

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE  
LA TERRE

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES



Réf: ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2024

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

NINOUH Souhila & BELKASMI Rima

*Thème*

**Etude phytochimique et activités biologiques des extraits de quelques  
plantes médicinales d'Algérie**

Soutenu le : 27/06/2024

Devant le jury composé de :

<i>Nom &amp; Prénom</i>	<i>Grade</i>	<i>Université</i>	
Mr BOUCHIBANE Mebarek	MCA	Univ. Bouira	Président
Mr TIGHILET Karim	MCB	Univ. Bouira	Promoteur
Melle TEBBI Sara Oumenoune	Docteur	Univ. Bouira	Co-promotrice
Mr RAI Abdelwahab	MCA	Univ. Bouira	Examineur

Année Universitaire : 2023/2024

# *Remerciements*

*À la fin de cette tâche, nous rend grâce à **Dieu Tout-Puissant**, qui nous a accordé la force et le courage nécessaires pour mener à bien notre mémoire. Nous le remercions pour sa générosité, ainsi que pour la foi, la volonté, la patience, la santé et la confiance qu'il nous a prodiguées tout au long de nos années d'études.*

*Nous souhaitons exprimer notre gratitude envers **nos chers parents** pour leurs soutiens moraux et leurs encouragements tout au long de la réalisation de ce travail ♥*

*Nous exprimons notre profonde gratitude envers **Monsieur Tighilet Karim**, maître de conférences au département de biologie de la faculté des sciences et de la vie de l'université Akli Mouhand Oulhaj-Bouira, pour son encadrement attentif de ce travail dès ses débuts. Sa pédagogie, son écoute, son ouverture d'esprit et sa vision de la recherche scientifique ont été des éléments essentiels pour nous. Ses connaissances variées ont grandement contribué à l'avancement de cette étude.*

*Nous tenons à exprimer sincèrement toute nos remerciements à Mademoiselle **TEBBI Sara Oumenoune**, Docteure à l'université de Bejaia, sans qui ce travail n'aurait pas pu voir le jour. Nous la remercions chaleureusement pour son soutien, qui nous a aidés à atteindre nos objectifs. Nous lui sommes reconnaissants pour son co-encadrement, sa disponibilité et les nombreuses discussions scientifiques que nous avons eues.*

*Nous souhaitons exprimer notre sincère remerciements sans mentionner tout le personnel administratif et du laboratoire de recherche de la faculté SNV-ST de l'Université de Bouira.*

*Nous n'oublions pas les étudiants de Post-Graduation en Biochimie Appliquée, de plus en plus nombreux, et c'est une excellente nouvelle. Nous adressons à chacun d'eux un remerciement particulier.*

*Enfin, tout cela n'aurait pas été réalisable sans le soutien de nos familles et de nos amis, même s'ils ne le savent peut-être pas. Nous espérons que ces quelques mots corrigeront cette omission.*

*Souhila et Rima ♥♥*



## *Dédicace*

**Aux deux personnes qui comptent le plus pour moi, à ceux qui m'ont soutenu tout au long de ma vie et de mes études, à mes chers parents. Que**

**Dieu leur procure bonne santé et longue vie, ma vie entière serait insuffisante pour vous exprimer ma profonde gratitude. Que Dieu vous bénisse et vous protège.**

**À mes chers frères Mohamed, Ahmed et Farouk qui n'ont cessé de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leur offre la chance et le bonheur.**

**À mes petites sœurs Afaf et Khidja adorables, qui savent toujours comment procurer la joie et le bonheur à toute la famille.**

**À mon encadrant M. Karim Tighilet et ma co-encadrante Mlle Sara Oumenoune Tebbi, ainsi qu'à l'ingénieure de laboratoire Hassiba.**

**À mes chères amies Nawel, Kawter, Soumia, Amel T., Assia, Lamia, Amel N., Lidia, et Fatima.**

**Toute la promotion de Master 2 Biochimie appliquée.**

**Sans oublier mon binôme Souhila pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.**

**♥♥Rima♥♥**



***Class of***  
***2024***



# Dédicace

*Avec tous mes sentiments de respect, avec l'expérience de ma reconnaissance, je dédie humblement ce travail ;*

*À mon paradis, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qu'allumer mon chemin, ma moitié « **MAMAN** ».*

*À celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, d'amour et d'affection, à mon support qu'était toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager, à mon prince « **PAPA** ».*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien.*

*J'espère que par ce modeste travail, je vous rends un peu de ce sentiment de fierté que j'éprouve d'être votre fille, et qu'il sera le fruit de vos innombrables sacrifices.*

*À mon encadrant Mr « **Karim TIGHILET** » et ma Co-encadrante M<sup>elle</sup> « **Sara Oumenoune TEBBI** », dont les conseils avisés, les orientations précieuses et le soutien constant ont été d'une aide inestimable dans l'élaboration de ce mémoire.*

*À mes frères et sœurs, « **Hind, Khaled et Rahma** », qui ont été mes complices, mes confidents et mes meilleurs supporters. Votre présence a été un réconfort constant.*

*À mon amie, « **Naouel** », qui a partagé mes joies, mes peines et mes succès. Votre amitié est un trésor que je chérirai toujours.*

*À mon Binôme, « **Rima** », avec qui j'ai partagé ce voyage académique. Merci pour notre collaboration fructueuse et notre soutien mutuel.*

*À « **Tous mes collègues de la promotion de Master 2 Biochimie Appliquée de la faculté des sciences de la nature et de la vie** », pour l'esprit d'entraide et de solidarité qui nous a unis.*

*Enfin, je dédie ce travail à toutes les personnes qui m'ont aimé(e) et soutenu(e), qui ont cru en moi et m'ont encouragé(e). Votre confiance en moi a été ma plus grande motivation et je vous en suis infiniment reconnaissant(e).*

♥♥Souhila♥♥



**Class of  
2024**



## *Table des matières*

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... 1

### *Partie 1 : Étude bibliographique*

#### *Chapitre I : Plantes médicinales à travers le monde*

I.1. Historique sur la médecine traditionnelle .....	3
I.2. La médecine traditionnelle. ....	3
I.3. Métabolites secondaires.....	5
I.3.1. Composés phénoliques.....	5
I.3.1.1. Composés phénoliques simples.....	6
I.3.1.2. Composés phénoliques complexes.....	7

#### *Chapitre II : Les plantes médicinales et aromatique d'Algérie*

II.1. Description botanique du genre <i>Rosmarinus officinalis</i> . L.....	9
II.1.1. Morphologies.....	9
II.1.2. Systématique.....	10
II.1.3. Répartition géographique.....	11
II.1.3.1. Dans le monde.....	11
II.1.3.2. En Algérie.....	11
II.1.4. Utilisation en médecine traditionnelle.....	11
II.1.5. Activités biologiques.....	12
II.2. Description botanique du genre <i>Eucalyptus globulus</i> .....	13
II.2.1. Morphologies.....	13

II.2.2.	Systematique.....	14
II.2.3.	Répartition géographique.....	14
II.2.3.1.	Dans le monde.....	14
II.2.3.2.	En Algérie.....	15
II.2.4.	Utilisation en médecin traditionnel.....	15
II.2.5.	Utilisation en médecin traditionnel.....	16

## ***Partie 2 : Étude expérimentale***

### ***Chapitre I : Matériel et méthodes***

I.1.	Echantillonnage.....	18
I.2.	Extraction des principes actifs .....	18
I.2.1.	Préparation de la poudre.....	18
I.2.2.	Optimisation par éthanol.....	18
I.2.3.	Extraction assistée par Ultrasons.....	19
I.3.	Screening phytochimique.....	20
I.3.1.	Teste des flavonoïdes.....	20
I.3.2.	Teste des tanins.....	20
I.3.3.	Teste des saponines.....	20
I.3.4.	Teste de Quinones libres.....	20
I.3.5.	Teste de terpenoïdes.....	20
I.3.6.	Les oses et holosides.....	20
I.4.	Dosage des composés phénoliques .....	21
I.4.1.	Dosage des Polyphénols Totaux .....	21
I.4.2.	Dosage des flavonoïdes Totaux .....	22
I.4.3.	Dosage de flavonols.....	22
I.4.4.	Dosage des tanins condensés .....	23

I.5.	Évaluation de l'effet antioxydant des extraits .....	24
I.5.1.	Activité antioxydant par DPPH.....	24
I.5.2.	Activité antioxydant par ABTS <sup>+</sup> .....	25
I.6.	Détermination de l'activité antibactérienne .....	27
I.6.1.	Préparation des extraits .....	27
I.6.2.	Préparation de l'inoculum .....	27

## ***Chapitre II : Résultats et discussions***

II.1.	Optimisation des paramètres.....	29
II.1.1.	Paramètres optimaux pour <i>R.officinalis</i> .....	29
II.1.2.	Paramètres optimaux pour <i>E.globulus</i> .....	33
II.2.	Screening phytochimiques .....	37
II.2.1.	Analyse qualitative.....	37
II.3.	Dosages colorimétriques des extraits des feuilles de <i>R.officinalis</i> et <i>E.globulus</i> .....	41
II.3.1.	Dosage des Polyphénols totaux.....	41
II.3.2.	Dosage des flavonoïdes.....	42
II.3.3.	Dosage des flavonols.....	43
II.3.4.	Dosage des tanins.....	43
II.4.	Estimation de l'activité antioxydante.....	44
II.4.1.	Activité scavenging du radical DPPH.....	44
II.4.2.	Test du radical ABTS <sup>+</sup> .....	46
II.5.	Estimation de l'activité antibactérienne.....	47
<b>Conclusion et Perspectives.....</b>		<b>51</b>

