z . (2012).** Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, Proteiques et phenoliques de sorgho et de mil locaux. These de Doctorat, Universite de Kasdi Merbah OuarglaAlgérie.

- Halliwell, B., et Aruoma, O.I. (1993).** DNA damage by oxygen-derived species: its mechanism and measurement using chromatographic methods. In *Molecular Biology of Free Radicals*
- Hamadi, N. (2010).** Effet du resveratrol sur les défenses antioxydantes chez les rats rendus diabétiques par l'injection de la streptozotocine. Mémoire de magistère, 58
- Harkati, B. (2011).** Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille astéracée : *Scorzonera Undulata*. Université Mentouri Constantine, Thèse de doctorat en chimie organique P29, 30, 31, 32, 36.
- Hingston, A. B. (2002).** Pollination ecology of *Eucalyptus globulus* subsp. *globulus* and *Eucalyptus nitens* (Myrtaceae). January, 295.
- Hopkins, W. G. (2003).** Physiologie végétale. De Boeck Supérieur. Paris. p267.
<https://books.google.dz/books?id=hRrTeGIL4uYC&pg=PA73&dq=rôle+des+radicaux+libres&hl=ar&sa=X&ved=0ahUKEwi5lrDGv63iAhUrA2MBHUzpBTsQ6AEINDAD#v=onepage&q=rôle%20des%20radicaux%20libres&f=false>
- Hurtel, J.M. (2001).** Phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie, huiles essentielles.
- Ivan, A. (2001).** Plants medicinal of the words, Tom 2: springer science, new yourk. P41
- Jean-Yves, C. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Sciences pharmaceutiques. hal-01739123
- Jeff, L. et Wayne, L. (2008).** Collaboré avec les bactéries et autre micro-organismes .Ed. du Rouergue .205p.
- Jones, R. C., Hecht, V. F. G., Potts, B. M., Vaillancourt, R. E., et Weller, J. L. (2011).**
 Expression of a FLOWERING LOCUS T homologue is temporally associated with annual flower bud initiation in *Eucalyptus globulus* subsp. *globulus* (Myrtaceae).
Australian Journal of Botany, 59(8), 756–769. <https://doi.org/10.1071/BT11251>.
- Jorite, S. (2015).** La phytothérapie, une discipline entre passé et futur: de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel To cite this version: HAL Id: dumas-01188820 La phytothérapie .52p.
- Julien, F. (2002).** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elle : *Gnidia involucreta* Steud. Ex A. Riche. Thèse de doctorat, Université de Lausanne, p178-180.

- Karak, P. (2019).** Biological activities of flavonoids: an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 10(4): 1567-1574.
- Karmiche, N., et Chaougui, M .A. (2013).** Les activités antifongiques et antioxydants des huiles essentielles d'artimisia herba alba et Eucalyptus globulus, mémoire de master, constantine .P46.
- Kebbab, F . (2014).** Etude du pouvoir antioxydants des polyphénols issu des margines d'olives de variété chamlal : Evaluation de l'activité avant et après déglycosylation. Thèse de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi ousou, p:55.
- Khalil, A. (2002).** Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin E against atherosclerosis. *Can J Physiol Pharmacol*. 80(7): 662 – 669.
- Krief, S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse Doct-Ecologie et chimie, Museum national d'histoire naturelle, MNHN, Paris, 346p.
- Labiod, R. (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydant et activité fongicide. Thèse de doctorat en biochimie appliquée, Université d'Annaba, 155p.
- Laghchimi, A., Znini, M., Majidi, L., Renucci F., El Landrault, N., Larronde, F. et Delaunay J. C. (2002).** Levels of stilbene oligomers and astilbin in French varietal wines and in grapes during noble rot development. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 50(7): 2046-2052.
- Landrault, N., Larronde, F. et Delaunay, J. C. (2002).** Levels of stilbene oligomers and Astilbin in French varietal wines and in grapes during noble rot development. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 50(7): 2046-2052.
- Luis, F., et Moncayo, G. (2002).** WHO MONOGRAPHS ON SELECTED MEDICINAL PLANTS. 2 . P. 106 .

