

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun – Tiaret –
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : biologie moléculaire et cellulaire

Présenté par :

- AID ZOHRA
- FERHAT HOUDA
- KAMBRIT KHALDIA

Thème

Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de l'Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*)

Jury : Grade
Président: M.ALI NAHARI.....MCA
Examineur : Mme. MOKHEFI.MCA
Encadrant: M. ACHIR MOHAMEDMCA

Année universitaire 2022-2023

REMERCIEMENTS

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

Premièrement, nous remercions notre cher encadrant **Dr. ACHIR. M** 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 gratitudees et respect.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements aux membres du jury : Dr. ALI NAHARI.A » pour avoir accepté de présider notre jury de soutenance, et Dr MOKHFI.F pour avoir bien accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements à tous nos enseignants du département de science de la nature et de vie pour leurs soutient pendant tout notre parcours universitaire et à tous les ingénieurs de laboratoire de biochimie et de microbiologie.

A la fin, un grand merci à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Sans oublier nos collègues d'études et particulièrement notre promotion
(M2 Bio-Mol_2023)

Dédicaces

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.

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 Mohamed.

A mon modèle de sacrifice, d'amour et de générosité, la lumière de mon chemin, l'étoile de ma vie ; à ma très chère mère : Fatima

A mes chères frères et mes sœurs surtout mon frère Sofiane

A mes petites chères : Haithem, Adem, Wissal, Bouchra, Fatiha, Mohamed. Mokhtar, Youcef.

A mes binômes Houda et kenza avec qui j'ai travaillé et

J'ai partagé les bons moments durant toute l'année. Sans oublié ma chéri amis khalida et tous les amis de notre promo.

Merci

Aid Zohra



Avec l'aide de Dieu, j'ai pu accomplir cet exploit final

Dédié à :

*Chers parents : Messaoud et Tagine pour le soutien qu'ils m'ont
apporté tout au long de mon parcours scolaire*

*Mes sœurs et frères, Khaira, Amani, Fatiha, Nasser, Fares,
Houssein,*

La fille de ma sœur, sirine Houda

A mes amies Zineb, Fatima, Chaima, Zohra, Tahani et kenza

Pour mon mari Belkacem

A ma future fille, Belkis.

Avec toute ma gratitude et mon amour

Ferhat Houda



Avec l'aide de DIEU, j'ai pu réaliser ce modeste travail que

Je dédie A:

Mes chers parents comme un témoignage de mon grand amour:

Mohammed & Messaouda.

*Mes amis sans oublier: Zineb, Meriem, Maryana, Chaima,
Fatima, Houda et Zohra*

Pour leur présence de tous les instants,

Pour le soutien qu'ils m'ont apporté,

Avec toute mon affection et ma reconnaissance.

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu accomplir cet exploit final

Kambrit Khaldia

Table des matières

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Table des matières

Résumé

Summary

ملخص

introduction..... 01

Synthèse Bibliographique

1. Généralités 04

2. Répartition géographique d'espèce *Eucalyptus globulus* 05

2.1. Dans le monde..... 05

2.2. En Algérie..... 06

3. Description botanique d'*Eucalyptus globulus* 06

4. Taxonomie 06

5. Composition chimique de l'*Eucalyptus Globulus* 07

6. Usage traditionnel 07

7. Métabolites secondaires 07

7.1. Composés phénoliques ou polyphénols..... 08

7.2. Les flavonoïdes..... 08

7.3. Tanins 08

8. L'activité antioxydante 08

9. L'activité antibactérienne..... 09

10. L'activité hémolytique..... 09

Table des matières

Matériel et Méthode

1. Matériel biologique	11
2.Échantillons du sang humain.....	11
3. Préparation de l'extrait végétal.....	12
4. Dosage des polyphénols totaux.....	12
4.1. Principe	12
4.2. Mode opératoire.....	12
5. Dosage des flavonoïdes totaux.....	12
5.1. Principe	12
5.2. Mode opératoire	13
6. Dosage des tannins	13
6.1. Principe	13
6.2. Mode opératoire.....	13
7. L'activité antioxydante	13
7.1. Estimation du pouvoir anti radicalaire par la méthode du DPPH	13
7.2. Principe	13
7.3. Mode opératoire	14
8. L'activité hémolytique.....	14
8.1. Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits.....	15
8.2. Principe	15
8.3. Matériel biologique.....	15
8.4. Deux souches bactériennes (Gram négatif).....	15
8.5. Une souche bactérienne (Gram positif).....	15

Table des matières

8.6. Préparation de la suspension bactérienne.....	16
8.7. Préparation du milieu de culture.....	16
8.8.Préparation des dilutions.....	16
8.9. Méthode des puits.....	16
8.10. Préparation des disques.....	16

1. Rendement d'extraction	18
2. Criblage phytochimique.....	19
2.1. Flavonoïdes totaux	19
2.2. Tanins totaux.....	20
2.3. Polyphénols totaux.....	21
3. Evaluation de Activité antioxydant	21
4. Evaluation de Activité hémolytique	25
5. Activité antibactérienne.....	26
Discussion.....	28
Conclusion.....	31
Références bibliographiques	

Liste d'abréviation

Liste des abréviations

AlCl₃: Aluminium chloride.

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

EAG : Equivalent acide gallique..

EQ: Equivalent Quercétine.

IC₅₀: Concentration inhibitrice de 50 % de DPPH

mg/ml : Milligramme par millilitre.

Na₂CO₃: Carbonate de sodium.

R: Rendement.

µl : Microlitre.

% : pourcentage.

g : gramme.

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1 : Taxonomie systématique d'Eucalyptus globulus.....	06
Tableau 2: Rendment des extraits d'Eucalyptus globulus.....	18
Tableau 3: les valeurs d'IC d'extraits aqueux et éthanolique.....	24

Liste des Figures :

Liste des Figures :

Figure 01 : Feuilles d'E. Globulus.....	04
Figure 02 :Localisation géographique du site de l'échantillonnage d'E.globulus. Région de de Frenda (Tiaret) et de la région de bordj bonaama (Tissemsilt).....	11
Figure 03 : variation de teneur en flavonoïde d'Eucalyptus globulus	19
Figure 04 : variation de teneur en tanins d'Eucalyptus globulus	20
Figure 05 : variation de teneur en polyphénol d'Eucalyptus globulus.....	21
Figure 06 : évaluation de l'activité antioxydante (Dpph IC50) des feuilles d'eucalyptus globulus en Tiaret	22
Figure 07 : évaluation de l'activité antioxydante (Dpph IC50) des tiges d'eucalyptus globulus en Tiaret.....	22
Figure 08 : évaluation de l'activité antioxydante (Dpph IC50) des feuilles d'eucalyptus globulus en Tissemsilt.....	23
Figure 09 : évaluation de l'activité antioxydante (Dpph IC50) des tiges d'eucalyptus globulus en Tissemsilt	24
Figure 10 : Evaluation du taux d'hémolyse en fonction de la concentration de feuille d'eucalyptus globulus (Tiaret et Tissemsilt).....	25
Figure 11 : Evaluation de l'activité par la méthode des disques.....	26
Figure 12 : Evaluation de l'activité par la méthode des puits.....	26

Liste des Figures :

Résumé

L'eucalyptus est une plante appartenant à la famille des Myrtaceae, connu pour son usage dans de multiples domaines, ces propriétés phytochimiques et biologiques font de cette espèce végétale une plante très recherchée et très utilisée dans la médecine traditionnelle.

L'analyse phytochimique et l'étude des propriétés biologiques ont montré que la teneur en flavonoïdes dans l'extrait aqueux est de 23.60 ± 745 µg EAG/mg et dans l'extraits éthanolique $32.93 \pm 5,51$ µg EAG/mg. La teneur en tanins est estimée à $229,25 \pm 56.96$ µg EAG/mg

La teneur en polyphénols dans l'extrait aqueux, partie de tige (Frenda) est estimé à $23,60$ µg EAG/mg et $9,90$ µgEAG/mg, dans l'extrait éthanolique. Dans la région de Tissemsilt le résultat obtenu est de 32.93 ± 6.47 µg EAG/m.

Concernant l'activité antioxydante, la Valeur d IC50 pour radical libre DPPH avec extraits d'Eucalyptus globulus $0,32$ µg ml.

Les résultats de l'activité hémolytique montrent que présentant une concentration élevée de $48.500 \pm (-32.75)$ mg/ml

Concernant l'activité antibactérienne les résultats des tests ont montré que les trois souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*(Gram+) et *Escherichia coli*. (Gram-) ont présenté une résistance à l'extrait éthanoïque des feuilles (échantillon Frenda).

Mots-clés : Eucalyptus, Polyphénols, Flavonoïdes, tanins, Propriétés biologiques.

Summary

Summary

Eucalyptus is a plant belonging to the Myrtaceae family, known for its use in multiple fields, these phytochemical and biological properties make this plant species a highly sought after plant and widely used in traditional medicine.

Phytochemical analysis and study of biological properties showed that the flavonoid content in the aqueous extract was $23.60 \pm 745 \mu\text{g EAG/mg}$ and in the ethanolic extract $32.93 \pm 5.51 \mu\text{g EAG/mg}$. Tannin content estimated $229.25 \pm 56.96 \mu\text{g EAG/mg}$

The polyphenol content in the aqueous stem part extract (Frenda) is estimated at $23.60 \mu\text{g EAG/mg}$ and $9.90 \mu\text{g EAG/mg}$ as well but in the ethanolic extract. In the region of Tissemsilt the result obtained $32.93 \pm 6.47 \mu\text{g EAG/m}$

Antioxidant activity, IC50 value for DPPH free radical with extracts of Eucalyptus globulus $0.32 \mu\text{g ml}$.

The results of the hemolytic activity with a high concentration of $48,500 \pm (-32.75) \text{ mg / ml}$

Regarding the antibacterial activity the test results showed that the three bacterial strains *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (Gram+) and *Escherichia coli*. (Gram-) showed resistance to the ethanolic extract of the leaves (Frenda sample).

Keywords: Eucalyptus, Polyphenols, Flavonoids, tannins, Biological properties.