### **Annexes**

#### **Références bibliographiques**

#### **Résumés**

## ***Liste des abréviations***

<b>AG :</b>	Acide Gallique
<b>AlCl<sub>3</sub> :</b>	Trichlorure d'aluminium.
<b>DPPH :</b>	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.
<b>DO :</b>	Densité Optique.
<b>Etho :</b>	Ethanol.
<b>HCl :</b>	Acide chlorohydrique.
<b>IC<sub>50</sub> :</b>	Concentration nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH.
<b>NaOH :</b>	Sodium hydroxyde.
<b>OMS :</b>	Organisation mondiale de la santé.
<b>Cat :</b>	Catéchine.
<b>Q :</b>	Quercétine.
<b>R (%) :</b>	Rendement en Pourcentage.
<b>R<sup>2</sup> :</b>	Coefficient de corrélation linéaire
<b>UV :</b>	Ultraviolet.
<b>Abs :</b>	Absorbance.
<b><i>E. globulus</i> :</b>	<i>Eucalyptus globulus</i> .
<b><i>R. officinalis</i> :</b>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> :</b>	Carbonate de Sodium.
<b>EAG :</b>	Equivalent Acide Gallique.
<b>MT :</b>	Médecine Traditionnelle
<b>PM :</b>	Plante Médicinale.
<b>UAE :</b>	Extraction Assistée par Ultrasons.
<b>DMSO :</b>	Diméthylsulfoxyde.
<b>PPT :</b>	Polyphénol totaux



# Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Structure de base des composés phénoliques .....	6
<b>Figure 2</b> : Structure des acides phénoliques .....	7
<b>Figure 3</b> : Structure de base des flavonoïdes .....	7
<b>Figure 4</b> : Structure des tanins;.....	8
<b>Figure 5</b> : Photographie de <i>Rosmarinus officinalis. L</i> .....	9
<b>Figure 6</b> : Répartition de <i>Rosmarinus officinalis</i> dans le monde .....	11
<b>Figure 7</b> : Distribution d' <i>Eucalyptus</i> dans le monde .....	15
<b>Figure 8</b> : Réduction du DPPH par un antioxydant.....	24
<b>Figure 9</b> : Représentation schématique de la méthode de piégeage des radicaux ABTS <sup>+</sup> .....	26
<b>Figure 10</b> : Effet du pourcentage de l'éthanol sur le taux des polyphénols .....	29
<b>Figure 11</b> : Effet de ratio (masse/ volume) sur le rendement en polyphénol totaux .....	30
<b>Figure 12</b> : Effet du temps d'extraction sur le rendement en polyphénol totaux. ....	31
<b>Figure 13</b> : Effet de la température sur le rendement en polyphénol totaux. ....	32
<b>Figure 14</b> : Effet de pourcentage en éthanol sur le rendement en polyphénol totaux .....	33
<b>Figure 15</b> : Effet de ratio (masse/ volume) sur le rendement en polyphénol totaux. ....	34
<b>Figure 16</b> : Effet du temps d'extraction sur le rendement en polyphénol totaux. ....	35
<b>Figure 17</b> : Effet de la température sur le rendement en polyphénol totaux. ....	36
<b>Figure 18</b> : Concentrations inhibitrices de 50% du radical DPPH' des extraits de <i>Romarin</i> et d' <i>Eucalyptus</i> étudiés.....	45
<b>Figure 19</b> : Concentrations inhibitrices de 50% du radical ABTS <sup>+</sup> des extraits de <i>Romarin</i> et d' <i>Eucalyptus</i> étudiés.....	46

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1:</b> Classification de l'espèce étudié dans le monde végétale selon. ....	10
<b>Tableau 2:</b> Taxonomie de l'espèce <i>Eucalyptus globulus</i> , selon la nomenclature classique ...	14
<b>Tableau 3:</b> Résultats du screening phytochimique de l'extrait éthanolique d' <i>Eucalyptus globulus</i> . ....	37
<b>Tableau 4:</b> Diamètres des zones d'inhibition (mm) des éthanoliques d <i>E.globulus et R.officinalis</i> .....	48
<b>Tableau 5:</b> Résultats de résistance et / ou sensibilité des extraits de <i>R.officinalis</i> et <i>E.globulus</i> .....	49

# *Introduction*

### *Introduction*

Les plantes médicinales et aromatiques ont été une source inestimable de remèdes naturels pour l'humanité depuis de nombreuses décennies (**Schauenberg, 2006**).

La combinaison unique de conditions environnementales en Algérie, avec ses climats variés, ses sols diversifiés, sa situation géographique stratégique et ses reliefs contrastés, créent les conditions idéales pour le développement d'une flore particulièrement riche et abondante avec près de 3 510 espèces végétales différentes. Ceci est particulièrement évident sur les hauts plateaux et dans le grand sud du pays, qui abritent environ 450 espèces spécifiques à ces zones. (**Quezel et al., 1995**).

L'eucalyptus a été largement étudié en tant que source d'huile essentielle, extraite par distillation à la vapeur ou hydrodistillation, et Cette plante manifeste une grande diversité d'activités biologiques avérées, notamment des propriétés antimicrobiennes, antifongiques, insecticides et acaricides (**Batish et al., 2008**).

Le romarin, qui fait partie des plantes médicinales, conserve sa place dans l'arsenal thérapeutique des praticiens traditionnels du bassin méditerranéen. Il est classé parmi les plantes dépuratives pour son action sur le système digestif et urinaire, et parmi les plantes stimulantes pour son huile essentielle. On lui attribue également des vertus antirhumatismales et anti-œdémateuses (**Claire, 2018**).

La recherche sur les propriétés phytothérapeutiques demeure un domaine fascinant et crucial qui suscite un vif intérêt (Maurice, 1997). La richesse du règne végétal en composés bioactifs variés est la principale raison expliquant cette diversité d'activités biologiques (**Mutahar et al., 2012**).

Les plantes aromatiques constituent une source particulièrement intéressante de composés naturels aux propriétés bénéfiques pour la santé. En effet, ces végétaux renferment de nombreux antioxydants qui jouent un rôle essentiel dans la lutte contre les radicaux libres, également appelés espèces réactives de l'oxygène, qui sont impliquées dans le développement de diverses pathologies graves, comme le cancer, le diabète, la maladie d'Alzheimer ou encore les troubles cardiovasculaires. Elles sont également associées à de nombreux signes du vieillissement (**Faiza et al., 2018**).

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer de manière approfondie la composition phytochimique ainsi que les différentes activités biologiques des feuilles de deux plantes aromatiques et médicinales : le romarin et l'eucalyptus.

Cette étude est divisée en plusieurs sections. La première partie est une revue de la littérature divisée en deux parties : une sur les plantes médicinales et aromatiques à l'échelle mondiale, et une autre sur celles spécifiques à notre pays. La deuxième partie se concentre sur la méthodologie expérimentale, décrivant le matériel végétal utilisé et les méthodes employées pour mener à bien l'étude, suivie des résultats et discussion. Enfin, le document se clôture par une conclusion et perspectives suivie d'un résumé.

*Partie I : Synthèse  
bibliographique*

# *Chapitre I*

## *Plantes médicinales à travers le monde*

### I.1. Historique sur les plantes médicinales

Il y a 200 ans, les remèdes naturels étaient la seule option thérapeutique disponible pour l'humanité (**Grunwald *et al.*, 2006**). Cependant, avec la baisse d'efficacité des médicaments synthétiques et l'augmentation des contre-indications, l'importance des remèdes naturels a été réaffirmée (**Biljana, 2012**).

À travers l'histoire, l'utilisation des plantes médicinales a été répandue pour traiter les maladies. Les individus selon la tradition recherchent des remèdes dans leur environnement en se tournant vers les ressources végétales pour leurs besoins médicaux (**Jamshidi-Kia *et al.*, 2018**).

Les plantes ont joué un rôle crucial en raison de leurs effets synergiques dans le traitement des maladies. Ces bienfaits des plantes sont dus à leurs métabolites secondaires, reconnus pour leur diversité structurale et leur large spectre d'activités biologiques (**Cherif *et al.*, 2015**). Le terme "plante médicinale" désigne les plantes possédant des propriétés thérapeutiques (**Jamshidi-Kia *et al.*, 2018**).

Les végétaux possèdent une remarquable capacité à synthétiser une grande diversité de composés chimiques biologiquement actifs. Ils peuvent être considérés comme de véritables usines naturelles produisant ces substances bioactives qui sont des ressources thérapeutiques précieuses. Les êtres humains peuvent facilement utiliser ces substances pour leur bien-être et d'autres besoins indispensables (**Daoud *et al.*, 2022**), constituant ainsi des trésors naturels (**Reddy *et al.*, 2005**). En plus de leur utilité médicinale, les plantes sont fréquemment associées au miel, une substance sucrée naturelle fabriquée par les abeilles, mettant en lumière la diversité de la nature (**Baron-Chaufaille, 1985**).

### I.2. La médecine traditionnelle

En 1976, l'Organisation mondiale de la santé a officiellement reconnu la médecine traditionnelle comme une approche légitime et essentielle dans les soins de santé primaires à l'échelle mondiale. La médecine traditionnelle s'appuie sur un corpus de connaissances et de techniques variées, utilisées pour établir des diagnostics, prévenir et traiter une multitude de troubles physiques, mentaux et sociaux, en se fondant exclusivement sur l'expérience pratique.

De nos jours, la médecine traditionnelle englobe une multitude de systèmes et de pratiques médicales ancestrales, enracinés dans des cultures et des traditions diverses à travers le monde.



Ces approches traditionnelles de la santé et du soin reposent sur un ensemble unique de connaissances, de savoir-faire et de techniques spécifiques, accumulés et transmis au fil des générations, en prenant aussi en compte les théories, les croyances et les expériences propres à diverses cultures (**Waweru et al., 2020**).

Selon les études du programme de lutte contre le paludisme de l'OMS en 1998, dans des pays tels que le Ghana, le Mali, le Nigeria et la Zambie, plus de 60% des enfants présentant de fortes fièvres sont pris en charge à leur domicile à l'aide de traitements à base de plantes médicinales. L'efficacité de diverses approches thérapeutiques, telles que l'acupuncture pour soulager la douleur, l'artémisinine issue d'une plante médicinale utilisée traditionnellement comme nouvel antipaludique, le Millepertuis (*Hypericum Perforatum*) pour traiter la dépression légère, et le Saw Palmetto (*Serenoa Repens*) pour atténuer les symptômes de l'hyperplasie bénigne de la prostate, est reconnu. Bien que la thérapie médicamenteuse traditionnelle soit largement utilisée en tant que pratique d'autosoins (**Abdullah et al., 2003**), en particulier la phytothérapie qui est la plus répandue (**Waweru et al., 2020**).