- Luís, A. A., Duarte, A., Gominho, B. J., Domingues, A. F et Paula-Duarte, A. (2016).** Chemical Composition, Antioxidant, Antibacterial And Anti-Quorum Sensing Activities Of Eucalyptus Globulus And Eucalyptus Radiata Essential Oils. *Industrial Crops And Product.*79 :274-283.
- Marfek, A. (2003).** Radiolyse gamme des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools: formation des depsides. Thèse Doct-Biologique., Univ .Limoges, 199p.
- Marque, G. (2008).** Isolement et caractérisation chez l'Eucalyptus de gènes codant les facteurs de transcription CBF impliqués dans la réponse au froid. En vue de l'obtention du DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE. P.6.
- Martinez-Cayuela, M. (1995).** Oxygene free radicals and human disease. *Biochem*, 77: 147-161.
- Mahmoudi, S., Khali, M., et Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus L.*). *Nature & Technology*, N° 09, pp.35– 40.
- Makhloufi, A. (2010).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis L*) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat en Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments. Université de Tlemcen. P 64,65,66,67,74.
- Malesev, D. et Kunti, V. (2007).** Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of Flavonoids via metal –flavonoid complexing reactions .*Journal of Serbian chemical society*, 72(10)921-939.
- Mauro, N. (2006).** Synthèse d'alcaloïde biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (+/-)-camptothécine , Université Joseph Fourier-Grenoble I, français.
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.114599>.
- Médart, J. (2009).** Manuel pratique de nutrition: l'alimentation préventive et curative. 2ème édition. Edition de Boeck Université, p 51 , 52.
- Merinaldo, G., et Flavio, T. (2016).** Famiglia Botanica Myrtaceae. Scuola Internazionale Di Formazione Permanente in Medicina Omeopatica Classica . Barbara Rigamonti . P

. 6.

Michael, G. (2016). Plant Systematics . Tome 2 : Elsevier . London . P . 353

Mika, A., Minibayeva, F., Beckett, R. et Luthje, S. (2004). Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochem.Rev* (1-2):173-193.

Mohammedi, Z., et Atik, F. (2012). Hplc-Uv Analysis And Antioxidant Potential Of Phenolic Compounds From Endemic Shrub Of Arid Environment *Tamarix Pauciovulata* J. Gay. Natural Products Laboratory, Department Of Molecular And Cellular Biology, Faculty Of Sciences, University Of Abou Bakr Belkaid, Bp 119 Tlemcen 13000, Department Of Biology, Faculty Of Life And Natural Sciences, University Mustapha Stambouli, Bp 305 Mascara 29000, Algeria.

Molyneux, P. (2004). The Use Of The Stable Free Radical Diphenyl Picryldrazyl (DPPH.) For Estimating Antioxidant Activity Song Klanakaran. *Journal Of Sciences And Technologies*, 26 (2) :211-219p.

Moroh, J. LA ., Bahi, C., Dje, K., Loukou, Y.G., et Guede-Guina, F. (2008). Etude de L'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne –redheat (Rubiaceae) Sur la croissance in –vitro des souches d'*Escherichia coli*. *Bull.Soc.Royale.Sci.Liège*, 77:44-61.

Mosbah, C. (2017). Etude De L'effet Antimycotoxinogène Et Antihépatotoxique Des Extraits D'une Plante Utilisée Dans La Thérapie Traditionnelle, Thèse De Doctorat. Université Des Frères Mentouri – Constantine 1. Pp 36-37.