الأوكالبتوس هو نبات ينتمي إلى عائلة Myrtaceae ، والمعروف باستخدامه في مجالات متعددة ، وهذه الخصائص الكيميائية النباتية والبيولوجية تجعل هذا النوع من النباتات نباتًا مرغوبًا للغاية ويستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي. أظهر التحليل الكيميائي النباتي ودراسة الخصائص البيولوجية أن محتوى الفلافونويد في المستخلص المائي كان 745 ± 23.60 ميكروغرام / ملغ وفي المستخلص الإيثانولي 5.51 ± 32.93 ميكروغرام EAG / ملغ. يقدر محتوى التانين بـ 56.96 ± 229.25 ميكروغرام EAG / mg يقدر محتوى البوليفينول في مستخلص جزء الجذع المائي (Frenda) بـ 23.60 ميكروغرام EAG / mg و 9.90 ميكروغرام EAG / mg أيضًا ولكن في المستخلص الإيثانولي. في منطقة tissemsilt ، تم الحصول على النتيجة 6.47 ± 32.93 ميكروغرام EAG / م

نشاط مضاد للأكسدة، قيمة IC50 لجذر DPPH الحر مع مقتطفات من *Eucalyptus globulus* 0.32 ميكروغرام مل.

تظهر نتائج النشاط الإنحلالي الدم بتركيز عال قدره $48500 \pm (32.75-)$ مجم / مل. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للبكتيريا ، أظهرت نتائج الاختبار أن الثلاثة السلالات البكتيرية *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* (Gram +) و *Escherichia coli* (جرام-) أظهر مقاومة للمستخلص الإيثانولي للأوراق (عينة فرندة

الكلمات المفتاحية: الأوكالبتوس ، البوليفينول ، الفلافونويد ، العفص ، الخواص البيولوجية.

Introduction

Introduction :

Depuis des milliers d'années les ressources végétales constituent une source d'intérêt primordial pour l'humain et ses besoins. Elles continuent d'être un moyen thérapeutique utilisé dans le monde entier (**Cardoso et al., 2019**) car elles représentent une ressource de composés actifs. En effet les métabolites secondaires restent l'objet de nombreuses recherches in vivo et in vitro, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels (**Hazzit, 2015**)

L'eucalyptus est une plante médicinale de la famille de Myrtaceae, Chimiquement cette famille est riche en composé phénoliques et en tannins et elle est aussi reconnue comme une des principales familles qui produit des flavonoïdes et souvent producteurs d'huiles aromatiques beaucoup d'espèces appartenant à cette famille sont une source pour la parfumerie ou pour l'usage thérapeutique, ces composés sont appelées composés métaboliques secondaires responsable à la protection contre les agents pathogènes et des activités biologiques comme l'activité antioxydante , anti-inflammatoire, anticancéreuse, antimicrobienne, traitement de infections, analgésiques,..... etc.

Malgré les diverses études sur l'utilisation d'Eucalyptus dans plusieurs domaines et celui de la médecine traditionnelle, peu de travaux ont été réalisés sur certaines fractions de ses feuilles L'Algérie ne fait pas exception, c'est un pays regorgeant d'une richesse très importante en flore, et cela est dû à sa position géographique, présente une large gamme d'étages bioclimatiques, induisant une biodiversité de plantes (**Emberger,1971**)

La valorisation de notre patrimoine végétal et la recherche des extraits des plantes qui présentent des propriétés biologiques intéressantes font l'objet des axes de recherches actuelles et l'utilisation de ces plantes pour le traitement de différentes maladies s'est développée de manière spectaculaire Dans ce cadre, nous avons donc choisi de mener une étude scientifique sur l'eucalyptus globulus sur le plan phytochimiques et biologiques de deux régions déficients:Tiaret et Tesmssilet, afin de contribuer à valorisation in vitroles constituants de cette espèce et de mettre en évidence les éléments non développés auparavant.

L'objectif de notre travail de mémoire extraction et évaluation des propriétés

Introduction

bioactives de la plante *Eucalyptus globulus*., par la recherche des composés qui peuvent trouver une utilisation thérapeutique. A cet effet, la plante *Myrtaceae*, *Eucalyptus globulus*, a fait l'objet d'études phytochimiques. Notre étude se compose de deux parties.

La première partie consiste en des études bibliographiques. Présentation de la recherche sur la bioactivité métabolique secondaire, l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne d'*Eucalyptus globulus*. Dans la deuxième partie, le matériel et les méthodes utilisées dans notre étude pour obtenir des composés phénoliques sont introduits. Ensuite, nous évaluerons leurs activités antioxydantes et antibactériennes, présenterons et discuterons les résultats obtenus. Enfin, en guise de conclusion générale, nous présentons les principaux résultats obtenus.

Synthèse Bibliographie

1-Généralités :

La plupart des espèces d'Eucalyptus, y compris Eucalyptus globulus et toutes les autres Myrtaceae, sont originaires d'Australie et de Nouvelle-Zélande (**Guignard, 2001 ; Broussard et Cuisance, 1984**).

Le nom "Eucalyptus" a été inventé en 1789 par le botaniste français L'Héritier De BRUTELLE et est dérivé des mots grecs « Eu » pour « bon » et « Kaluptos » pour « je couvre » en référence au caractère distinctif des boutons recouverte d'une calotte appelée opercule. L'eucalyptus a été introduit dans la civilisation occidentale au XIXe siècle et en Algérie en 1854 (**Boullard, 2001**), (**Beloué, 2005**).

E. globulus, E. camaldulensis et E. gomphocephala sont les espèces les plus répandues dans la région méditerranéenne en raison de leur facilité d'adaptation. Environ 600 espèces sont connues dans le monde. Certaines espèces d'eucalyptus s'hybrident facilement entre elles car les graines de pollen peuvent être facilement transférées d'une espèce à une autre, ce qui complique encore leur identification (**Ghenaiet, et al., 2016**).



Figure 01: Feuille d'eucalyptus globulus (photo réel).

Les feuilles d'eucalyptus globulus sont un ingrédient essentiel en raison de leurs propriétés médicinales, notamment comme antitussif et expectorant. Dans la médecine traditionnelle africaine, les infusions ou décoctions de feuilles sont utilisées pour traiter l'asthme, la bronchite, l'amygdalite, le rhume, les problèmes urinaires et les saignements. Pour la grippe et la diphtérie, les vapeurs de feuilles

séchées et bouillies ou une poudre fine sont inhalées (**Boukhatem et al., 2017**).

Une décoction de feuilles est ajoutée à l'eau du bain et utilisée pour traiter la varicelle chez les enfants, et un bain de bouche d'extrait de feuilles a été préparé pour la méningite (**Boukhatem et al., 2017**).

L'extrait de feuilles est utilisé pour traiter les ulcères gastro-intestinaux (**Abirami et al., 2017**) et la résine de gomme de la plante est utilisée pour traiter la diarrhée (**Boukhatem et al., 2017**).

L'huile essentielle d'eucalyptus a une activité antivirale et antifongique contre « le virus de l'herpès simplex (HSV) et le VIH » (**Messous et Chourar, 2019**).

En raison de la teneur élevée en 1,8-cinéole de l'huile essentielle d'eucalyptus, elle a des effets expectorants, antihypertenseurs, vasodilatateurs, hépatoprotecteurs et cicatrisants importants. De plus, des effets immunostimulants, des effets antiparasitaires contre les nématodes et les trypanosomes, et des effets antifongiques et antiacnéiques ont également été signalés.

Par conséquent, plusieurs études ont montré que les flavonoïdes abondants dans les feuilles d'eucalyptus provoquent des effets hypoglycémiantes (**El Baraka, 2019**). L'utilisation d'eucalyptus comme sédatif léger du système nerveux central peut aider à calmer le système nerveux central (**Goetz et Ghedira, 2012**).

2. Répartition géographique d'espèce *Eucalyptus globulus* :

2.1. Dans le monde :

Arbre majeur poussant dans les plantations d'eucalyptus des régions tempérées du monde (**Hingston, 2002**), originaire du sud-est de l'Australie mais cultivé dans le monde entier pour le bois à pâte et le bois (**Jones et al., 2011**). Son aire de répartition naturelle comprend également Victoria sur le continent australien. Il est cultivé en Tasmanie et dans certaines des îles Bas Lo (**Steane et al., 2006**), mais est maintenant largement cultivé en Europe, en Afrique du Sud et en Espagne. C'est le pays qui compte le plus de plantations d'eucalyptus, couvrant une superficie d'environ 600 000 ha (**Puig et al., 2019**).

2.2. En Algérie :

Les eucalyptus couvraient une superficie de 5 855 ha dont plus de la moitié se trouvait dans l'Olannaise (**Boudy, 1955**). Aujourd'hui, des plantations bordent les côtes d'El Qala et d'Azefaun. Cette espèce habite les régions de Mitijah et Hajuut.

3. Description botanique d'Eucalyptus globulus :

Les feuilles d'Eucalyptus globulus sont une partie importante du genre Eucalyptus (**Pan et al., 2020**), ont un arôme agréable et distinctif (**Azzazy, 2016**), et sont endogènes sous forme de cavités. Une structure sécrétoire d'elles sont étroites, nombreuses et actives, comparables aux cellules sécrétoires globulaires du schizugel (**Taleb-Toudert, 2015**).

Le bouton floral est en forme d'apex, nervuré et recouvert d'un couvercle plat qui supporte une bosse centrale (**Boukhatem et al., 2017**). ; les grains de pollen sont triangulaires, ovales aplatis et convexes en vue pélaire (**Azzazy, 2016**) ; la tige est lisse et parfaitement droite, avec des branches cruciformes s'étendant de haut en bas (**André, 1863**) ; les branches sont très robustes, anguleuses, particulièrement quadrangulaires et blanchâtres dans les nouvelles pousses (**Patil et Nitave, 2014**) ; le fruit est une capsule ligneuse de 15 mm (**Bruns et al., 1990**), large ou arrondie au sommet, dite noire (**Orwa et al., 2009**), et turbinée (**Luis et Moncayo, 2002**).

4. Taxonomie :

Classification des espèces d'Eucalyptus globulus selon la nomenclature classique (**Goetz et Ghedira, 2012**).