Parmi les principaux défis auxquels la médecine traditionnelle est confrontée, on peut citer le manque de formation adéquate des professionnels de santé ainsi que l'absence de système de qualification et de réglementation stricts (**OMS, 2002**). Malgré la consommation fréquente, dans de nombreux pays, de produits non soumis à un cadre réglementaire, plusieurs risques subsistent en termes de sécurité et de qualité de ces produits, notamment les risques de contamination, de ventes illégales et de falsification médicamenteuse (**Abdullah et al., 2003**).

Ces risques peuvent être atténués en mettant en place une réglementation stricte concernant les plantes médicinales et en respectant les bonnes pratiques de fabrication agricole (BPF) ainsi que les bonnes pratiques de récolte (GACP) propres aux plantes médicinales. Dans le cas du ma huang (*Ephedra sinica*), une plante chinoise contenant de l'éphédrine bénéfique pour les problèmes respiratoires, sa consommation par certains Américains comme complément alimentaire a entraîné des cas de crises cardiaques et d'accidents vasculaires cérébraux (**Ang-Lee et al., 2001**).

Par exemple, la consommation continue de cava cava (*piper methysticum*) entraîne de graves altérations des fonctions hépatiques (**Stevinson et al., 2002**), tandis que la consommation de ginkgo, connu pour ses effets de stimulation de la circulation en périphérie, peut entraîner des saignements en cas d'intervention chirurgicale (**Ang-Lee et al., 2001**).

### I.3. Métabolites secondaires

Les plantes sont uniques dans leur capacité à générer une grande variété de produits naturels. Outre les métabolites primaires, elles produisent une grande variété de métabolites secondaires. Bien que la raison physiologique de cette production ne soit pas toujours évidente, ces métabolites secondaires constituent une source importante de molécules exploitables dans des domaines comme la pharmacologie et l'agroalimentaire (**Jean-Jacques *et al.*, 2005**).

D'une manière générale, les métabolites secondaires produits par les plantes se répartissent en trois grandes catégories : les composés phénoliques, les alcaloïdes, ainsi que les terpenoïdes et les stéroïdes. Cette capacité des plantes à produire une grande diversité de substances naturelles aux propriétés variées est remarquable (**Kishan Gopal *et al.*, 2008**).

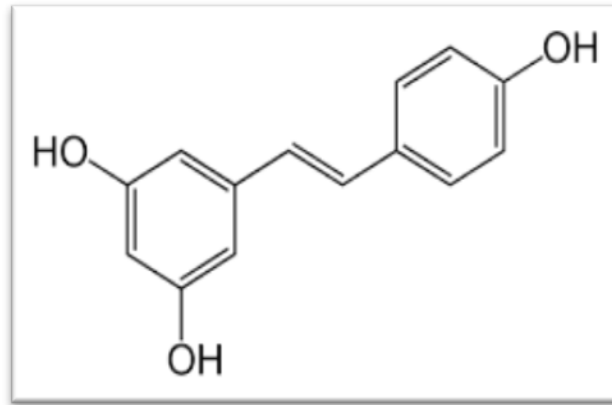
#### I.3.1. Composés phénoliques

Les plantes supérieures renferment une immense variété de composés phénoliques, dont la structure chimique et la répartition varient selon les espèces végétales, les organes, les tissus et les stades de développement (**Macheix *et al.*, 1996**).

Ces molécules, qui constituent les principaux principes actifs d'origine végétale, jouent un rôle essentiel dans la protection des plantes. Elles les défendent notamment contre les agents pathogènes tels que les moisissures et les bactéries, ainsi que contre les dommages causés par les rayons UV (**Macheix *et al.*, 1996**).

Les composés phénoliques se caractérisent par la présence d'au moins un noyau aromatique benzénique associé à un groupe hydroxyle libre ou à d'autres fonctions chimiques (éther, ester, hétéroside, etc.) (**Sarni-Manchado *et al.*, 2006**). Ce groupe de molécules organiques représente le plus commun dans le règne végétal, avec plus de 8 000 structures différentes identifiées à ce jour. Cela témoigne de leur extrême ubiquité et de la diversité phénolique présente dans la nature (**Lugasi *et al.*, 2003**).

Ces métabolites secondaires jouent donc un rôle essentiel dans la survie et l'adaptation des plantes à leur environnement. Ils constituent également une source inestimable de principes actifs naturels présentant un grand intérêt pour de nombreuses applications, notamment en médecine, en cosmétique et en agroalimentaire (**Lugasi *et al.*, 2003**).



**Figure 1:** Structure de base des composés phénoliques (Sarni-Manchado *et al.*, 2006).

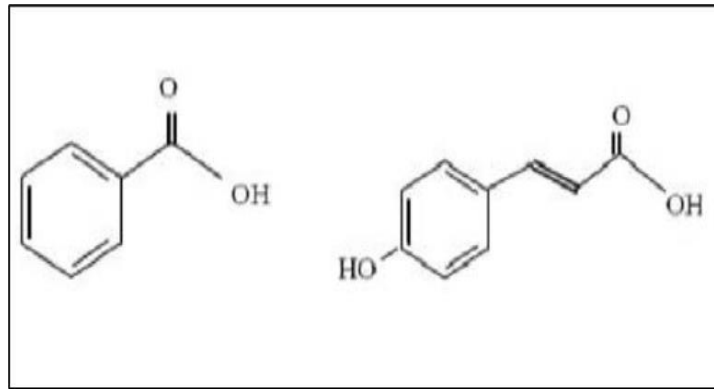
### ➤ Classification des composés phénoliques

La classification des composés phénoliques repose principalement sur leur structure moléculaire (Clifford, 1999). De façon générale, on peut distinguer deux grandes catégories de composés phénoliques : les formes simples et les formes complexes (Gibbs, 1976).

#### I.3.1.1 Composés phénoliques simples

##### A. Acides phénoliques

Les composés phénoliques constituent le groupe le plus répandu dans le règne végétal (plus de 8 000 moléculaires), ce qui met en évidence leur présence à l'échelle de la diversité naturelle. Leur intérêt réside dans leurs propriétés biologiques telles que leur action anti-inflammatoire, antiseptique des voies urinaires, antiradicalaire libre, hépatoprotectrice et immunostimulante (Thompsen *et al.*, 1984). Il existe deux types : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (Bhooshan *et al.*, 2009).

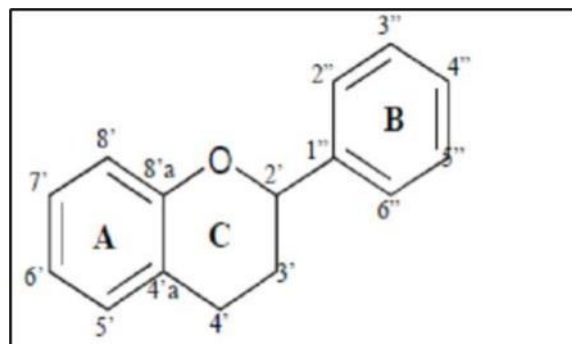


**Figure 2:** Structure des acides phénoliques ; A : Acide benzoïque ; B : Acide cinnamique de gauche à droit (**Bhooshan et al., 2009**).

### B. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont presque tous les pigments végétaux et peuvent être considérés comme des composés qui sont à l'origine de la couleur des plantes. En 1952, les chercheurs Geissman et Hinreiner ont proposé le terme "flavonoïdes" pour désigner ces pigments végétaux caractérisés par un squelette moléculaire de type (C6-C3-C6), dérivé du mot latin "flavus" signifiant "jaune" (**Bouakaz, 2006**). Ces composés constituent l'un des groupes les plus répandus dans le règne végétal, jouant notamment un rôle crucial dans la coloration ainsi que dans les mécanismes de protection des plantes (**Noipa et al., 2011**).

Les flavonoïdes contribuent ainsi grandement à la diversité des teintes observées dans la nature et se retrouvent en forte concentration dans l'épiderme foliaire. Ils représentent également une source essentielle d'antioxydants dans notre alimentation (**Loto, 2011**).



**Figure 3 :** Structure de base des flavonoïdes (**Noipa et al., 2011**).

### C. Alcools phénoliques

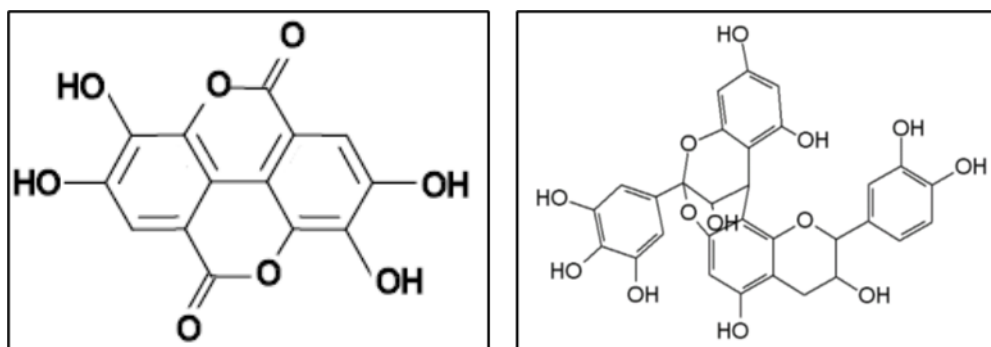
Selon Sala et al. (1991), les alcools phénoliques sont des substances organiques qui renferment au moins un alcool gras et un groupe hydroxyle phénolique. Les principaux composés phénoliques simples sont le tyrosol (4-hydroxyphényléthanol) et l'hydroxytyrosol (3,4-dihydroxyphényléthanol). Ces molécules se retrouvent en quantités importantes dans les olives sous forme libre ou liée à l'acide oléique (Chvatalova et al., 2008).