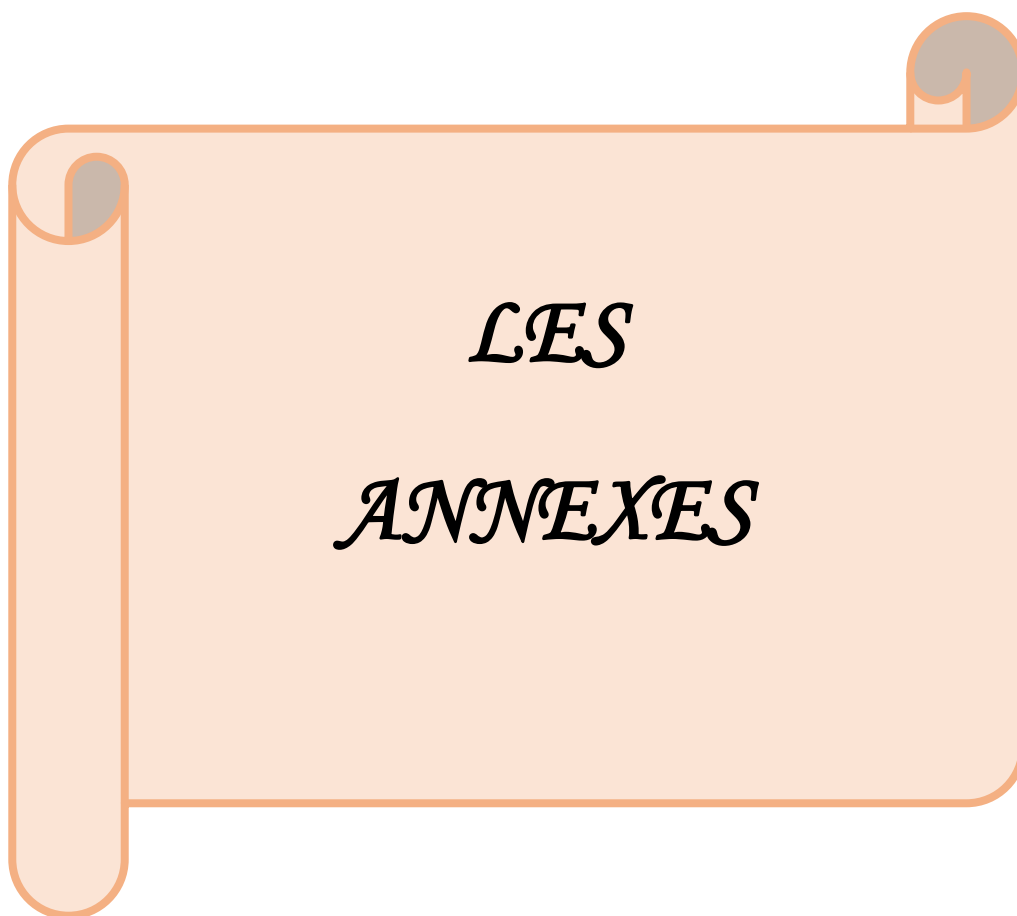
Ngakegni-Limbili . A.C. (2012). Etude de synergie des effets chimiques et biologiques des huiles essentielles et des lipides de réserve des fruits et graines saisonniers de la région Afrique Centrale. Thèse de doctorat en Sciences des Agro-ressources. Université de Toulouse.p18.

- Obame Engonga, L. (2009).** Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines. Thèse Doctsciences., Univ. Ouagadougou, pp.34-42.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., et Simons, A. (2009).** Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0 (<http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>)
- Pan, M., Lei, Q., et Zhang, H. (2020).** Prediction and confirmation of active ingredients in *Eucalyptus globulus* Labill leaves. *Industrial Crops and Products*, 154(June), 112631. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112631>.
- Patil, V. A., et Nitave, S. A. (2014).** A Review on *Eucalyptus Globulus* : a Divine Medicinal Herb. *World J. Pharm Pharm Sci.*, 3(6), 559–567.
- Petersen, M., Hans, J. et Matern, U. (2010).** Biosynthesis of phenylpropanoides and related Compounds. *Annual Plant Reviews Volume 40: Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*, Wiley-Blackwell: pp182-257
- Pibiri, M.C. (2005).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat en sciences. École Polytechnique Fédérale De Lausanne. France. p37
- Piquet, M.A., et Hébuterne, X. (2007).** Nutrition en pathologie digestive ;Ed: DOIN; 253p.
- Ponce, G., Fritz, R., Del Valle, E., et Roura, I. (2003).** Antimicrobial activity of essential Oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und – Technologie*, (36) : 679–684p.
- Press, A. (2013).** Essential Oils for Beginners. In *Althea Press* (Vol. 1, Issue 1). p . 63
- Puig, C. G., Revilla, P., Barreal, M. E., Reigosa, M. J., et Pedrol, N. (2019).** On the suitability of *Eucalyptus globulus* green manure for field weed control. *Crop Protection*, 121(February), 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.03.016>.
- Quézel, P et Santa, S. (1963).** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2, p 637.