Tableau 01: Taxonomie systématique de l'Eucalyptus Globulus :

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Sous-règne	Tracheobionta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales

Synthèse Bibliographique

Famille	Myrtaceae
Genre	Eucalyptus
Espèce	Eucalyptus globulus (Labill.)

5. Composition chimique de l'Eucalyptus Globulus :

L'eucalyptus contient des huiles essentielles (oxyde terpénique : 1,8-cinéol ; monoterpènes : alpha-pinène, limonène, gamma-terpinène, paracymène ; sesquiterpènes : aromadendrone ; sesquiterpénol : globulol), flavonoïdes, acides phénoliques, tanins **(Amakura et al, 2002)**.

L'eucalyptol ou 1,8-cinéole (annexe I) est le principal composé à des concentrations de 70 à 85 % **(Song et al., 2009)**.

6. Usage traditionnel :

L'arbre a été découvert en 1792 par La Villalardièrre de Tasmanie. Le baron Ferdinand Von Müller, conservateur des jardins botaniques de Melbourne, a popularisé ses propriétés médicinales. Grimbart a noté que l'eucalyptus peut purifier les zones humides où il est planté et peut désinfecter l'atmosphère avec son essence volatile. En effet, les plantations d'eucalyptus servaient à désinfecter la région d'Alger. Son activité antipaludique a été confirmée par la disparition des moustiques dans le lac Fesara en Campanie (Italie), en Sicile, en Sardaigne et en Algérie. Au 19^e siècle, l'eucalyptus était considéré comme un antipyrétique, un analgésique des maux de tête, un antispasmodique et un anti-inflammatoire. On pensait que l'écorce avait des propriétés antispasmodiques et antipyrétiques **(Ghidira et al., 2008 ; Pal Sing et al., 2012)**.

Les feuilles d'E. Globulus sont traditionnellement utilisées par voie orale et topique contre le rhume et la congestion nasale **(Bruneton, 1993)**. Cette essence possède également des propriétés antirhumatismales, stimulantes et toniques **(Ernest, 1987)**. Utilisé pour les maladies respiratoires telles que la tuberculose pulmonaire. C'est un excellent remède naturel utilisé pour soigner les plaies, les brûlures et les leucorrhées **(Boulekbache-Makhlouf et al., 2011)**.

7. Métabolites secondaires :

Synthèse Bibliographique

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques synthétisées à partir de métabolites primaires de diverses manières par les plantes. Ils n'ont pas de fonction évidente impliquée dans la croissance et le développement. Il est produit dans diverses familles de plantes, tissus spécifiques, cellules ou stades de développement des plantes. (Singh, 2015 ; Gnatta et al., 2016)

7.1. Composés phénoliques ou polyphénols :

Les phénoliques sont un groupe hétérogène de composés dérivés du métabolisme secondaire chez les plantes. Structuellement, les composés phénoliques ont au moins un cycle aromatique auquel un ou plusieurs groupes hydroxyle sont attachés pour former des structures aromatiques ou aliphatiques (Ambriz-Pérez et al., 2016)

Ce sont de puissants antioxydants qui complètent et améliorent la fonction des vitamines et des enzymes antioxydantes dans la défense contre le stress oxydatif induit par un excès d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Le représentant le plus simple de cette classe est le phénol (Tsao, 2010 ; González Mera et al., 2019)

7.2. Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde désigne un très large spectre de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, dont la structure contient deux cycles aromatiques et un hétérocycle oxygéné de structure C6-C3-C6. Ils sont considérés comme des pigments végétaux presque universels. Les flavonoïdes sont connus pour leurs diverses activités biologiques (Krishna et al., 2001).

Différentes classes de flavonoïdes peuvent être distinguées par la structure de l'hétérocycle et son degré d'oxydation. (Pietta, 2000).

7.3. Tanins :

Les tanins sont des composés phénoliques hautement polymérisés à 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).

8. L'activité antioxydante :

Le terme « antioxydants » fait référence à tous les composés qui ont la capacité d'empêcher ou de retarder l'oxydation des substrats biologiques. Ces composés interagissent avec les radicaux libres pour les rendre toxiques. D'huiles Lié à toute concentration de phénol (Anoosh et al., 2010).

9. L'activité antibactérienne:

Les infections sont provoquées par une variété de micro-organismes et sont responsables de bon nombre des maladies les plus mortelles et des épidémies les plus répandues. Ont été développées pour les traiter, mais leur utilisation abusive est à l'origine de la souche bactérienne multi résistante (Yala et al., 2001).

Des études ont montré que l'HE d'Eucalyptus globulus a une activité antimicrobienne légère contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives, activité y compris contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives, y compris Salmonella enteritidis, Escherichia coli et Pseudomonas aeruginosa. Activité bactériostatique contre tous test les échantillons à l'exception de Pseudomonas aeruginosa (Ait-Ouazzou et al ,2011)

C'est l'effet sur les bactéries peut être attribué à la présence prédominante d'eucalyptol présence quid' eucalyptol, qui a déjà démontré une activité antimicrobienne puissante contre de nombreux agents pathogènes majeurs (Bakkali et al ,2008).

10. L'activité hémolytique:

Le processus d'hémolyse est un phénomène irréversible dans lequel les globules rouges sont détruits et leur contenu libéré (Mezzou et al. 2006). Des facteurs spécifiques à l'organisme tels que l'état de la membrane, le métabolisme énergétique intracellulaire et la structure de l'hémoglobine régulent l'étendue de l'hémolyse

Matériels et Méthodes

1. Matériel biologique :

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire de la faculté SNV de Tiaret (Université Ibn Khaldoun).

L'étude s'est étalée sur une période de quatre mois (du mois de Mars jusqu'au mois de Juin 2023)

Les échantillons d'*Eucalyptus globulus* ont été prélevés durant le mois de mars 2023, de deux régions de la wilaya de Tiaret, il s'agit d'un site de la région de Frenda (Tiaret), et d'un autre lieu situé à Bordj Bounama (tissemsilt)



Figure 02: Localisation géographique du site de l'échantillonnage d'*Eucalyptus Globulus*.
Région de Tiaret (frenda) et Tissemsilt (bordj bounaama)

2. Échantillons du sang humain

Le sang humain a été prélevé des volontaires sains non-fumeurs, qui ne prennent pas d'anti-inflammatoires, pour évaluer les effets hémolytiques et anti-hémolytiques des extraits de plantes.

Le sang, du groupe O positif, a été obtenu par ponction veineuse des volontaires et a été collecté dans des tubes héparines puis utilisé directement pour les analyses hématologiques.

3. Préparation de l'extrait végétal

L'extraction a été réalisée selon le protocole de Potel (2002). Les poudres de plantes ont été extraites dans de l'eau distillée au ratio 10% donc, 50 g de la poudre ont été extraits dans 500ml de l'eau distillée pendant 24 heures par macération à température ambiante puis le mélange a été filtré à l'aide de papier Whatman.

4. Dosage des polyphénols totaux :

4.1. Principe :

La méthode est basée sur l'oxydation de composés phénoliques avec le réactif Folin-Ciocalteu, un mélange de complexes d'acides phosphotungstiques et phosphomolybdiques jaunes. Cette oxydation déclenche la formation d'un nouveau complexe bleu molybdène-tungstène qui absorbe à 765 nm et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents (**Hadouchi et al., 2016**).

4.2. Mode opératoire :

Chaque extrait a été mélangé avec 200 µl de volume à 1 ml de Folin-Ciocalteu. Les solutions ont été combinées et laissées incuber pendant 5 minutes. Après l'incubation, 800 µl de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) ont été ajoutés. Le mélange final a été agité puis incubé dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. Ensuite, l'absorbance de la couleur bleue résultante a été mesurée à une longueur d'onde de 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Pour préparer le blanc, la même procédure a été suivie, à l'exception que l'extrait a été remplacé par le solvant.

5. Dosage des flavonoïdes totaux :

5.1. Principe :

En présence de chlorure d'aluminium, les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres grâce aux groupements hydroxyles libres. La couleur jaune obtenue est donc proportionnelle à la quantité de flavonoïdes dans l'extrait (**Ribereau-Gayon, 1968**).

5.2. Mode opératoire :

1ml de trichlorure d'aluminium (AlCl₃ 2%) est ajouté à 1ml de l'échantillon (2mg/ml) Le mélange est laissé réagir pendant 15 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. La lecture est faite à 430 nm. La concentration des Flavonoïdes totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine et elle est exprimée en µg d'équivalent de quercétine Par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait) (Bahorun et al., 1996).

6. Dosage des tannins :

6.1. Principe :

Les tannins condensés sont dosés par la méthode de la vanilline en milieu acide décrite par Swain et Hillis (1959). Le principe de cette méthode est basé sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des proanthocyanidines en présence d'acide, pour produire un complexe de couleur rouge.

6.2. Mode opératoire:

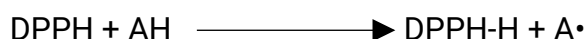
Le mélange réactionnel contient 50 µl de l'extrait et 15ml du réactif de la vanilline (à 4%). On ajoute 750 µl de HCL pur. Après l'incubation à 37°C pendant 20 minutes, l'absorbance a été mesurée à 550 nm.

7. L'activité antioxydante :

7.1. Estimation du pouvoir anti radicalaire par la méthode du DPPH :

7.2. Principe :

Le test au 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH), permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul de l'IC₅₀ des substances antioxydants contenues dans un extrait. Le DPPH est un radical libre de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H⁺.



Où AH est un composé capable de céder un H⁺ au radical DPPH. Cette capacité de

réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaire (**Molyneux, 2004**).

7.3. Mode opératoire :

Le protocole expérimental utilisé est celui de (**Brand-williams et al., 1995**). Avec quelques modifications.

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 4mg de DPPH dans 100 ml de méthanol.

Le contrôle négatif est réalisé en remplaçant l'échantillon par le méthanol et les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH, ce pourcentage est calculé selon la formule suivante.