### I.3.1.1 Composés phénoliques complexes

#### A. Tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques de diverses structures qui ont des propriétés astringentes pour la peau, ce qui les rend antiseptiques (Alignan, 2006). Leurs caractéristiques sont liées à leur capacité à se combiner avec des protéines et des alcaloïdes, expliquant leur effet astringent (Utaka et al., 1985).

Dans le règne végétal, les tanins se retrouvent dans une variété d'organes, avec une présence particulièrement marquée dans les tissus vieillissants ou malade (Roux et al., 2007). Ils constituent une classe importante de polyphénols localisés dans la vacuole (Andjelkovic et al., 2006). D'un point de vue de leur structure moléculaire, les tanins peuvent être répartis en deux grandes catégories principales : les tanins hydrolysables et les tanins condensés. Cette classification reflète leur capacité à exercer des propriétés tannantes, c'est-à-dire à interagir avec les protéines du cuir pour le traiter (Xu et al., 2007).



**Figure 4:** Structure des tanins ; A : Tanins hydrolysables. B : Tanins condensés de gauche à droite (Xu et al., 2007).

## ***Chapitre II***

# ***Les plantes médicinales et aromatique d'Algérie***

### II.1. Description botanique du genre *Rosmarinus*

Le romarin est une plante ancienne, dont ses rameaux notamment retrouvées dans les tombes égyptiennes des premières dynasties (**Bardeau, 1998**).

Le terme latin *Rosmarinus* est traduit par « ras » pour la rosée et « marinus » pour la mer. Certains affirment que cette interprétation est classique, mais le nom originel est probablement issu du grec pour arbuste et baume (**Michael et al., 2006**). Le Rom est significatif en raison de son activité antibactérienne et de son effet répulsif sur certains insectes (**Bakkali et al., 2018**), composé de feuilles de pin, qui est le cœur de tous les bienfaits médicaux et autres qui sont provenant de l'utilisation de son huile (**Asia et al., 2013**).

Le genre *Rosmarinus* est restreint à la région méditerranéenne, se trouvant principalement dans les parties méridionales des pays européens bordant cette mer, en Afrique du Nord, et s'étendant jusqu'à l'est, incluant Chypre, le Troade et la Cilicie (**Turrill et al., 2015**). L'huile essentielle de cette plante a également présenté un effet ovicide sur les insectes des denrées stockées (**Bakkali et al., 2018**).

*R. officinalis* L. est un arbre persistant aromatique de la famille des Lamiacées, d'une hauteur d'environ 1 mètre. Ses tiges sont dressées, ses fleurs sont d'un bleu blanchâtre et ses feuilles sont d'un vert foncé (**Pedro et al., 2016**).



**Figure 5:** Photographie de *Rosmarinus officinalis* L (**Belkhiri, 2015**).

#### II.1.1. Morphologies

Le romarin est un arbuste sauvage qui conserve sa couleur verte en permanence (**Roulier, 1990**). Cette plante peut pousser de manière rampante ou avoir une structure dressée, prenant la forme d'une boule (**Agrimer, 1996**).

Ses tiges sont arrondies, ligneuses et feuillues (Girre, 2006). Elles sont revêtues d'une écorce écailleuse et fissurée (Roulier, 1990), les feuilles sont persistantes, opposées, alternes, sessiles, entières, linéaires et coriaces (Girre, 2006), mesurant de 1,5 à 4,5 cm de longueur, avec les bords enroulés vers le bas (Besombes, 2008), avec une face supérieure verte sombre et glabre et une face inférieure blanche et velue (Girre, 2006).

Les fleurs du romarin sont hermaphrodites, de couleur bleu pâle souvent tachetées de violet en dessous, regroupées en courtes grappes denses (Antoinette, 2005). Les fleurs subsessiles de cette plante s'épanouissent toute l'année grâce à son inflorescence spiciforme (Besombes, 2008). Ainsi qu'il avait des fleurs avec un calice bilabié persistant, gamosépale, poudré-blanchâtre, forme une cloche avec 3 lobes. Le lobe le plus large est celui de la lèvre supérieure, suivi des deux autres pour former la lèvre inférieure et une corolle bilipée longue et tubulaire, parfois avec plusieurs lobes ou une seule lèvre inférieure trilobée (l'inférieure à 3 lobes a un amas de cellules en forme de capuchon, tandis que la supérieure à un amas de cellules plus large et concave) (Madadori, 1982 ; Besombes, 2008).

Les étamines du romarin sont habituellement au nombre de 4, parfois avec une 5ème étamine dégénérée, ou alors de 2 étamines et 2 staminodes. Le gynécée du romarin est constitué de 2 carpelles contenant des ovules, cependant leur partitionnement est imparfait, ce qui crée 2 cellules non ovulées dans chaque carpelle (Madadori, 1982). Le fruit est un akène composé de 3 parties plus ou moins fusionnées par leur face interne, avec un style bifide gymno-basique (Quezel *et al.*, 1963).

### II.1.2. Systématique

**Tableau 1** Classification de l'espèce étudié dans le monde végétale selon (Quezel *et al.*, 1963).

<b>Règne</b>	Végétal
<b>Sous règne</b>	Cormophytes
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous-Embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous-Classe</b>	Gamopétales
<b>Ordre</b>	Tubiflorales
<b>Sous-Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiacées
<b>Genre</b>	<i>Rosmarinus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Rosmarinus officinalis</i>



### II.1.3. Répartition géographique

#### II.1.3.1. Dans le monde

Le romarin est une plante méditerranéenne, native des régions côtières et insulaires du bassin méditerranéen. Malgré sa résistance aux sécheresses extrêmes, il se satisfait de l'humidité côtière, ce qui lui vaut peut-être son nom. On peut trouver cette herbe polyvalente à différentes altitudes, allant du niveau de la mer à 650 mètres et parfois jusqu'à 1 500 mètres (Claire, 2018).

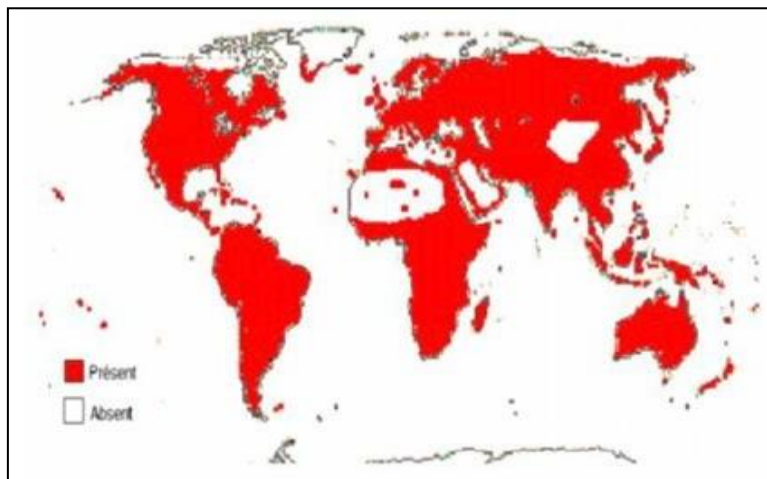


Figure 6: Répartition de *Rosmarinus officinalis* dans le monde (Tabti, 2017).

#### II.1.3.2. En Algérie

En Algérie, les diverses espèces de romarin s'étendent sur une superficie dépassant les 100 000 hectares (Jean-Claude *et al.*, 2008).

### II.1.4. Utilisation en médecine traditionnelle

Dans la médecine traditionnelle, les feuilles de *R.officinalis* L. sont utilisées en raison de leurs propriétés antibactériennes (Biljana *et al.*, 2007). Dans la Grèce antique et à Rome, le romarin était réputé pour améliorer la mémoire, d'où son surnom « herbe du souvenir ».

Il était également associé à la gourmandise. Au cours de la Renaissance, le romarin était une composante essentielle de la pharmacopée, notamment pour les affections hépatiques (Asia *et al.*, 2013). Historiquement, le romarin a été utilisé en médecine pour traiter diverses affections telles que les coliques rénales, la dysménorrhée, les troubles respiratoires et pour favoriser la croissance des cheveux. De nos jours, les extraits de romarin sont fréquemment employés en aromathérapie pour traiter l'anxiété et augmenter la vigilance (Catherine *et al.*, 2010).

### II.1.5. Activités biologiques

Les activités biologiques du romarin sont principalement attribuées à deux types de composés : la fraction volatile et les constituants phénoliques (**Zhang et al., 2014**). En raison de sa riche composition en composés phénoliques, notamment l'acide rosmarinique, l'acide carnosique et le carnosol, le romarin est reconnu pour ses remarquables propriétés antioxydantes. Ces antioxydants puissants contribuent à prévenir les dégâts causés par les radicaux libres et à diminuer la toxicité hépatique (**Gonzalez-Trujano et al., 2007**).

L'extrait de romarin (E392) a été validé par l'Union européenne en tant qu'antioxydant naturel fiable et efficace pour préserver les aliments à longue durée (**Marion, 2017**). Le romarin a démontré des effets anti-inflammatoires en inhibant la croissance des cellules de leucémie promyélocytaire humaine HL-60 et U937. De plus, des études ont montré que l'acide carnosique possède des propriétés anti-inflammatoires en diminuant l'expression des molécules d'adhésion induites par les cytokines, en bloquant l'adhésion des monocytes aux cellules endothéliales, et en empêchant la migration des cellules musculaires lisses aortiques humaines en réduisant l'expression des MMPs (**Barni et al., 2012**).