- Rabiai, M. (2014).** Étude physicochimique et évaluation de l'activité biologique d'une huile essentielle et l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* de la région M'SILA. Diplôme Master, Université de M'SILA. P.6.
- Rahmani, H. (2017).** *Contribution à l'étude phytochimique et valorisation de l'espèce Agave americana L. dans l'Ouest Algérien.* Thèse Doct-Sciences. Univ. Djillali Liabes, Sidi Bel Abbes, 135p.
- Raho, B., Ghalem, M., et Benali, M. (2008).** Antibacterial activity of leaf essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus camaldulensis*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(10) : 211-215p. ISSN 1996-0816.
- Reichheld, J. P., Meyer, E., Khafif, M., Bonnard, G., et Meyer, Y. (2005).** AtNTRB is the major mitochondrial thioredoxin reductase in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.* 579(2): 337-342.
- Rubenza, D., Shemb, M., Otsyiac, R., et Bakengesac, S. (2005).** Polyphénolics and tannins effect on in vitro digestibility of selected *Acacia* leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 119:129-142p.
- Sylvie, V. (2015).** *L'apothéose de la phytothérapie.* Ed. Eyrolles, Germain. p.19
- Sabrina, K. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal. Thèse de doctorat, Muséum national d'histoire naturelle, Ouganda, p20.
- Saffidine, K. (2015).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus L.* et de *Plantago major L.* Thèse de Doctorat, Univ. Ferhat Abbas Sétif, p8.
- Sakina, S. (2009).** Thème Activité antioxydante et antibactérienne des extraits. 2009–2010.
- Sell, C. (2010).** *Chemistry of Essential Oils. Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Appl.*
- Sobiesiak, M. (2017).** Chemical Structure of Phenols and its Consequence for Sorption Processes. *Phenolic Compounds - Natural Sources, Importance and Application.* 1-26. *Cogent Food and Agriculture.* 2(1): 1-14.

- Soares, A. F. (2005).** Effets Du Stress Oxydant Sur Le Fonctionnement Des Adipocytes : Adiponectine et Prostaglandines. Thèse Doctorale : Biochimie. Ecole Doctorale Interdisciplinaire Science-Santé. N° : 2005-ISAL- 00123 : 35 43.
- Spichiger, R., Jeanmonod, D. (2004).** Botanique systématique des plantes à fleurs (3^{ème} édition). Paris.P.288-328.
- Steane, D. A., Conod, N., Jones, R. C., Vaillancourt, R. E., et Potts, B. M. (2006).** A comparative analysis of population structure of a forest tree, *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), using microsatellite markers and quantitative traits. *Tree Genetics and Genomes*, 2(1), 30–38. <https://doi.org/10.1007/s11295-005-0028-7>
- Symposium, I . (2012).** International Symposium on Guava and Other. Petrolina, Brazil.P.13
- Taleb-Toudert, K . (2015).** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Diplôme de doctorat , université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou . Algérie . P .49
- Tesche, S., et Metternich, F. (2008).** The value of herbal medicines in the treatment of acute non-purulent rhinosinusitis. Results of a double-blind, randomised, controlled trial. *Arch. Otorhinolaryngo.*
- Thornhill, A. H., et Crisp, M . D. (2012).** Phylogenetic assessment of pollen characters in Myrtaceae. *Australian Systematic Botany*, 25(3), 171–187. <https://doi.org/10.1071/SB11019>.
- Torres, R., Faini, F., Modak, B., Urbina, F., Labbe, C., et Guerrero, J. (2006).** Antioxidant activity Of Coumarins And Flavonols From The Resinous Exudate Of *Haplopappus Multifolius*. *Phytochemistry*. 67: 984–987.
- Trabut, M . L . (1914).** Naturalisation d'un *Eucalyptus* en Algérie: *Eucalyptus algeriensis* Trab.; *Bulletin de La Societe Botanique de France*, 61(5), XIII–XIV. <https://doi.org/10.1080/00378941.1914.10832605>
- Trrig, J .K . (1996).** Evaluation of a *Eucalyptus*-based repellent against *Anopheles* ssp. In Tanzania. *Journal of American Mosquito Control*, 12, 243-246.

- Tsao, R . (2010).** Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*. 2(12): 1231–1246.
- Tyagi, A., Malik, A . (2011).** Antimicrobial Potential And Chemical Composition Of Eucalyptus Globulus Oil In Liquid And Vapour Phase Against Food Spoilage Microorganisms. *Food Chemistry*, 126 : 228–235P.
- Ulanowska, k., Majchrzyk, A., Moskot, Jakobkiewicz-Banecka et Wegrzyn, G. (2007).** Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*, 62(2):132-135.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., et Mazur, M . (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 39(1): 44-48.
- Wilson, P. G., O'Brien, M. M., Gadek, P. A., et Quinn, C. J. (2001).** Myrtaceae revisited: A reassessment of infrafamilial groups. *American Journal of Botany*, 88(11), 2013–2025. <https://doi.org/10.2307/3558428>
- Wu, C., Huang, M., Lin, Y., Ju, H., et Ching, H. (2007).** Antioxidant properties of Cortex fraxini and its simple coumarins. *Food Chem*, 104: 1464–1471.
- Xiao, Z., Zhu, Q. et Zhang, H-y. (2014).** Identifying antibacterial targets of flavonoids by comparative genomics and molecular modeling. *Open journal of genomics*, vol, 3. (1):p.p.1-8
- Zekri, N. (2017).** Etude phytochimique et Activité Biologiques des Huiles Essentielles et des Extraits des *M. pulegium* L. *M. suaveolens* (Ehrh.) et *M. spicata* (L.) du Moyen-Atlas Marocain. Thèse de doctorat en chimie de l'environnement, Université Mohammed v faculté des sciences Robot, p9.