Où :

$$\text{Activité anti-radicalaire (\%)} = (A_0 - A / A_0)$$

A₀ : Absorbance de la solution du DPPH• sans l'échantillon (contrôle négatif) ;

A : Absorbance de la solution du DPPH• en présence de l'échantillon

Les pourcentages du DPPH résiduels en fonction des concentrations des échantillons, nous Permettent d'obtenir la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH initiale de 50%. Cette valeur est appelée concentration inhibitrice IC50.

8. L'activité hémolytique:

Du sang fraîchement prélevé sur un tube sec a été centrifugé à 3000 tours/minutes pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse. Après élimination du surnageant, le culot a été lavé 2 fois par une solution de lavage eau physiologique resuspendu dans la même solution à raison de 10%. (**Sadique et al., 1989**).

Un volume de 1mL de la suspension érythrocytaire à 10% a été incubé avec 1mL d'extraits à différentes concentrations (1,25mg/ml-2,5mg/ml-5mg/ml) pendant 30 minutes, Après refroidissement les tubes ont été centrifugés pendant 5 minutes à 2500 rpm et la fuite de l'hémoglobine intracellulaire a été mesurée par la lecture de l'absorbance du surnageant à une longueur d'onde de 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Vis.

Pour chaque échantillon le pourcentage d'hémolyse a été déterminé par l'équation suivante

8.1. Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits:

8.2. Principe :

Le principe de la détection de l'activité antibactérienne repose sur la diffusion des agents antimicrobiens dans un milieu de culture solide ou semi-solide afin d'inhiber la croissance d'un micro-organisme indicateur sensible. L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits est réalisée à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose, telle que décrite par Vincent.

L'apparition et la taille du diamètre de la zone d'inhibition reflètent l'impact des extraits sur les souches bactériennes.

8.3. Matériel biologique:

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude sont couramment rencontrées dans différentes pathologies chez l'homme. Ces souches appartiennent au Laboratoire de Microbiologie, Salle 3, Labo B, Faculté des Sciences de la Nature et la Vie, IBN KHALDOUN Tiaret:

8.4. Deux souches bactériennes (Gram négatif):

- *Escherichia coli*: Une bactérie caractérisée par une sporulation anaérobie non facultative, présente dans l'intestin, les selles des animaux et reptiles à sang chaud, ainsi que dans le microbiote intestinal (Tenailon, 2010). Cependant, certaines souches d'*E. coli* ont été identifiées comme pathogènes pour l'homme, causant diverses affections allant de simples diarrhées à des infections systémiques potentiellement mortelles (Dunière et al., 2012).
- *Pseudomonas aeruginosa*: L'agent pathogène le plus couramment rencontré, provoquant une infection chronique (Pressler, 2011).

8.5. Une souche bactérienne (Gram positif):

- *Staphylococcus aureus*: Responsable d'intoxications alimentaires, d'infections locales purulentes et, dans certains cas extrêmes, de septicémies chez les sujets ayant subi une greffe ou portant une prothèse cardiaque (Delphine, 2008).

8.6. Préparation de la suspension bactérienne:

À partir de colonies jeunes (âgées de 18 à 24 heures), une suspension bactérienne est préparée dans de l'eau physiologique ajustée à une turbidité de 0,5 McFarland. La densité bactérienne de la suspension obtenue est d'environ 0,9 à une longueur d'onde de 625 nm.

8.7. Préparation du milieu de culture:

Le milieu de culture est constitué d'une seule couche de gélose MH (Mueller-Hinton). Cette couche est versée en une épaisseur de 2 mm (15 à 20 ml), uniformément répartie dans des boîtes et laissée solidifier.

8.8. Préparation des disques:

Le milieu de culture solide estensemencé en inondant la suspension bactérienne pour couvrir entièrement la surface de la gélose.

Des disques (ou patches) de 6 mm de diamètre sont découpés à partir de papier Whatman, puis autoclavés à 120°C pendant 15 minutes. En utilisant une micropipette et des pinces stériles, les disques sont chargés avec 20 µl de chaque concentration préalablement préparée. Les disques sont ensuite déposés sur la surface du milieuensemencé.

8.9. Méthode des puits:

Des boîtes de Pétri contenant du milieu Mueller Hinton agar sontensemencées par une suspension issue d'une jeune culture bactérienne. L'ensemencement se fait par écouvillonnage.

Après séchage des boîtes, la gélose est perforée au centre avec le bouchon d'une pipette Pasteur.

Les cavités formées sont remplies de la solution aqueuse d'eucalyptus. (40ml).

Les boîtes sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures.

8.10.Préparation des dilutions:

Les extraits sont préparés à différentes concentrations, à partir d'une solution mère de 5mg /ml. À partir de cette solution mère, des dilutions de 2,5m g/ml et 1,25mg/ml et 0,75gm/ml sont réalisées. Ces dilutions sont dissoutes dans du DMSO (Diméthylsulfoxyde) à 50 % pour l'extrait éthanoïque et l'extrait aqueux.

Résultats

1. Rendement d'extraction

Les taux des rendements ont été calculés suivant l'équation suivante :

$$R (\%) = M \times 100/M' \text{ Où:}$$

R: Rendement de chaque phase.

M: masse de l'extrait de chaque phase

M': masse de la matière sèche de la plante

Les rendements des différents extraits de Eucalyptus globulus sont renseignés dans le tableau ci-dessous

Tableau 02: Tableaux rendement des extraits

Types	Rendement (%)
Feuille frenda (aq)	11.54%
Tige frenda (aq)	7.775%
Feuille bordj (aq)	11.922%
Tige bordj(aq)	9.138%
Feuille frenda (éth)	7.20%
Tige frenda (éth)	12.106%
Feuille bordj (éth)	2.178%
Tige bordj(éth)	1.682%

Les résultats obtenus montrent que parmi que l'extrait éthanolique de la partie tige (région de Frenda) représente le rendement le plus élevé avec un taux de 12.106% alors que celui de Tissemsilt (Bordj Bonaama) pour le même organe représente un taux de 1, 682.%.

L'extrait aqueux de la partie feuille d'Eucalyptus globulus de la région Tiaret (Frenda) représente un rendement élevé avec un taux de 11.54% comparativement à l'extrait éthanolique qui représente 7.20 %.

D'un autre côté, L'extrait aqueux des feuilles (région Tissemsilt) présente un taux de 11, 92 % par rapport à l'extrait éthanolique (2, 178 %).

Selon Ben Ammar et al, (2007) les différences qui peuvent exister entre les rendements d'extraction chez les feuilles et les tiges peuvent être attribuées à des

nombreux facteurs tels que : le stade de croissance, conditions pédoclimatiques et édaphiques de la région, technique d'extraction, solvants...etc

2. Criblage phytochimique :

L'analyse phytochimique des différents échantillons prélevés a été réalisée en se référant aux protocoles d'analyse conventionnels et les résultats obtenus concernant le dosage des flavonoïdes, polyphénols et les tanins sont représentés dans les figures ci-dessous.

2.1. Flavonoïdes totaux :

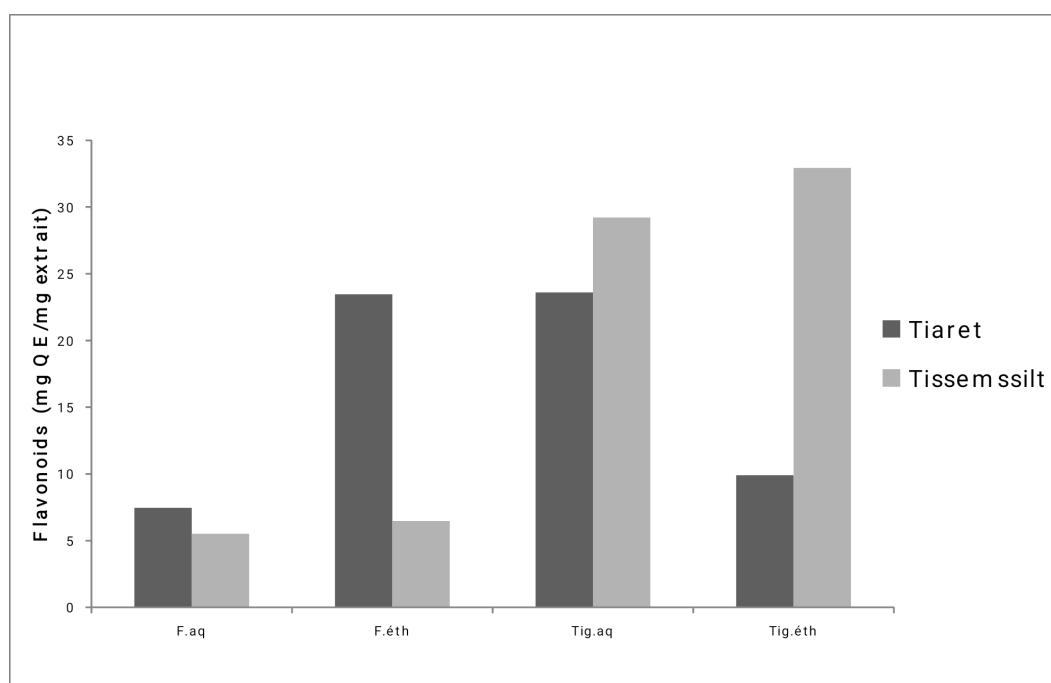


Figure 03: Teneur en flavonoïdes (les feuilles et les tiges)

L'histogramme des résultats montre que l'extrait éthanoïque des tiges d'*Eucalyptus globulus* de la région de Tissemsilt (Bordj Bounama) contient une quantité relativement importante de flavonoïdes avec une teneur de 32,93 μg EAG/mg d'extrait. Tandis que l'extrait aqueux des feuilles affiche une teneur de 5,51 μg EAG/mg d'extrait.

L'analyse phytochimique de l'échantillon d'*Eucalyptus globulus* prélevé de la région de Tiaret(Frenda), montre que la teneur en flavonoïdes varie selon le type d'extrait et

Résultats

la partie de la plante, on remarque que l'extrait aqueux des feuilles affiche des teneurs faibles de l'ordre de 7,45 μg EAG/mg alors que l'extrait éthanoïque du même organe a une teneur de 23,45 μg EAG/mg.

On remarque que l'extrait éthanoïque des tiges affiche des teneurs faibles de l'ordre de 9,90 μg EAG/mg alors que l'extrait aqueux du même organe a une teneur de 23,60 μg EAG/mg.