Effectivement, il a été identifié 13 chimiotypes différents d'huile de romarin, comprenant des éléments tels que le 1,8-cinéole, le camphre, la verbénone, l' $\alpha$ -pinène, l'acétate de bornyle, le myrcène, en plus du 1,8-cinéole associé au camphre ou à l' $\alpha$ -pinène en quantités équivalentes (**Majda et al., 2022**). Ces compositions ainsi leurs extraits ont démontré une meilleure inhibition (effet antibactérienne) contre les bactéries à Gram positif telles que *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, ainsi que contre les bactéries à Gram négatif comme *C. jejuni*, *S. infantis*, *E. coli* (**Ertan et al., 2020**), et présentent également une activité antimicrobienne contre divers champignons (**Majda et al., 2022**).

Les cellules souches impliquées dans le cancer du sein ont un rôle crucial dans son développement, sa progression et sa dissémination. L'association de l'acide rosmarinique (RA) pourrait réduire la viabilité de ces cellules, entraver leur capacité de migration et déclencher leur apoptose. Des études ont démontré que le RA pouvait efficacement freiner la croissance tumorale en modulant la libération de cytokines inflammatoires et angiogéniques (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) tout en réprimant l'expression de NF- $\kappa$ B p65 dans le microenvironnement (**Huaquan et al., 2022**).

## II.2. Description botanique du genre *Eucalyptus globulus*

Les eucalyptus font partie des arbres les plus imposants de la planète. Certaines espèces peuvent en effet atteindre des hauteurs exceptionnelles, dépassant parfois les 100 mètres. Néanmoins, la taille moyenne des espèces les plus répandues se situe généralement entre 40 et 50 mètres de hauteur. Malgré cette diversité de tailles, les eucalyptus sont reconnaissables à leurs feuilles coriaces, leurs écorces qui se détachent en lanières et leurs fleurs en forme de boutons ronds (**Traore et al., 2013**).

Ils se développent également dans des climats doux, chauds et tropicaux avec des températures de 3 à 40 °C (**Umer et al., 2015**). Selon **Ghedira et al. (2008)**, leur tronc est constitué d'une écorce foncée, rugueuse, en hauteur, lisse, grisâtre et arbore des rameaux dressés.

### II.2.1. Morphologies

Les eucalyptus se caractérisent par un feuillage persistant et coriace, bien que leur morphologie foliaire puisse varier selon l'âge des rameaux. Sur les jeunes rameaux, les feuilles sont larges, courtes, de couleur bleu-grisâtre, avec un limbe bien nervuré. En revanche, sur les rameaux plus âgés, les feuilles adoptent une forme de faucille, plus allongée et étroite. Elles mesurent généralement entre 12 et 30 cm de long, sont épaisses, pointues, de couleur vert foncé, pétiolées, alternes et orientées verticalement. De plus, ces feuilles dégagent souvent une odeur aromatique caractéristique. Cette diversité morphologique des feuilles d'eucalyptus, en fonction de leur stade de développement, est une adaptation remarquable de ces arbres à leur environnement. Elle leur permet notamment de mieux capter la lumière et de réduire les pertes en eau (**Goetz et al., 2012**).

Selon les observations de **Jean (2009)**, la fleur d'eucalyptus présente des caractéristiques florales uniques. Le calice de la fleur est composé de quatre sépales cireux et rugueux, soudés entre eux. Cet ensemble forme une structure en forme d'urne à quatre pans distincts. Pendant la floraison, le "couvercle" formé par les sépales se détache, laissant alors apparaître de nombreuses étamines à l'intérieur de la fleur.

D'après **Goetz et al. (2012)**, le fruit mature des eucalyptus se présente sous la forme d'une volumineuse capsule ligneuse et sèche, de forme conique, revêtue d'une couleur brun foncé et d'un aspect glauque. Cette capsule, dure et anguleuse, présente une surface verruqueuse.

## II.2.2. Systématique

**Tableau 2:** Taxonomie de l'espèce *Eucalyptus globulus*, selon la nomenclature classique (Goetz *et al.*, 2012).

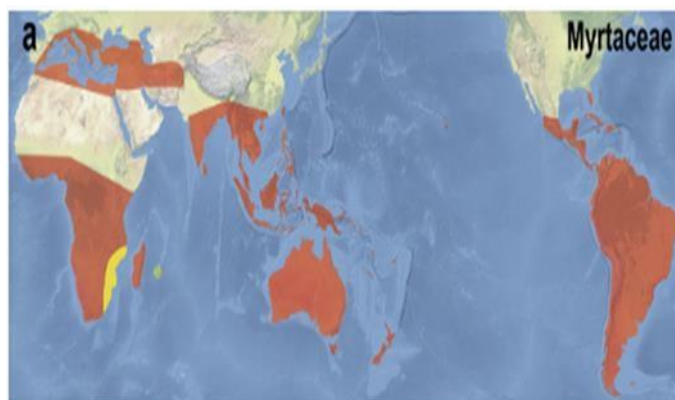
<b>Règne</b>	Végétal
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Rosidea
<b>Ordre</b>	Myrtales
<b>Famille</b>	Myrtaceae
<b>Genre</b>	<i>Eucalyptus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Eucalyptus globulus</i>

## II.2.3. Répartition géographique

## II.2.3.1. Dans le monde

L'*Eucalyptus globulus* est une espèce d'eucalyptus originaire de Tasmanie et de la région de Victoria, dans le sud-est de l'Australie continentale. Cette essence d'eucalyptus s'est largement répandue dans de nombreuses régions du globe, notamment dans les pays bordant les océans Pacifique Sud, Atlantique Nord et Indien. Elle a ainsi été cultivée et implantée à travers le monde. En effet, cette espèce d'eucalyptus est capable de se développer dans une large gamme de types de sols et de conditions climatiques différentes (Faia *et al.*, 2022).

Des pays tels que la Chine, le Brésil, l'Afrique du Sud, l'Indonésie et le Congo cultivent des hybrides interspécifiques, tandis que des fermes plus petites sont établies aux Philippines, au Vietnam, en Malaisie et en Thaïlande, ainsi qu'en Amérique du Sud (Chili, Uruguay, Argentine et Paraguay) (Ahmad *et al.*, 2023).



**Figure 7:** Distribution d'eucalyptus dans le monde (Thornhill *et al.*, 2015).

### II.2.3.2. En Algérie

*L'Eucalyptus globulus* a été introduit pour la première fois en Algérie en 1854, grâce aux efforts d'un certain Ramel. Suite à cette introduction initiale, de vastes plantations d'eucalyptus se sont progressivement développées en Algérie au fil des décennies suivantes. Ainsi, en 1990, on dénombrait environ 30 000 hectares de plantations d'eucalyptus en Algérie. Cinq ans plus tard, en 1995, cette surface avait encore augmenté, atteignant près de 39 000 hectares (Boulekbache *et al.*, 2010).

### II.2.4. Utilisation en médecin traditionnel

Les feuilles d'eucalyptus et leurs produits ont une longue histoire d'utilisation folklorique, notamment par les aborigènes australiens, pour diverses maladies. L'eucalyptus, de par ses propriétés médicinales, a été utilisé dans le traitement de diverses infections telles que la fièvre, à la dysenterie bactérienne, à la coqueluche ou encore à la tuberculose pulmonaire. De plus, ses vertus anti-inflammatoires en ont fait un remède efficace contre certaines affections telles que l'asthme, le rhumatisme ou encore la gingivite.

L'eucalyptus s'est également révélé bénéfique dans la cicatrisation de diverses blessures, comme les brûlures par exemple. Une méthode traditionnelle consiste à placer des feuilles d'eucalyptus ou quelques gouttes d'EOE dans un pot de bouillie et à couvrir le visage avec une toque, à fermer les yeux et à inhaler profondément la vapeur de bouilli pendant 5 à 10 minutes (Galan *et al.*, 2020). Les feuilles de l'eucalyptus sont couramment employées dans la médecine traditionnelle algérienne pour diverses affections. Par exemple, vaporisation d'un objet en inhalant l'extrait chaud d'eau des feuilles séchées afin de récupérer les symptômes liés aux

infections respiratoires, tels que la chaleur, la flue et la congestion des sinus (**Atmani et al., 2018b**).

Les essences volatiles de l'eucalyptus étaient connues pour assainir les zones marécageuses où il était planté, purifiant ainsi l'air. Par exemple, la culture des eucalyptus a contribué à purifier la région d'Alger. Il a été démontré efficace contre le paludisme dans la Campanie (Italie), la Sicile, la Sardaigne et le lac Fezara en Algérie (**Ghedira et al., 2008**). L'eucalyptus est également couramment employé dans le secteur du bois et de la pâte à papier (**Chandorkar et al., 2021b**).

### II.2.5. Activités biologiques

La richesse en huiles essentielles de l'eucalyptus peut être attribuée à la présence de certains composés chimiques spécifiques, comme l'a démontré l'étude de **Raju et al. (2011)**. Parmi ces composés, on retrouve notamment le 1,8-cinéole, l' $\alpha$ -pinène, le  $\beta$ -pinène ainsi que le limonène. Ces molécules, issues du métabolisme secondaire de la plante, seraient à l'origine des propriétés aromatiques et thérapeutiques de l'*Eucalyptus*. Cependant, les mécanismes exacts sous-tendant la biosynthèse de ces huiles essentielles restent à élucider, notamment en ce qui concerne le rôle potentiel du clivage de l'ADN dans ce processus (**Liu et al., 2011**). Les huiles essentielles d'eucalyptus renferment des composés volatils qui présentent des propriétés antimicrobiennes. Cet effet peut s'exercer de deux manières : de façon directe, par l'interaction de ces molécules avec les micro-organismes, ou de façon indirecte, par le biais du milieu dans lequel les vapeurs d'huiles essentielles se sont dissoutes.

Une étude récente a mis en évidence les propriétés antibactériennes du phloroglucinol, un composé organique présent dans les eucalyptus. Selon les résultats de cette étude, le phloroglucinol s'est avéré actif contre deux bactéries à Gram positif : *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* avec la formation d'une zone d'inhibition de 16 millimètres de diamètre autour des colonies de ces deux bactéries (**Mohamed et al., 2007**).