LES

ANNEXES

Annexes 01:

Matériel :

Appareillage	Verrerie	Solvants et Réactive (Produit chimique)
<ul style="list-style-type: none"> • balance de précision • Balance • Agitateurs magnétique • Evaporatour rotatif (rotavapor) • Etuve • Vortex • Spectrophotométrie 	<p>Béchers, pipettes, ballons, éprouvettes graduées, flacons 100 ml, flacons 1000 ml, spatule, Erlenmeyers, tubes à essais, tubes avise, pipette et micro pipette, boites de pétrie, entonnoirs, micropipette, tubes à essai, les cuves.</p> <p>Autres : Mortier Portoir, papier aluminium, papier filtre .broyeur électrique</p>	<ul style="list-style-type: none"> • acide gallique (C7H6O5) • eau distillée • réactif de FolinCiocalteau • éthanol (C2H5OH) • quercétine(C15H10O7) • NaNO3 (5%), • Trichlorure d'aluminium (AlCl3) • NaOH • Acide chlorhydrique (Hcl) 37% • chlorure ferrique (FeCl3) • NH4OH • CHCL3 • Acétate d'éthyle • N-butanol

Annexes 02:



Figure:Appareil du rotavapeur rotatif .

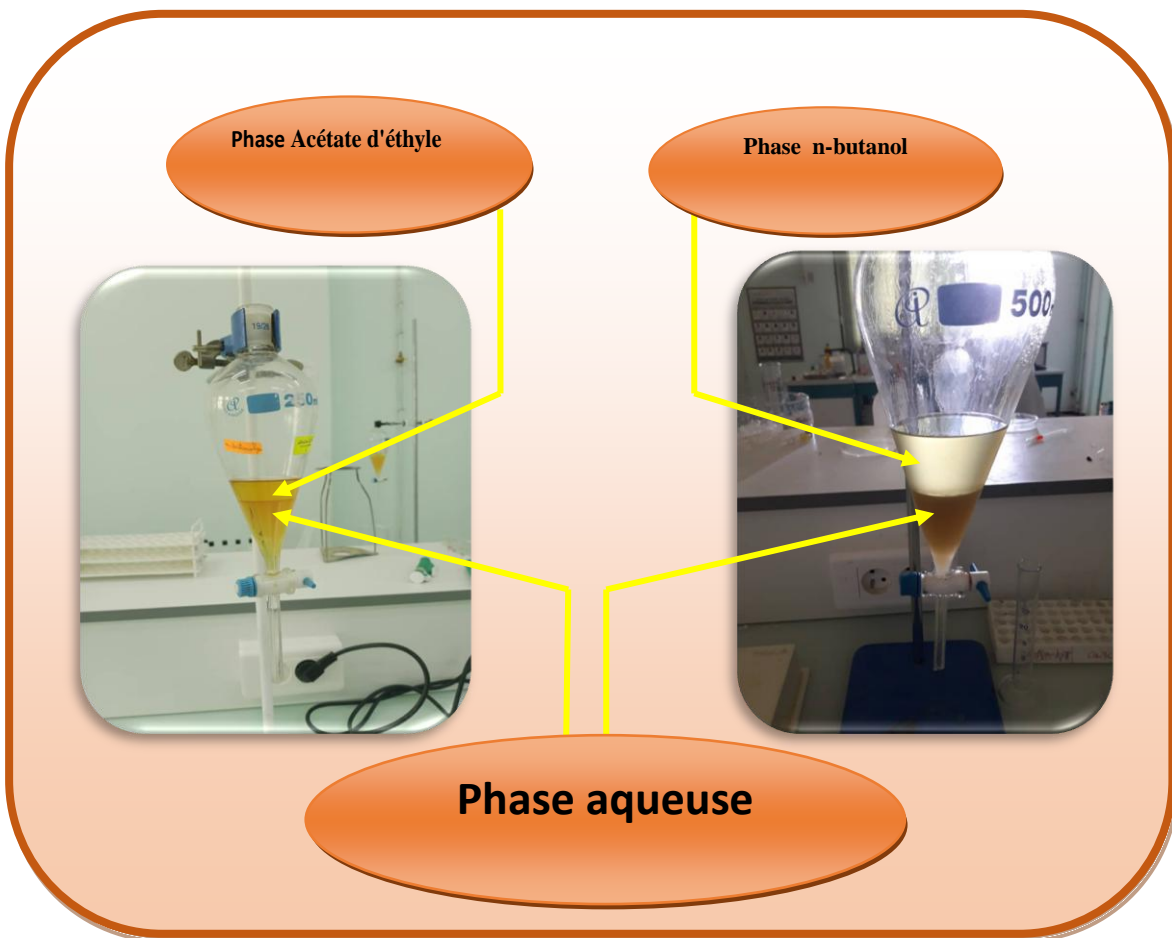


Figure: Méthode d'extraction liquide-liquide du feuille.

Annex 03 :

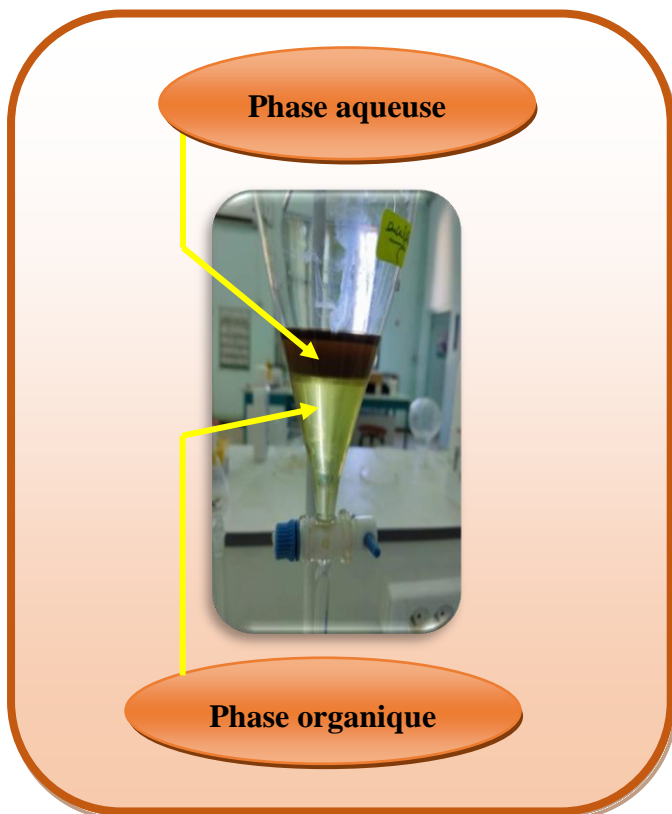


Figure: Méthode de l'extraction des coumarines de la feuille.



Figure: Appareil de l'Ultra-violet pour l'observation des couleur de la séparation.



Figure:Appareil de spectrophotométrie (Photo originale).



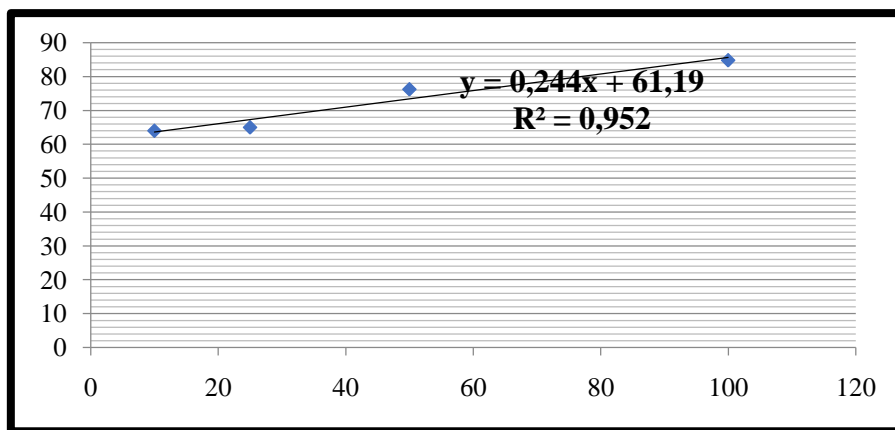
Figure: Méthode de diffusion sur disque (Bekka, 2009).