2.2. Tanins totaux :

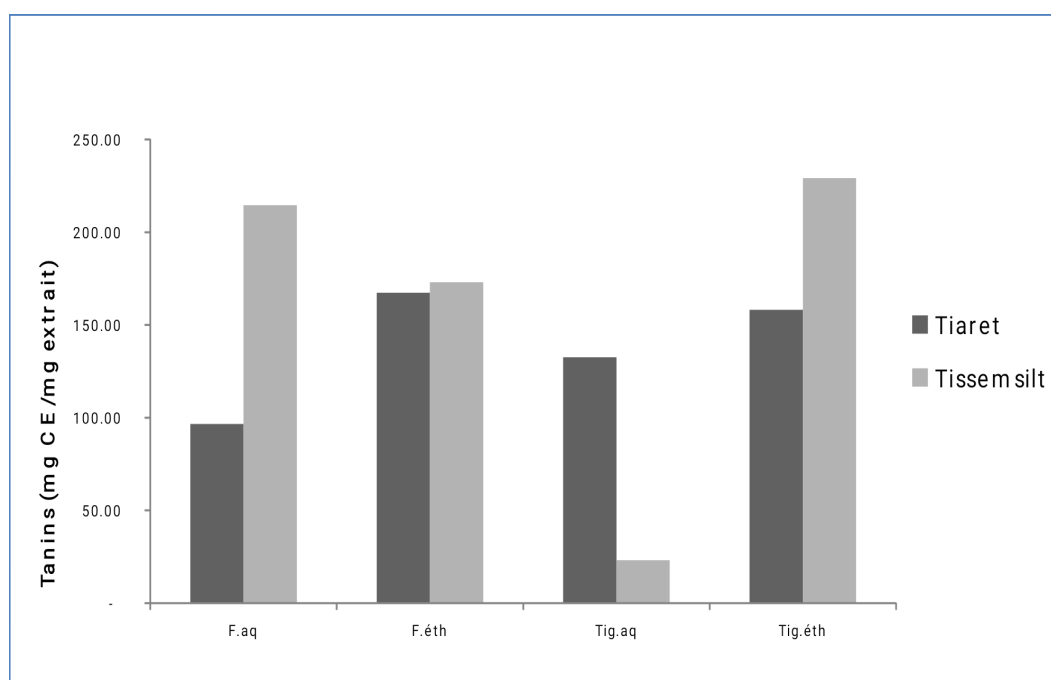


Figure 04: Teneur en tanins (feuilles et les tiges)

L'histogramme résultant montre que l'extrait éthanoïque des tiges d'*Eucalyptus globulus* de la région de Tissemsilt (Bordj Bounama) avec 229,25 μg EAG/mg d'extrait contient une quantité relativement élevée en tanins. En revanche, l'extrait aqueux des tiges a une teneur de 23,06 μg EAG/mg d'extrait.

L'analyse de l'échantillon d'*Eucalyptus globulus* de la région de Tiaret (Frenda), montre que la teneur en tanins varie selon le type d'extrait et la partie de la plante, l'extrait aqueux des feuilles ont une faible concentration en tanins d'environ 96,56 μg EAG/mg alors que l'extrait éthanoïque du même organe ont des niveaux de 167,34 μg EAG/mg.

On note que l'extrait éthanoïque des tiges a une teneur de l'ordre de 158,14 μg EAG/mg alors que l'extrait aqueux du même organe a une teneur faible de 132,58 μg

EAG/mg.

2.3. Polyphénols totaux :

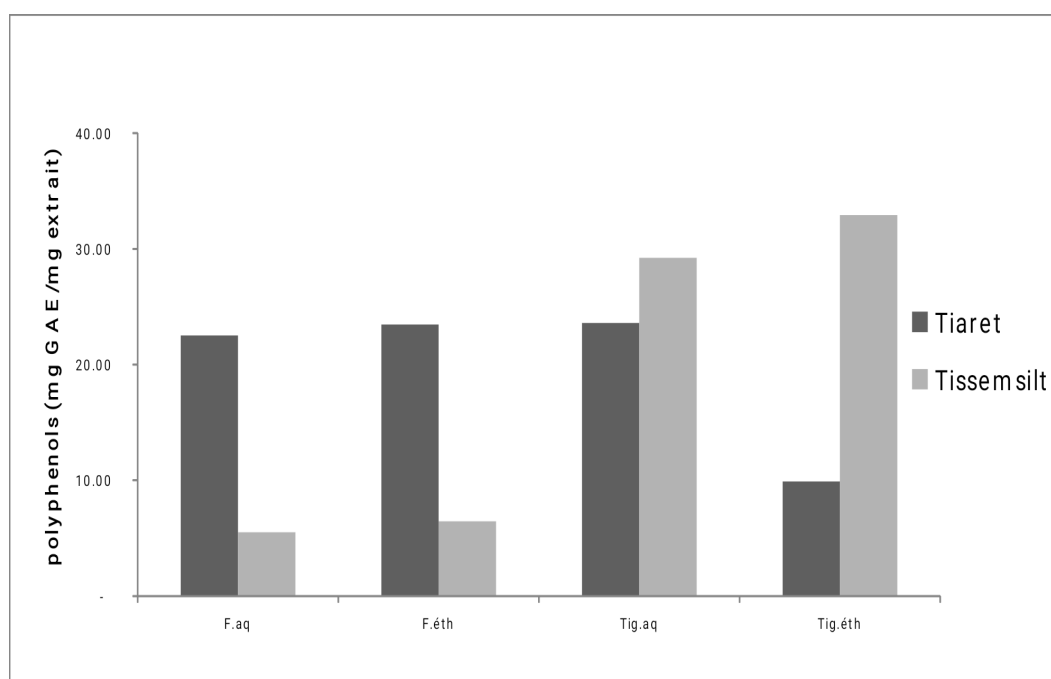


Figure 05: variation des teneurs en polyphénols entre les feuilles et les tiges d'eucalyptus globulus

Les teneurs en polyphénols les plus élevées ont été enregistrées par l'extrait éthanoïque des tiges d'eucalyptus globulus de la région de tissemsilt (bordj bouaama) 32,93 μg EAG/mg d'extrait. Tandis que l'extrait aqueux des feuilles affiche une teneur de 5,51 de μg EAG/mg d'extrait.

L'analyse de l'échantillon d'*Eucalyptus globulus* prélevé de la région de Tiaret(Frenda), montre que la teneur en polyphénols varie selon le type d'extrait et la partie de la plante, on remarque que l'extrait aqueux des feuilles affiche des teneurs de l'ordre de 22,52 μg EAG/mg , alors que l'extrait éthanoïque des tiges a une faible

teneur de l'ordre de 9,90 µg EAG/mg.

3. Evaluation de l'Activité antioxydant:

Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits *d'Eucalyptus globulus* par la méthode DPPH :

L'activité antioxydant des différents extraits de la *d'Eucalyptus globulus* 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 graphes suivants :

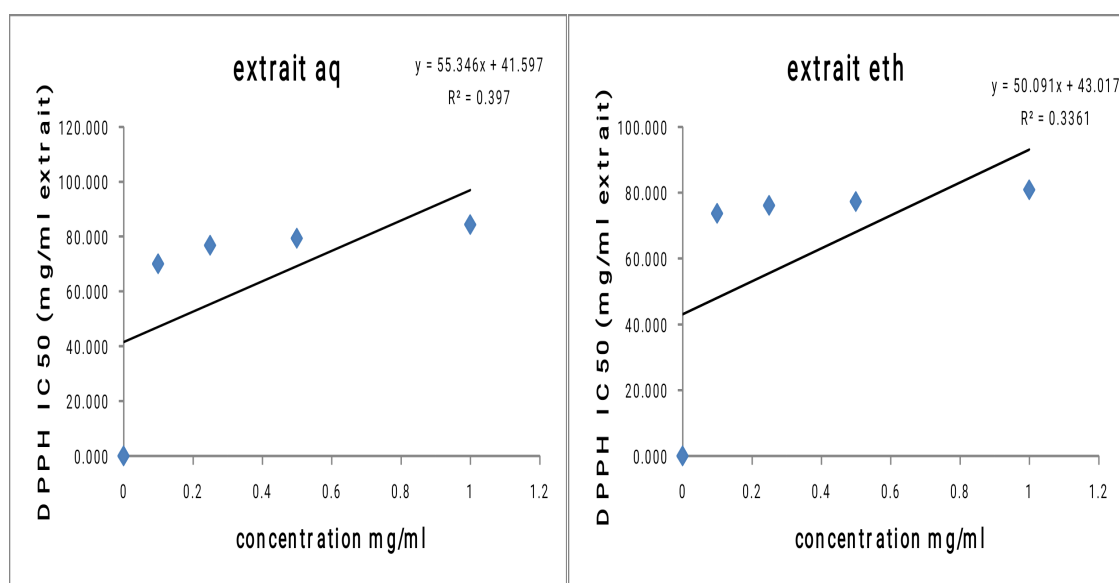


Figure 06: Evaluation de l'activité antioxydante (DPPH IC50) des feuilles d'eucalyptus globulus en Tiaret

L'allure exponentielle des deux courbes, signifie l'existence d'une relation proportionnelle entre le pourcentage de réduction du radical libre et la concentration de l'échantillon dans le milieu réactionnel. Les résultats montrent que l'extrait aqueux des feuilles d'eucalyptus globulus de la région de Tiaret (Frenda) est doué d'une activité antioxydante supérieure à celles l'extrait éthanolique du même organe