Par ailleurs, les huiles d'eucalyptus ont également manifesté des propriétés antidiabétiques et antioxydantes. Elles seraient ainsi capables de réduire le stress oxydatif et le taux de glucose sanguin chez des rats diabétiques, limitant les dommages liés à la glycation des protéines (**Dey et al., 2013**). De plus, l'huile d'*E.globulus* présenterait un potentiel anthelminthique, en raison de la présence de certains phytocomposés tels que le bornéol, le linalol, le cinéole, l'acétate de géranyle, l'anéthol ou encore le safran (**Taur, 2011**).

Cette huile aurait également un effet inhibiteur sur l'activation du virus Epstein-Barr (**Schnitzler et al., 2001**). Enfin, certains extraits indonésiens contenant des FEG (fractions enrichies en glycosides) seraient capables d'inhiber la libération d'histamine dépendante des IgE dans les cellules RBL-2H3, permettant ainsi de limiter les réactions allergiques (**Ikawati et al., 2001**). De plus, le 1,8-cinéole, composé majeur des huiles essentielles d'eucalyptus, aurait des propriétés anti-inflammatoires, en supprimant la production de cytokines, ce qui en ferait un candidat intéressant pour le traitement à long terme de certains troubles inflammatoires (**Juergens et al., 1998**). Enfin, l'huile d'*E. globulus* a également démontré une activité antipaludique in vitro contre *Plasmodium falciparum* (Sugimoto et al., 2005), attribuable à ses propriétés antioxydantes liées à la présence de  $\beta$ -dicétones et d'acide ellagique (**Osawa et al., 1987**).

*Partie 2 : Étude  
Expérimentale*



# *Matériel et Méthodes*

**I.1. Echantillonnage**

Cette étude vise à évaluer les propriétés biologiques, notamment antioxydantes et antimicrobiennes, des métabolites secondaires, en particulier les polyphénols, présents dans certains extraits de plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. Plus précisément, nous nous sommes intéressés aux activités antioxydantes et antibactériennes des feuilles de deux espèces végétales : *R. officinalis* et *E. globulus*.

Les échantillons de feuilles de romarin utilisés dans cette étude ont été collectés dans la forêt de Boussaleh, située dans la région de Thyzza, dans la commune de Thénia. Les coordonnées géographiques du site de prélèvement sont 36°37'55.5" de latitude Nord et 3°35'38.9" de longitude Est, en Février et en Janvier 2024.

Les feuilles d'eucalyptus ont été récoltées dans la forêt du village de Khmairia. Ces prélèvements ont été effectués en Février 2024.

**I.2. Extraction des principes actifs****I.2.1. Préparation de la poudre**

Une fois la récolte terminée, les feuilles des végétaux ont été minutieusement lavées à l'eau afin de retirer les impuretés et la poussière. Elles ont ensuite été séchées dans une étuve réglée à 40°C pendant une période de 15 jours. Après le séchage, on a réduit les feuilles en poudre fine et homogène à l'aide d'un moulin à café. Par la suite, cette poudre a été mélangée à l'aide d'un tamis de 200 µm de diamètre afin d'obtenir une texture homogène. La fine et homogène poudre obtenue a été précieusement conservée dans des flacons en verre fermés, étiquetés.

**I.2.2. Optimisation par éthanol**

Pour optimiser l'extraction, différents paramètres ont été étudiés, notamment la concentration du solvant (40%, 60%, 80% et pur), la quantité poudre végétale (0,1g, 0,2g, 0,4g et 0,6g), la durée d'extraction (60min, 90min, 120min et 150min) et la température (25°C, 40°C, 50°C et 60°C). Le processus a été répété deux fois pour chaque plante (x2). Une fois les paramètres optimaux déterminés, l'extraction des polyphénols sera effectuée en quantité suffisante pour poursuivre l'étude.

### I.2.3. Extraction assistée par Ultrasons

Selon les conclusions de l'étude préliminaire, les conditions optimales ont été déterminées pour cette étape d'extraction. Afin d'extraire les composés actifs des plantes *Eucalyptus globulus* et *Rosmarinus officinalis*, des procédures d'extraction différentes ont été appliquées. Pour l'eucalyptus, 20 grammes de poudre végétale ont été ajoutés à 100 ml d'éthanol à 60% de concentration, soit un ratio de 2:10 (g/ml) de poudre par volume de solvant. Pour le romarin, 10 grammes de poudre ont été mélangés à 100 ml d'éthanol à 80% de concentration, avec un ratio de 1:10 (g/ml). Les mélanges ont été préparés dans des flacons et placés dans un bain à ultrasons, réglé respectivement à 50°C pour l'eucalyptus et 40°C pour le romarin.

L'extraction par ultrasons a été réalisée pendant des durées variables de 90 minutes et 60 minutes respectivement, avec une puissance constante de 120 W.

Après l'extraction, le mélange a été centrifugé. Une fois la centrifugation terminée, on récupère le surnageant contenant les polyphénols.

Une fois les extractions réalisées, les mélanges liquides ont été versés dans des boîtes de Pétri en verre. Celles-ci ont ensuite été placées dans une étuve maintenue à une température de 40°C, afin de permettre l'évaporation complète de l'éthanol présent. Ce processus d'évaporation a permis de concentrer les composés actifs extraits des plantes, en éliminant progressivement le solvant utilisé lors des étapes précédentes.

Une fois que l'évaporation de l'éthanol a été complétée, l'extrait éthanolique résultant a été soigneusement recueillis, les extraits ont été transvasés et stockés dans de petits flacons en verre hermétiquement fermés. Ces flacons ont été placés à l'abri de la lumière, afin de préserver la stabilité et l'intégrité des composés actifs présents dans les extraits.

#### Calcul du rendement

Le rendement d'extraction est défini comme le rapport entre la masse de l'extrait végétal obtenu et la masse de la poudre de plante sèche utilisée comme matière première. Il est généralement calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{Masse de l'extrait} / \text{Masse de la poudre végétale sèche}) \times 100$$

**I.3. Screening phytochimique****I.3.1. Teste des flavonoïdes**

Afin de détecter la présence éventuelle de flavonoïdes au sein des extraits végétaux, un test analytique spécifique à cette famille de composés est mené. Quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) concentré et quelques milligrammes de magnésium (Mg) sont ajoutés à 1 ml de chaque extrait. En présence de flavonoïdes, cette réaction produit une coloration rouge ou orangée caractéristique.

**I.3.2. Teste des tanins**

Afin de rechercher la présence de tanins dans les extraits végétaux, un test spécifique a été effectué. Pour ce faire, quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) à 1% (Annexe II) ont été ajoutées à 2 ml de chaque extrait. En présence de gallo-tanins, cette réaction produit une coloration bleu-noire caractéristique. Tandis que la détection de tanins catéchiques (ou tanins condensés) se traduit plutôt par une teinte bleu-vert.

**I.3.3. Teste des saponines**

À 5 ml de chaque extrait végétal, 10 ml d'eau distillée sont ajoutés. Le mélange est alors vigoureusement agité pendant 15 secondes en position horizontale. Après 30 minutes de repos, la persistance d'au moins 1 cm de mousse pendant 15 minutes indique la présence de saponines dans l'extrait.

**I.3.4. Teste de Quinones libres**

Quelques gouttes d'une solution aqueuse Hydroxyde de sodium (NaOH) à 1% sont ajoutées à un volume d'extrait végétal. La présence de quinones libres se traduit par un changement de couleur de l'extrait vers le jaune, le rouge ou le violet.

**I.3.5. Teste de terpenoïdes**

À 5 ml de chaque extrait végétal sont ajoutés 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Après mélange, deux phases distinctes apparaissent. La présence de terpenoïdes est indiquée par une coloration brune de l'interphase entre les deux phases.

**I.3.6 Les oses et holosides**

1 ml de chaque extrait et 5 ml d'éthanol donnent un aspect floconneux en présence des mucilages (**Bruneton, 1999**).

## I.4. Dosage des composés phénoliques

### I.4.1. Dosage des Polyphénols Totaux

#### Principe

La quantité totale de phénols est généralement évaluée par colorimétrie à l'aide du test de Folin-Ciocalteu.

Folin-Ciocalteu est un réactif composé d'acide phosphomolybdique ( $H_3PO_4Mo_{12}O_3$ ) et d'acide phosphotungstique ( $H_3PO_4W_{12}O_3$ ), de couleur jaune. Ce réactif réagit avec les composés phénoliques des extraits de plantes, ce qui entraîne la transformation d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique en oxydes de tungstène et de molybdène lors de l'oxydation des polyphénols. Dans cette réaction, un complexe bleu se forme, ce qui indique l'oxydation des composés phénoliques. La teinte obtenue est directement corrélée à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait végétal (Dif *et al.*, 2015 ; Singleton *et al.*, 1965).

#### Mode opératoire

La méthode de spectrophotométrie a été employée pour quantifier les polyphénols (PPT). Afin de quantifier les polyphénols totaux présents dans les extraits végétaux, une méthode colorimétrique a été utilisée le protocole appliqué en 2007 par Li et ses collaborateurs, 100  $\mu$ l de chaque extrait dilué ont été mélangés à 500  $\mu$ l de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10 (Annexe II). Après 10 minutes d'incubation, 400  $\mu$ l d'une solution aqueuse de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à une concentration de 7,5 g/l ont été ajoutés au mélange réactionnel (annexe II).

Le carbonate de sodium agit comme un activateur de la réaction d'oxydation des polyphénols par le réactif de Folin-Ciocalteu. Cela permet de développer une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle à la teneur en polyphénols totaux de l'extrait. Le mélange réactionnel pendant deux heures à température ambiante dans l'obscurité. Finalement, on a utilisé un spectrophotomètre UV-visible pour mesurer l'absorbance à une longueur d'onde de 765 nm. L'intensité de la coloration bleue produite par la réaction d'oxydation des polyphénols peut être évaluée à partir de cette mesure. Le témoin a été préparé dans les mêmes conditions.

Les résultats ont été exprimés en équivalents milligrammes d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg GA/g DM) en utilisant une courbe d'étalonnage créée dans des conditions similaires avec des solutions d'acide gallique de différentes concentrations (Annexe III).