Annex 04:

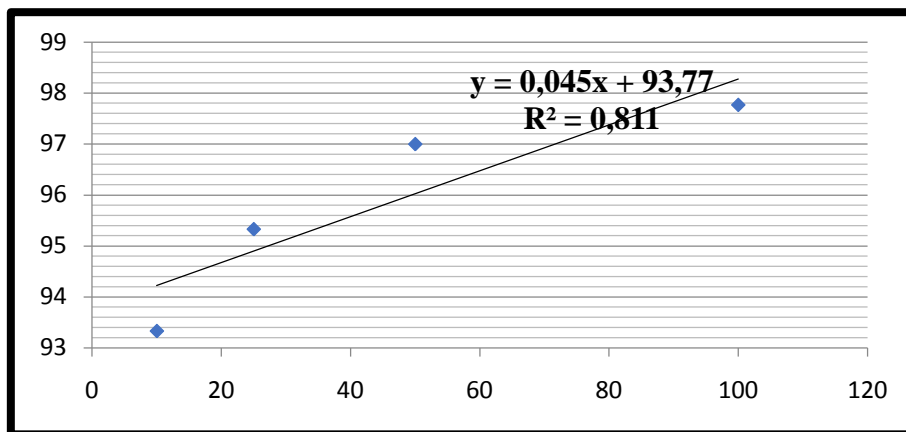
IC₅₀

	AQUEX	Méthanolique	Huile essentielle
IC50	36,10	138,44	109,32

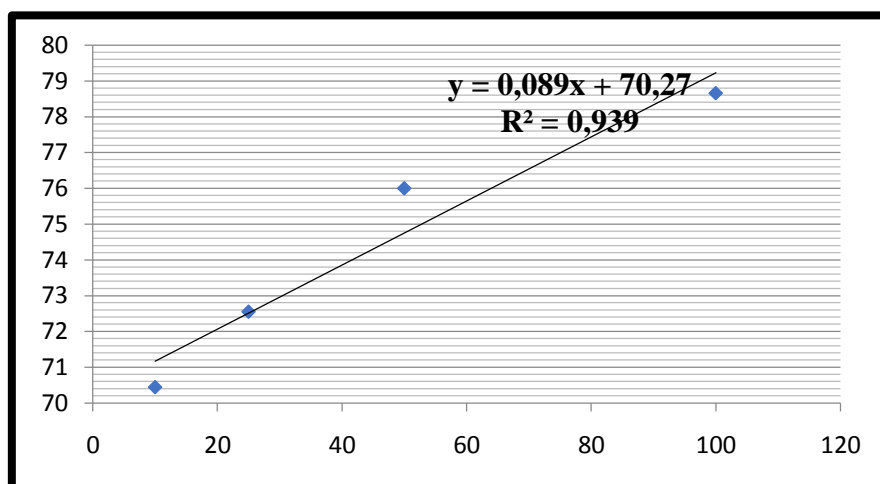
AQUEX



Méthanolique



Huile essentielle



ملخص

الكاليتوس نبات طبي، يتميز بخصائصه الطبية والعطرية. الهدف من هذه الدراسة هو التقييم الكيميائي النباتي والبيولوجي للزيوت الأساسية ومستخلصات الأوراق. والتحليل الكمي والنوعي، وكذلك فحص و استخلاص ومعايرة البولي فينول.

انطلاقاً من النتائج التطبيقية قيمنا تركيبة الأوراق بوجود الفلافونويد، الزيوت الطيارة، والكومارين، وكان مردود المستخلص Ebr Méthanolique ومستخلص Ebr.Aqueuse علي التوالي (30.63% , 18.378%) أعلى من تلك الموجودة في Acétat d'éthyle 12.52 n-Butanol 10.2% ، وعليه الفلافونويدات لجزء Acétat d'éthyle عالية بالمقارنة مع تلك الموجودة في جزء n-butanol

التقطير المائي للزيوت الطيارة أعطى مردود قيمته تساوي 1.2%، وظهر الكومارين عائداً يقدر ب 11,4% و نتائج النشاط المضاد للأكسدة أظهرت أن جميع المستخلصات لديهم قدره كبيرة ($IC_{50} = 36.10$) $IC_{50} = 138,44 \mu g/ml$, ($IC_{50} = 109.32 \mu g/ml$ $\mu g/ml$ الأساسية على التوالي و النشاط المضادة للبكتيريا التي تم إجراؤها على السلاسل الأربعة *Bacillus Cereus* et *Escherichia coli* , *Psudomonas aeruginosa* *Staphylococcus aureus* أظهرت أن المستخلص الذي تم اختباره بنشاط ضد البكتيريا *Staphylococcus aureus* ملموس، علي عكس بقية السلالات البكتيرية .