Résultats

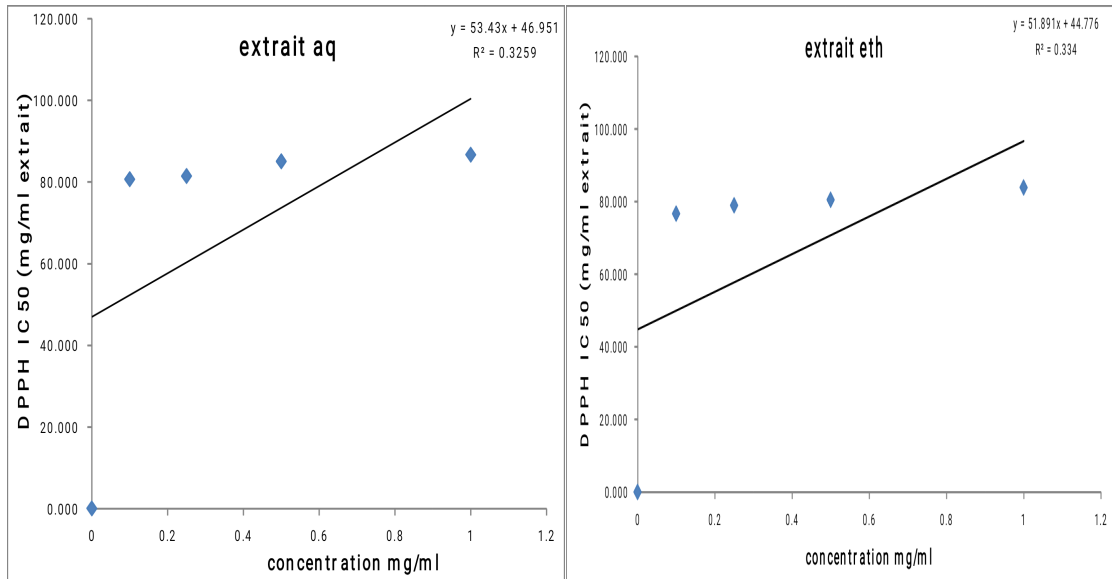


Figure 07: Evaluation de l'activité antioxydante (DPPH IC50) des tiges d'eucalyptus globulus en Tiaret

L'allure exponentielle des deux courbes, signifie l'existence d'une relation proportionnelle entre le pourcentage de réduction du radical libre et la concentration de l'échantillon dans le milieu réactionnel. Les résultats montrent que l'extrait d'éthanoïque des tiges d'eucalyptus globulus de la région de Tiaret (Frenda) est doué d'une activité antioxydant supérieure à celles l'extrait aqueux du même organe

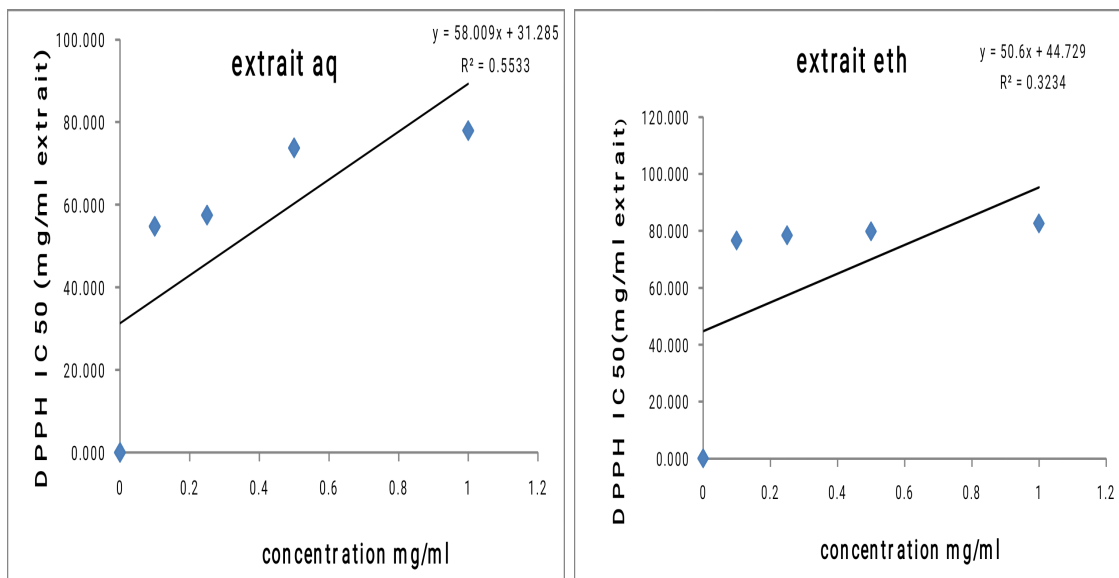


Figure 08: Evaluation de l'activité antioxydante (DPPH IC50) des feuilles d'eucalyptus globulus en Tissemsilt.

Résultats

L'allure exponentielle des deux courbes, signifie l'existence d'une relation proportionnelle entre le pourcentage de réduction du radical libre et la concentration de l'échantillon dans le milieu réactionnel. Les résultats montrent que l'extrait d'éthanoïque des feuilles d'eucalyptus globulus de la région de Tissemsilt (bordj bonaama) est doué d'une activité antioxydant supérieure à celles l'extrait aqueux du même organe

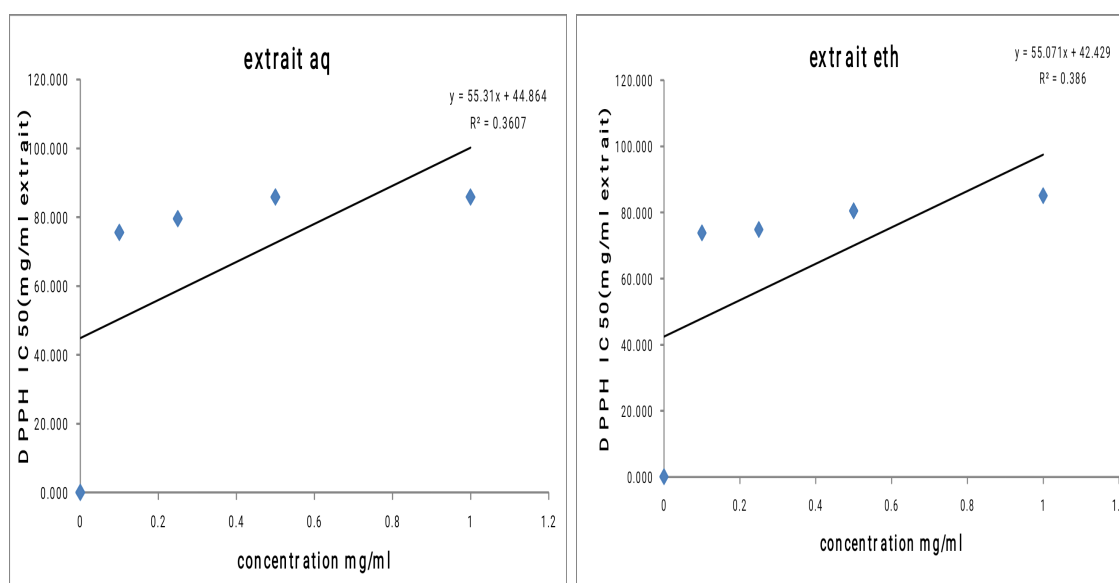


Figure 09: Evaluation de l'activité antioxydante (DPPH IC50) des tiges d'eucalyptus globulus en Tissemsilt.

L'allure exponentielle des deux courbes, signifie l'existence d'une relation proportionnelle entre le pourcentage de réduction du radical libre et la concentration de l'échantillon dans le milieu réactionnel. Les résultats montrent que l'extrait d'éthanoïque des tiges d'eucalyptus globulus de la région de Tissemsilt (bordj bonaama) est doué d'une activité antioxydant supérieure à celles l'extrait aqueux du même organe

Tableau 03: Valeurs de concentration inhibitrice 50

Région	Extrait	IC50(mg/ml)
--------	---------	-------------

Résultats

Tiaret	Feuille (aq)	0,15
	Feuille (eth)	0,13
	Tige (aq)	0,057
	Tige(eth)	0,1
Tissemsilt	Feuille (aq)	0,32
	Feuille (eth)	0,1
	Tige (aq)	0,09
	Tige (eth)	0,13

Les résultats obtenus à partir de IC50 de notre extraits indiquent que l'extrait aqueux des feuilles de Eucalyptus globulus a une excellente activité antioxydant d'IC50 =0.32 µg/ml, alors que l'autre extrait éthanolique ont une activité antioxydant moindre

Et on remarque IC50 de l'extrait aqueux des feuilles de Eucalyptus globulus a une excellente activité antioxydant d'IC50 =0.15 µg/ml, alors que l'autre extrait éthanolique ont une activité antioxydant estime 0,13µg/ml.

4. Evaluation de Activité hémolytique :

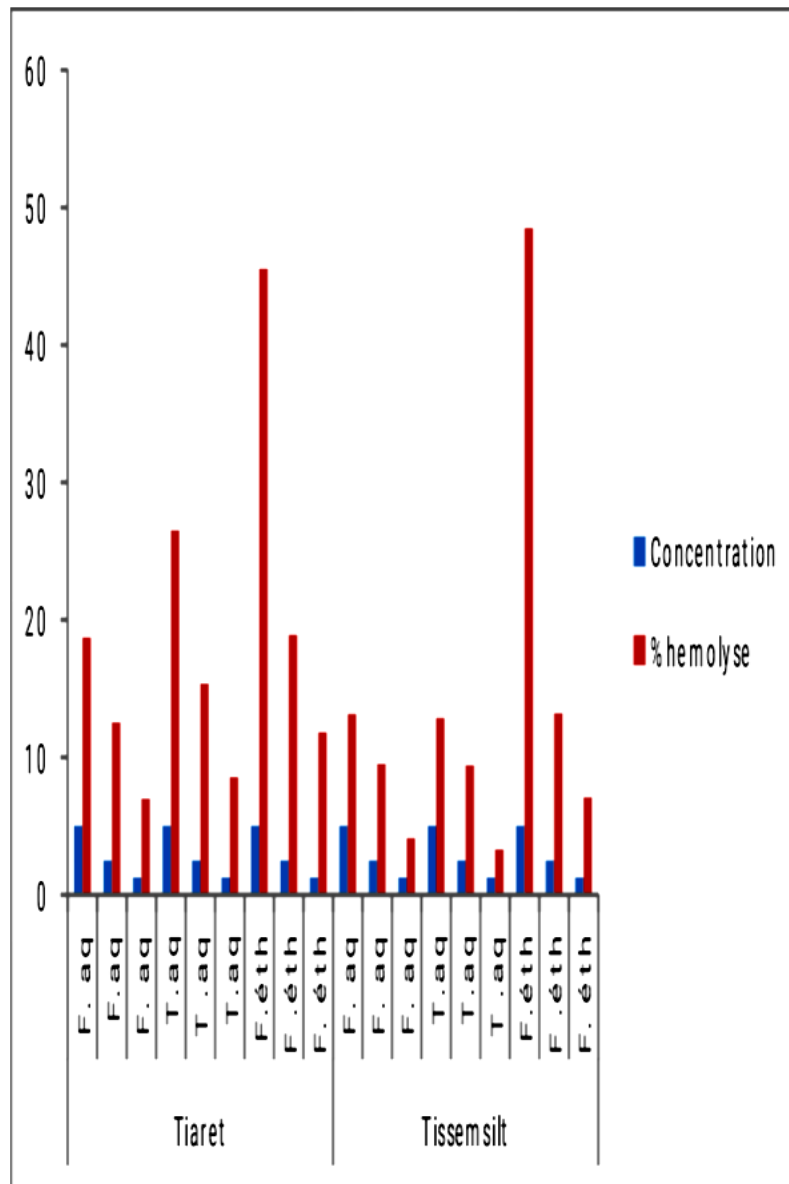


Figure 10: Evaluation du taux d'hémolyse en fonction de la concentration d'eucalyptus globulus (Tiaret et Tissemsilt)