#### I.4.2. Dosage flavonoïde

##### Principe

Le principe de cette méthode repose sur la capacité des flavonoïdes à réagir avec le trichlorure d'aluminium par formation d'un complexe très stable entre les groupements hydroxyles OH libres en position 5 des flavonoïdes de l'extrait et le chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) qui former une coloration jaunâtre. Cette substance jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde de 430 nm. (Ali-Rachedi, et al. 2018).

##### Mode opératoire


Afin de quantifier les flavonoïdes présents dans les extraits végétaux, une méthode colorimétrique a été utilisée.

La méthode de dosage des flavonoïdes par complexation à l'aluminium cité par **Chang et al. (2002)** avec modification, a été employée pour quantifier ces composés dans les extraits de feuilles.

Pour cela, 1 ml de chaque extrait végétal a été mélangé avec 1 ml d'une solution de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 2% (Annexe II). Le mélange a ensuite été laissé à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 10 minutes, permettant la formation de complexes colorés entre les flavonoïdes et les ions Al<sub>3</sub>. Après cette étape d'incubation, l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à une longueur d'onde de 430 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS) en utilisant une courbe d'étalonnage, effectuée dans des conditions similaires, en associant des solutions de Quercétine à des concentrations différentes (Annexe III).

#### I.4.3. Dosage de flavonols

 **Principe :** L'échantillon contenant des flavonols entraîne la formation d'une couleur verte lorsqu'il réagit avec du chlorure d'aluminium et de l'acétate de sodium, mesuré à 440 nm dans un spectrophotomètre UV-Vis (**Masûd et al., 2024**).

### Mode opératoire

Cette méthode de mesure consiste à mélanger 500 µl d'extrait de feuilles avec 500 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 2% et 750 µl d'acétate de sodium (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>) à 5% (Annexe II). Ensuite, on a incubé à l'ombre pendant 2 heures et 30 minutes pour favoriser la formation du complexe entre AlCl<sub>3</sub> et les flavonols présents dans l'extrait. Un spectrophotomètre a été utilisé pour mesurer l'absorbance du mélange à une longueur d'onde de 440 nm.

Le contrôle négatif a été préparé dans les mêmes conditions, mais sans ajouter les extraits de plantes, en utilisant de l'éthanol comme substitut.

La quantité de flavonols dans l'extrait éthanolique a été déterminée en se basant sur une courbe d'étalonnage établie avec de la Quercétine (voir Annexe III), qui est utilisée comme standard de référence pour les flavonols.

Les teneurs en flavonols présents dans les extraits végétaux ont été exprimées en milligrammes équivalents de Quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

#### I.4.4. Dosage des tanins condensés

##### Principe

La teneur en tanins condensés des extraits végétaux a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique à la vanilline. Ce procédé repose sur la propriété des tanins condensés à former des complexes colorés lorsqu'ils réagissent avec la vanilline en milieu acide, conduisant à la formation d'un ion carbonique de couleur rouge. L'intensité de cette coloration, mesurée par spectrophotométrie à 500 nm, est proportionnelle à la concentration en tanins condensés présents dans l'extrait végétal analysé (**Haddouchi et al., 2016**).

##### Mode opératoire

L'évaluation des tanins condensés dans les extraits d'*E.globulus* et de *R.officinalis* a été réalisée selon la méthode de **Schofield et al. (2001)**. 400 µl de chaque extrait végétal ou de la solution standard sont mélangés avec 3 ml d'une solution de vanilline à 4% (Annexe II) dans le Ethanol, ainsi que 1,5 ml d'acide chlorhydrique (HCl) concentré. Le mélange réactionnel est ensuite incubé pendant 15 minutes, afin de permettre la formation du complexe coloré entre les tanins condensés et la vanilline en milieu acide. Une fois l'incubation terminée, l'absorbance du mélange est mesurée à une longueur d'onde de 500 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre.

La teneur en tanins condensés des extraits végétaux a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec la catéchine comme composé de référence (Annexe III). Les résultats ont ainsi été exprimés en milligrammes d'équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg ECT/g MS).

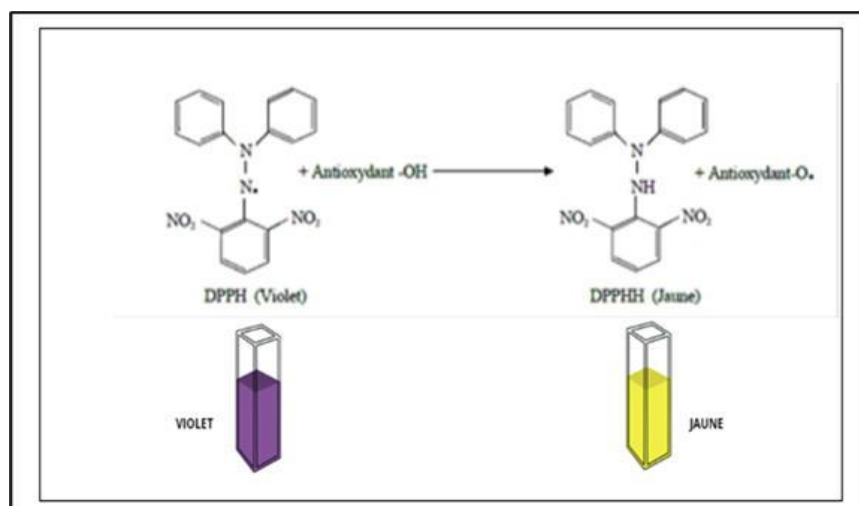
### I.5. Évaluation de l'effet antioxydant des extraits

L'activité antioxydante des extraits végétaux a été évaluée par des méthodes de test au radical libre, mettant en jeu deux composés chromophores : l'ABTS<sup>+</sup> et le DPPH. Ces techniques colorimétriques permettent de mesurer la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres synthétiques, par suivi spectrophotométrique.

#### I.5.1. Activité antioxydant par DPPH

##### ✚ Principe

La capacité des extraits à neutraliser le radical libre DPPH<sup>•</sup> a été évalué par une méthode colorimétrique. Le DPPH est un radical organique de couleur violette intense. Lorsqu'il est réduit par un composé antioxydant AH, il se transforme en DPPH-H, perdant ainsi sa coloration violette pour devenir jaune. Cette décoloration du DPPH en présence des extraits végétaux est mesurée par spectrophotométrie à 517 nm, longueur d'onde correspondant au pic d'absorption maximale du radical (**Maliński et al., 2021 ; Yaici et al., 2021**).



**Figure 8:** Réduction du DPPH par un antioxydant (**Habibou et al., 2019**).



### Mode opératoire

La capacité des extraits à neutraliser le radical libre DPPH<sup>•</sup> a été évalué selon une méthode spectrophotométrique.

Pour cela, 0,5 mL d'extrait végétal à différentes concentrations (de 1 à 100 µg/mL) ont été mélangés à 1 ml d'une solution fraîche de DPPH<sup>•</sup> (60.86 µM dans de l'éthanol) (Annexe II). Les mélanges ont été incubés à l'abri de la lumière, à une température de 25°C, pendant 30 minutes. Après cette période d'incubation, l'absorbance du mélange a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (**Masuda *et al.*, 1999**).

Le contrôle négatif consistait à remplacer l'extrait par de l'éthanol, en suivant les mêmes conditions opératoires. En revanche, le contrôle positif a été préparé en utilisant de l'acide gallique (Annexe II), un composé antioxydant de référence qui sert de base de comparaison pour évaluer l'activité de piégeage des radicaux DPPH<sup>•</sup> des extraits végétaux étudiés.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition du DPPH<sup>•</sup>, calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{Inhibition} = [(Absb - Abs) / (Abs \text{ DPPH})] \times 100.$$

**Absb** : La valeur d'absorbance du blanc (solution DPPH sans extrait).

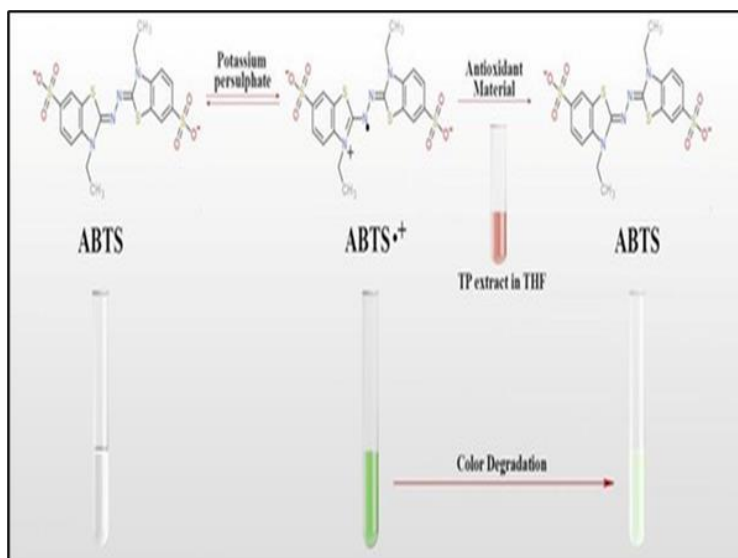
**Abs** : L'absorption de l'extrait.

**Abs DPPH** : Absorbance de la solution DPPH

### I.5.2. Activité antioxydant par ABTS<sup>•+</sup>

#### Principe

La réduction du radical libre ABTS<sup>•+</sup> est utilisée pour effectuer le test, ce qui donne une teinte bleu-vert foncé dans l'eau distillée et un spectre d'absorption à 734 nm. En présence de molécules ayant une activité antioxydante, le radical est réduit et la solution prend une teinte jaune pâle. L'activité de piégeage des radicaux libres ABTS<sup>•+</sup> est directement liée à l'intensité de la décoloration de ce radical (**Alam *et al.*, 2013**).



**Figure 9:** Représentation schématique de la méthode de piégeage des radicaux ABTS<sup>+</sup> (Üstündaş et al., 2018).