الكلمات المفتاحية: الكاليتوس، كيمياء النبات، النشاط ضد الاكسدة، النشاط ضد البكتيري.

Abstract

Eucalyptus globulus is a medicinal plant, pharmacological and aromatic this study aims at evaluating the essential oils and extracts of this plant's leaves from both aspects biologically and phytochemically following quantitative and qualitative research methods, the polyphenol were analysed in terms of screening, extraction and determination. Therefore, it was founded that leaves contain flavonoids, essential oils and coumarins.

The extraction efficiency of the Ebr Methanol and Ebr aqueous fractions gave successively (30.63%, 18.378%) was higher than that found in the Acetat 12,52% ,n-butanol 10,2% Flavonoids for the ethyl acetate that was elevated compared to that found in the fraction n-butanol.

The hydrodistillation of essential oils gave an extraction yield equal to 1.2 %. The results of the antioxidant activity show that all extracts have a considerable power (IC₅₀= 36.10 µg/ml and IC₅₀ = 138.44 µg/ml, and IC₅₀ = 109.32 µg/ml for the Ebr, Methanol and HE fraction (respectively).

properties, the objective of this study is the phytochemical and biological evaluation of the essential oils and extracts of the leaves. The quantitative and qualitative analysis of the species was carried out a screening, extraction and determination of polyphenols. Based on the results of the practices we evaluated that the composition of the leaves found the presence of flavonoids, essential oils, coumarines. . The extraction efficiency of the Ebr Methanol and Ebr aqueous fractions gave successively (30.63%, 18.378%) was higher than that found in the BUT 12.52, ACT 10.2%. Flavonoids, for the BUTfraction that was elevated compared to that found in the fraction ethyl acetate,The hydrodistillation of essential oils gave an extraction yield equal to 1.2 % .The results of the antioxidant activity show that all extracts have a considerable power (IC₅₀ = 36.10 µg/ml and IC₅₀ = 138.44 µg/ml, and IC₅₀ = 109.32 µg/ml for the Ebr, Methanol and HE fraction (respectively). Antimicrobial activity performed on the four strains: *Bacillus Cereus* and *Escherichia coli* . , *Psaudomonas aeruginosa* , *Staphylococcus aureus* has shown that the tested extract has an appreciable antibacterial activity is less evident in reference to *psaudomonas aeruginosa*.

Keywords: *Eucalyptus globulus*, phytochemical, antioxidant activity, antimicrobial activity.

Résumé

Eucalyptus globulus est une plante médicinale, caractérisée par leurs propriétés pharmacologiques, aromatiques, l'objectif de cette étude est l'évaluation phytochimique et biologique de l'huile essentielle et des extraits des feuilles.

L'analyse quantitative et qualitative de l'espèce a été réalisée : un screening, une extraction et le dosage des polyphénols.

D'après les résultats des pratiques nous avons évalué que la composition des feuilles a relevé la présence des flavonoïdes, l'huile essentielle, coumarines.

Le rendement d'extraction des fractions EBr Méthanolique et EBr aqueuse a donné successivement (30.63%, 18%, 18.378 %) était supérieur à celui trouvé dans les fractions BUT 12.52, ACT 10.2%.

Les flavonoïdes, pour la fraction acétate d'éthyle qui a été élevée par rapport à celle trouvée dans la fraction BUT. L'hydrodistillation des huiles essentielles a donné un rendement d'extraction égale à 1.2 %. Les résultats de l'activité antioxydante montrent que tous les extraits ont un pouvoir considérable ($IC_{50} = 36.10 \mu\text{g/ml}$ et $IC_{50} = 138,44 \mu\text{g/ml}$, et $IC_{50} = 109.32 \mu\text{g/ml}$ pour la fraction Ebr, Méthanolique et HE (respectivement).

L'activité antimicrobienne réalisée sur les quatre souches : *Bacillus Cereus* et *Escherichia coli.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* a montré que l'extrait testé doués d'activité

antibactérienne appréciable et contraste que l'activité la plus élevée chez *Staphylococcus aureus* et la moins chez *pseudomonas aeruginosa*.

Mots clés : *Eucalyptus globulus*, phytochimique, activité antioxydante, activité antimicrobienne.