Ces graphes représentent les résultats de l'effet hémolytique de l'extrait aqueux et éthanolique des tiges d'eucalyptus globulus (Tissemsilt et Tiaret)

Notez que cela indique un faible pourcentage d'hémolyse montre que les tiges de l'extrait aqueux. Le principale effet hémolytique est un taux d'hémolyse maximal de 48,50%, compare a un faible pourcentage de 3,31% et par rapport dans les extraits éthanolique.

5. Activité antibactérienne



Figure 11: Evaluation de l'activité par la méthode des disques

Concernant l'évaluation du pouvoir antimicrobien des extraits aqueux et éthanolique de la partie « feuille » à différentes concentrations (10mg/ml, 15mg/ml, et 20mg/ml), l'observation des disques révèle qu'il n'y a aucun effet anti bactérien des extraits sur *Staphylococcus aureus* (Gram +), *Escherichia. Coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-).



Figure 12: Evaluation de l'activité par la méthode des puits

Pour évaluer l'activité antimicrobienne (méthode des puits), des extraites des feuilles à différentes concentrations (0,75mg/ml, 1,25mg/ml, et 2,5mg/ml), l'observation a montré que les extraits n'ont exercé aucun effet antibactérien contre les souches bactériennes utilisées : *Staphylococcus aureus* (Gram +), *Escherichia. Coli* et

Résultats

Pseudomonas aeruginosa (Gram-).

Discussion

Discussion

L'eucalyptus est une plante réputée pour ses multiples propriétés biologiques, il est connu pour ses propriétés anti-inflammatoires, anti-infectieuses et antioxydantes. C'est dans ce contexte que s'inscrit cette étude qui vise à une caractérisation phytochimique suivie d'une étude de ses propriétés biologiques.

Les résultats du criblage phytochimique montrent que la teneur en polyphénols de la fraction « feuilles » de nos échantillons peut atteindre $432,63 \pm 4.59.49 \mu\text{g EAG/mg}$. Alors que la teneur en polyphénols des tiges est de $32,93 \mu\text{g EAG/mg}$. La teneur en polyphénols est généralement variable selon qu'il s'agit de l'organe considéré ou le type de solvant. Il est généralement admis que les feuilles sont relativement riches en polyphénols que les tiges (Troszyńska et al., 2002). D'autre part, Pars et al (2007), montrent que les solvants aqueux donnent les meilleurs rendements de solvants absolus, l'extraction par acétone est l'un des plus courant, il est utilisé pour l'extraction des polyphénols car d'une part il permet d'extraire des niveaux significatif en polyphénols par rapport à l'eau (Troszyńska et al., 2002).

Les résultats du dosage des flavonoïdes montrent que la région de Tissemsilt (Bordj Bounama) avec une teneur de $229,25 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait contient une quantité relativement élevée en tanins. En revanche, l'extrait aqueux des tiges a une teneur de $23,06 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait.

Par ailleurs, l'analyse de l'échantillon d'*Eucalyptus globulus* de la région de Tiaret (Frenda), montre que la teneur en tanins varie selon le type d'extrait et la partie de la plante, l'extrait aqueux des feuilles ont une faible concentration en tanins d'environ $96,56 \mu\text{g EAG/mg}$ alors que l'extrait éthanoïque du même organe ont des niveaux de $167,34 \mu\text{g EAG/mg}$.

On note que l'extrait éthanoïque des tiges a une teneur de l'ordre de $158,14 \mu\text{g EAG/mg}$ alors que l'extrait aqueux du même organe a une teneur faible de $132,58 \mu\text{g EAG/mg}$. Cette grande différence peut s'expliquer par la région où les plantes sont cultivées, la méthode de dosage, la sensibilité et la pureté des réactifs utilisés et le moment de la récolte (Zrira et al., 1994).

Les résultats obtenus de IC50 de notre extraits, montre que l'extrait éthanoïque des feuilles de *Eucalyptus globulus* présent une meilleure activité antioxydant d'IC50 = $0.32 \mu\text{g/ml}$, par contre à l'autre extrait aqueux possèdent une faible activité antioxydant, les résultats sont interprétés comme suit: l'extrait éthanoïque > extrait de aqueux. ce même, ce pouvoir antioxydant de ces fractions est dû à l'abondance de

Discussion

composés phénoliques, dont les groupements hydroxyles jouent le rôle de donneurs d'électrons et de monoterpènes oxygénés et hydrocarbonés. En fait, les flavonoïdes eux-mêmes sont considérés comme d'excellents antioxydants (Bruneton, 1999).

Par ailleurs, Les variations de la valeur d'IC50 peuvent être attribuées à plusieurs raisons, notamment à la composition chimique de la plante (polyphénols et flavonoïdes) qui est tributaire des facteurs génétiques et environnementaux (Abou Elella et al, 2014)

L'hémolyse est le processus de destruction des globules rouges qui libèrent l'hémoglobine dans le plasma sanguin. Les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanoïque des feuilles d'eucalyptus globulus de la région tissemsilt (bordj bounaama) enregistre le taux d'hémolyse le plus élevée 48,50%. D'autre part, l'extrait aqueux de la partie feuille de la région de Tiaret (Frenda) à un taux d'hémolyse de 18,69%, celui des tiges est de 26,50%.

L'activité antibactérienne de l'extrait d'*E. Globulus* a été évaluée en testant l'extrait aqueux et éthanoïque des feuilles de l'échantillon prélevé de la région de Frenda sur trois souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* (Gram+) *Pseudomonas aeruginosa aureus*, et *Escherichia Coli* ,(Gram -). Il ressort des résultats obtenus que l'extrait n'a exercé aucun effet antimicrobien sur les souches.

Ces résultats, s'accordent avec ceux de Raho et benali, (2008) sur la résistance de *P. aeruginosa* vis à vis de l'extrait des feuilles d'*E. Globulus*. Ces auteurs ont expliqué la résistance de *P. aeruginosa* par sa forte capacité de métaboliser un large spectre de composés organiques, ce qui favorise leur utilisation dans la bioremediation. D'autre part selon Elaiissi et al. (2011), *P. aeruginosa* est connu pour sa forte résistance intrinsèque contre de nombreux antibiotiques due à la restriction de sa membrane extérieure même pour les produits synthétiques.

Conclusion

Conclusion

L'eucalyptus est une plante appartenant à la famille des Myrtaceae, connu pour son usage dans de multiples domaines, ces propriétés phytochimiques et biologiques font de cette espèce végétale une plante très recherchée et très utilisée dans la médecine traditionnelle.

Le présent travail se propose d'analyser et caractériser du point de vue phytochimique une variété locale appelée eucalyptus globulus et étudier ses propriétés biologiques.

Les résultats obtenus montrent une teneur en polyphénols totaux de $32,93 \pm 5,51$ μg EAG/mg de la partie tige (extrait éthanolique de l'échantillon de Tissemsilt.)

De même, la teneur en flavonoïdes est de $32,93 \pm 5,51$ μg EQ/mg. de la partie tige (extrait éthanolique de l'échantillon de Tissemsilt.)

Les tanins ont affiché une teneur de 229.25 ± 23.06 μg EQ/mg de la partie tige (extrait éthanolique de l'échantillon de Tissemsilt.)

L'évaluation du potentiel antioxydant de l'extrait a montré d'Eucalptus.globulus a présenté une activité élevée avec une pourcentage IC50 de $0,32 \pm 0,057$ mg/ml.

Les résultats de l'activité hémolytique montrent, que l'hémolyse est un phénomène physiologique irréversible pouvant provoquer la rupture des membranes des globules rouges présentant une concentration élevée de $48.500 \pm (-32.75)$ mg/ml

Concernant l'activité antibactérienne les résultats des tests ont montré que les trois souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*(Gram+) et *Escherichia coli*. (Gram-) ont présenté une résistance à l'extrait éthanolique des feuilles (échantillon Frenda).

Il ressort des résultats obtenus que les échantillons d'eucalyptus étudiés présentent des propriétés biologiques (activité antioxydante et hémolytique) intéressantes. Il serait utile de reprendre cette recherche en multipliant le nombre de sites d'échantillonnage, l'identification et la caractérisation d'autres métabolites, l'étude d'autres propriétés biologiques (activité anti-inflammatoire) et en fin varier les méthodes d'extraction

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Références bibliographiques:

1. Abirami, S., Nishanthini, K and Poonkotha, M. (2017). Antimicrobial Activity and Phytochemical Screening of the Leaf Extracts of *Eucalyptus globulus*. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 9(5) : 85-89 ;
2. Abou-Elella F.M and Farouk Mohammed Ali R.(2014). Antioxidant and anticancer activities of different constituents extracted from Egyptian pricklypear cactus (*Opuntia ficus indica*) peel. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*. 3(2): 1-9
3. Ait-Ouazzou A, Lorán S, Bakkali M, et al. (2011). Chemical composition and antimicrobial Activity of essential oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus Officinalis* from Morocco. *J Sci Food Agric*. 91(14) : 2643-51.
4. Amakura, Y., Umino, Y., Tsuji, S., (2002). Constituents and their antioxydative effects in eucalypyus leaf extract used as a natural food additive. Original research article *foodchemistry*, 77(1) : 47-56p.
5. Ambriz-Pérez D.L., Leyva-López N., Gutierrez-Grijalva E.P., and Heredia J.B. 2016. Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food and Agriculture*. 2(1) : 1-14
6. André, ED. (1863). *Eucalyptus globulus*. Montereau.Paris. P. 7
7. Annosh, E., et Fatemeh, S. (2010). Dtermination of Total Phenolic and Flavonoids Contents in Methanolic and Aqueous Extract of *Achillea Mille folium*, *Iran journal Org. Chem*. Vol 2. PP : 81-84.
8. Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Pinkas, M.,(1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from haw torn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. . *ArzneimlForsch /Drug Research*, 46(11): 1086-1089p.
9. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils-A review. *Food Chem Toxicol*. 46: 446-475.
10. Ben Ammar, R., Kilani, S., Bouhlel, I., Skandarani, I., Mahmoud, A. (2007). Antibacterialand cytotoxicactivities of extractsfrom (Tunisian) *Rhamnus alaternus*. *Annals of Microbiology*. 57(3): 453-460.

Références bibliographiques

11. Boudy, P. Économie forestière nord – africaine. Ed. Masson et cie, Paris, 1955, Tome IV. P 826.
12. Boukhatem, M.N., Ferhat, M.A., Kameli, A et Mekarnia, M. (2017). Eucalyptus globulus (Labill.): un arbre à essence aux mille vertus Eucalyptus globulus (Labill.) : a Perfume Tree with Several Medicinal Purposes. *Phytothérapie*. Doi 10.1007/s10298-017-1114-3, p 1-12
13. Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset, C., (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft-und-Technologie*, 28: 25-30p
14. Bruneton J.(1999). *Pharmacognosy Phytochemistry medical plants* Lavoisierpublishing, USA, New York 2:applagan s. pp555-558
15. Cardoso J. C., Oliveira M. E. B., and Cardoso F.C. 2019. Advances and challenges on the in vitro production of secondary metabolites from medicinal plants. *Horticultura Brasileira*. 37(2): 124–132.
16. Chang Z., Zhang Q., Liang W., Zhou K., Ping Jian P., She G and Zhang L. 2019. A Comprehensive Review of the Structure Elucidation of Tannins from Terminalia Linn. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*: 1-26
17. CIEA (Centre Internationale pour l'Eelvage en Afrique), (1989). Bullen du Cipea, Addisa Rubenza, D., Shemb, M., Otsyinac, R., et Bakengesac, S. (2005).
18. Douëllou, T.; Delannoy, S.; Ganet, S.; Mariani-Kurkdjian, P.; Fach, P.; Loukiadis, E.; Montel, Mc.; Thevenot-Sergentet, D. (2016). Shiga toxin-producing Escherichia coli strains isolated from dairy products – Genetic diversity and virulence gene profiles. *International Journal of Food Microbiology*, (), S0168160516302100–. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.04.032 Dysidea. Mémoire master. Ecole de Chimie Physique et Electronique de Lyon. p 68
19. El Baraka, S. (2019). L'Eucalyptus : propriétés botaniques, phytochimiques Pharmaco–thérapeutiques et usage industriel. Thèse de doctorat, Université de Mohammed Vde Rabat, Maroc. P 05,61, 97, 98, 104, 108.
20. Elaissi, A., Hadj Salah, K., Mabrouk, S., Larbi, M., Chemli, R., Harzallah-Skhiri, F.,(2011). Antibacterial activity and chemical composition of 20 Eucalyptus species essential oils. *Food Chemistry*, 129:1427–1434p.

Références bibliographiques

21. Emberger, L. Travaux de botanique et d'écologie \$ L.(1971)
22. Fellah, H., Ksouri, K., Chaieb, K., Karray, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., (2008). Phenolic Composition of E, Globulus. Organs and their biological activities. *Compte rendu de biologie*, 331 : 372-379p.
23. Foudil-Cherif, Y. Etude comparative des Huiles Essentielles Algériennes d'Eucalyptus, Mémoire de Magister.1991
24. Gênaient, I. Etaouidet, S. (2016). Etude de l'impact des huiles essentielles d'Eucalyptus Globulus Sur Rhyzopertha dominica : Aspect toxicologique et biomarqueur. Mémoire de Master, Département : sciences de la nature et de la vie ; Université De Larbi Tébessi, Tébessa : 46 p
25. Goetz, P et Ghedira, K. (2012). Eucalyptus Globulus Labill. (Myrtaceae) : Eucalyptus. [Collection Phytothérapie pratique] Phytothérapie anti-infectieuse II, P271- 279. Doi : 10.1007/978-2-8178-0058-5_17.
26. Goetz, P. et Ghedira, K. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse. Springer-Verlag. Paris, France. Doi : <https://doi.org/10.1007/978-2-817800585>
27. González Mera I.F., González Falconí D.E and Córdoba V.M. 2019. Secondary Metabolites in plants: main classes, phytochemical analysis and pharmacological activities. *Latin American Journal of Biotechnology and Life Sciences*. 4(4) :1000-1009.
28. Hadouchi, F., Gaouche, T., Halla, N., (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9p.
29. Hazzit M.B. 2015. Composition chimique et activité antimicrobienne de l'extrait non volatil et des huiles. *Recherche Agronomique*. (27): 118-129.
30. Hingston, A. B. (2002). Pollination ecology of Eucalyptus globulus subsp. Globulus and Eucalyptus nitens (Myrtaceae). *January*, 295.
31. 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>.

Références bibliographiques

32. Krishna, D., Chaluvadi, M., Raj, N., Sripal, R., (2001). Bioflavonoids classification, Pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*, 33:2-16p.
33. Messous, N et Chourar, R. (2019). Activité antibactérienne des huiles essentielles de <<Eucalyptus Globulus>> étude phytochimique. Mémoire de master en systèmes de Production agro-écologiques, Université de Blida-1. P 8.
34. Mezzou H., Khalifa A.B., Neffati F., Douki W., Ben Amor a. et Najjar M.F. (2006). Détermination de l'hémoglobine plasmatique et évaluation spectrophotométrique de l'hémolyse en biochimie clinique. *Revue Francophone des Laboratoires*, (386), 59-64
35. Molyneux, P., (2004). The use of the stable free radical diphenyl picryldrazyl (DPPH.) for estimating antioxidant activity Song klanakarín. *Journal of Sciences and Technologies*, 26 (2):211-219p.
36. 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/>) Luis, F., et Moncayo, G. (2002). *WHO MONOGRAPHS ON SELECTED MEDICINAL PLANTS*. 2. P. 106.
37. Oumaskour, K., Boujaber, N., Etahiri, S., Assobhei, O., (2012). Screening of antibacterial and antifungal activities in green and brown algae from the coast of Sidi Bouzid (El Jadida, Morocco). *African journal of biotechnology*, 11(104): 16831-16837p.
38. 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>. 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>
39. Patil, V. A., et Nitave, S. A. (2014). A Review on *Eucalyptus Globulus* : a Divine Medicinal Herb. *World J. Pharm Sci.*, 3(6), 559–567. 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
40. Pietta, G., (2000). Flavonoids as antioxidants. *J. Nat.Prod*, 63 : 1035-1042p.

Références bibliographiques

41. Ponce, G., Fritz, R., Del Valle, E., Roura, I., (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, (36 : 679–684p.
42. 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>.
43. Rabiai, M. (2014). Etude physicochimique et évaluation de l'activité biologique d'une huile Essentielle et l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* de la région msila. Mémoire de master, Département de chimie, universite de msila, msila : 59 p.
44. Raho, B., Ghalem, M., 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.
45. Ribéreau-Gayon, P., (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Edition. Paris, Dunod, 254p.
46. Singh R. 2015. Medicinal plants. *Journal of Plant Sciences*. 3 (11) : 50-55
47. Song, A., Wang, Y., Liu, Y., (2009). Study on the chemical constituents of the essential oil of the leaves of *Eucalyptus globules* Labill from China. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 4(4) : 134-140p.
48. 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>
49. T. Pressler; C. Bohmova; S. Conway; S. Dumcius; L. Hjelte; N. Høiby; H. Kollberg; B. Tümmeler; V. Vavrova (2011). Chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection definition: EuroCareCF Working Group report. 10(supp-S2), -. doi:10.1016/s1569-1993(11)60011-8
50. T. Pressler; C. Bohmova; S. Conway; S. Dumcius; L. Hjelte; N. Høiby; H. Kollberg; B. Tümmeler; V. Vavrova (2011). Chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection definition: EuroCareCF Working Group report., 10(supp-S2), -. doi:10.1016/s1569-1993(11)60011-8

Références bibliographiques

51. 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 le bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). Diplôme de doctorat, université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou. Algérie. P. 49
52. Tannins effect on in vitro digestibility of selected Acacia leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 119 :129-142p
53. Tenailon, Olivier; Skurnik, David; Picard, Bertrand; Denamur, Erick (2010). The population genetics of commensal *Escherichia coli*, 8(3), 207–217. doi:10.1038/nrmicro2298
54. Tenailon, Olivier; Skurnik, David; Picard, Bertrand; Denamur, Erick (2010). The population genetics of commensal *Escherichia coli*. 8(3), 207–217. doi:10.1038/nrmicro2298
55. Troszyńska, A., Estrella, I., López-Amóres, L., Hernández, T., (2002). Antioxidant Activity of Pea Seed Coat Acetone Extract. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol*, 35: 158-164p.
56. Tsao R. 2010. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*. 2(12) : 1231–1246.
57. Zin, Z., Abdul Hamid, A., Osman, A., Saari, N., (2006). Antioxidative activities of Chromatographique fractions obtained from root, fruit and leaf of Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.). *Food Chemistry*, 94: 169-178p.