#### 🔧 Mode opératoire

L'activité de piégeage des radicaux ABTS<sup>+</sup> par nos échantillons végétaux a été évaluée par la méthode décrite par (Permatasari *et al.*, 2022).

Le radical ABTS<sup>+</sup> a été généré par la réaction entre 7 mM d'ABTS (Annexe II) dans l'eau et 2,5 mM (Annexe II) de persulfate de potassium dans l'eau, dans un ratio 1 : 1 (Re *et al.*, 1999). Ce mélange a été conservé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 12 à 16 heures, pour permettre la formation complète du radical. La solution d'ABTS<sup>+</sup> a ensuite été diluée avec de l'eau, de manière à obtenir une absorbance initiale de 0,700 à 734 nm. Lors des essais, 100µl d'extrait végétal ont été ajoutés à 1,9 ml de la solution d'ABTS<sup>+</sup> diluée. L'absorbance du mélange a été mesurée 5 minutes après le contact initial. Toutes les mesures ont été effectuées trois fois.

L'acide gallique a été utilisé comme antioxydant standard, il est préparé dans les mêmes conditions et l'activité antiradicalaire ABTS<sup>+</sup> des extraits a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\%I = [Abs\ 0 - Abs1 / Abs0] \times 100.$$

**% I :** Pourcentage d'inhibition du radical (ABTS<sup>+</sup>).

**Abs0 :** Absorbance du blanc (En absence d'extrait).

**Abs 1 :** Absorbance (Extrait + ABTS<sup>+</sup>).

## I.6. Détermination de l'activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis* a été évaluée sur différentes souches bactériennes, en suivant la méthode de diffusion en milieu gélosé, telle que décrite par (Haddouchi *et al.*, 2016 ; Ksouri *et al.*, 2009). Les souches testées étaient *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella.sp* et *Bacillus cereus* 14579.

Cette technique permet d'étudier l'effet des extraits végétaux sur la croissance de ces bactéries pathogènes. Elle consiste à déposer des volumes définis des extraits dans des disques dans un milieu de culture géloséensemencé avec les souches bactériennes. Après incubation, la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des disques renseigne sur l'activité antibactérienne des extraits testés.

Dans un premier temps, les milieux de culture nécessaires ont été préparés. Il s'agit du milieu nutritif et de l'agar Mueller-Hinton. Ensuite, l'ensemble du matériel utilisé pour les manipulations a été stérilisé à l'autoclave. La stérilisation a été effectuée à 125°C pendant 15 minutes.

### I.6.1. Préparation des extraits

Les extraits éthanoliques de *Rosmarinus officinalis* et d'*Eucalyptus globulus* ont été dissous dans du Diméthylsulfoxyde (DMSO) à une concentration initiale de 100 mg/ml. Cette solution mère a ensuite été diluée pour obtenir une concentration finale de 50 mg/ml de chaque extrait dans le DMSO. Afin d'éliminer tout microorganisme éventuel, les solutions d'extraits ont été filtrées à l'aide de filtres à seringue stériles.

Cette préparation des extraits dans le DMSO, avec une concentration finale de 50 mg/ml, a permis d'obtenir des solutions d'extraits végétaux prêtes à être testées pour leur activité antimicrobienne.

### I.6.2. Préparation de l'inoculum

Afin d'obtenir des cultures jeunes et homogènes des différentes souches bactériennes, chaque souche a été ensemencée en stries sur des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé de type gélose nutritive (GN). Ces boîtes ont ensuite été incubées pendant 18 heures, permettant ainsi aux bactéries de se développer et de former des colonies bien isolées.

Après l'incubation des cultures de 18 heures sur gélose nutritive, des suspensions bactériennes ont été préparées. Pour cela, 3 à 5 colonies isolées de chaque souche ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et transférées dans 9 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% de NaCl. Les suspensions ont été homogénéisées quelques secondes au vortex.

Pour standardiser la concentration bactérienne, l'absorbance des suspensions a été mesurée à 625 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La densité optique a été ajustée pour obtenir une plage comprise entre 0,1 et 0,08, correspondant à des concentrations de  $10^8$  à  $10^7$  UFC/ml. Un écouvillon stérile a ensuite été immergé dans chaque suspension, puis essoré contre la paroi du tube pour éliminer l'excès. L'écouvillon a alors été utilisé pour ensemercer la surface de boîtes de gélose Mueller-Hinton, en réalisant des stries serrées. Des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre, stérilisés à l'autoclave, ont été imprégnés de 20  $\mu$ l de chaque extrait végétal à tester. Ces disques ont été déposés sur les géloses préalablementensemencées avec les bactéries. Un témoin négatif a été préparé avec du DMSO seul.

Après 2 heures d'incubation à 4°C pour permettre la diffusion des extraits, les boîtes ont été placées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries.

L'activité antimicrobienne se traduit par la formation de zones d'inhibition autour des disques imprégnés d'extraits. Les diamètres de ces zones, incluant le diamètre des disques, ont été mesurés en millimètres à l'aide d'une règle graduée.

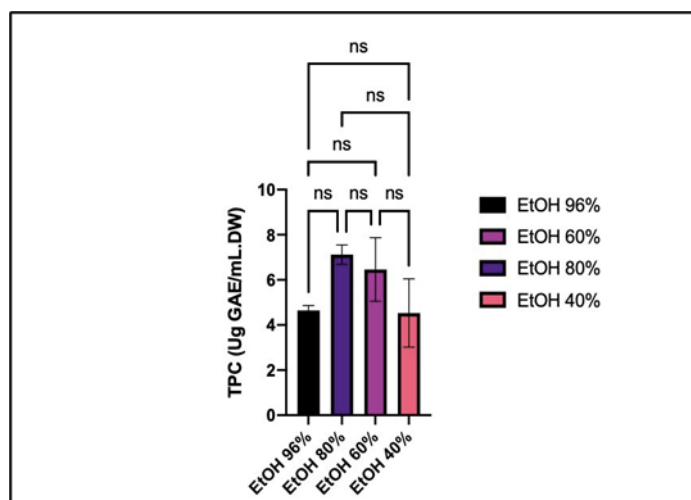
*Résultats et  
Discussions*

## II.1. Optimisation des paramètres

### II.1.1. Paramètres optimaux pour *R.officinalis*

#### A) Effet du pourcentage de l'éthanol sur le taux des polyphénols

La figure présentée ci-dessous montre l'influence de l'éthanol sur le taux de polyphénols totaux dans les feuilles de *R.officinalis*. Les résultats de l'analyse statistique indiquent que l'éthanol n'a pas d'effet significatif sur la teneur en polyphénols, avec une performance optimale observée à 80% par rapport aux autres concentrations.



**Figure 10:** Effet du pourcentage de l'éthanol sur le taux des polyphénols

L'augmentation de la concentration en éthanol de 40 à 80 % a entraîné une légère amélioration du rendement en TPC à 7,3 (µg GAE/ml MS), ce qui a été un aspect notable de l'étude. Aux concentrations d'éthanol dépassant 80 %, la teneur obtenue était significativement plus basse que celle obtenue à des concentrations plus hautes, et le rendement minimal en polyphénols est de 4,73 (µg GAE/ml MS), avec éthanol à 40%. En revanche, la concentration de 80 % a présenté le meilleur rendement en polyphénols pour *R. officinalis*, et a donc été sélectionnée pour les étapes suivantes de l'étude.

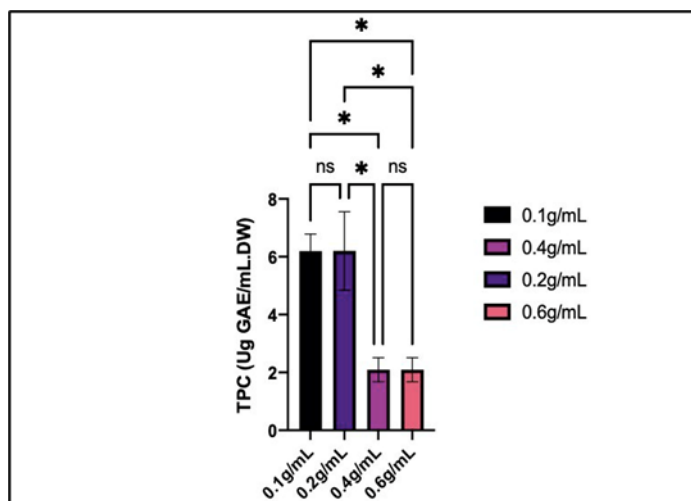
L'éthanol, en tant que solvant, peut favoriser une expansion de la structure cellulaire des feuilles de romarin. Cette modification structurale faciliterait alors la pénétration du solvant dans le matériel végétal, permettant une meilleure extraction des composés bioactifs (Hu *et al.*, 2016).

Ces résultats concordent avec des observations antérieures indiquant une diminution du taux des polyphénols dans les extraits éthanoliques de *R. officinalis* à 70% (Minh *et al.*, 2021).

En revanche, d'autres études (Hossain *et al.*, 2011) ont montré que l'optimisation guidée par RSM a révélé que les conditions idéales d'extraction pour les feuilles de romarin par ASE étaient de 56 % d'éthanol associé à une température de 129 °C. Cependant, nos résultats diffèrent de manière significative de ces conclusions, car nous avons obtenu de meilleurs rendements avec une concentration de 80 % d'éthanol et une température de 40 °C.

### B) Effet de ratio (masse/ volume) sur le rendement en polyphénol totaux

La figure présentée ci-dessous illustre l'impact du ratio masse/volume sur le rendement d'extraction des polyphénols totaux pour *R.officinalis*. Selon l'analyse statistique effectuée, il a été constaté que ce ratio n'a pas d'effet significatif sur le rendement en polyphénols. Notamment, le ratio de 0,1 g/ml a été sélectionné pour démontrer le meilleur rendement par rapport aux autres ratios, en particulier par rapport au ratio de 0,2 g/ml, car y'a pas une différence significative en les deux.



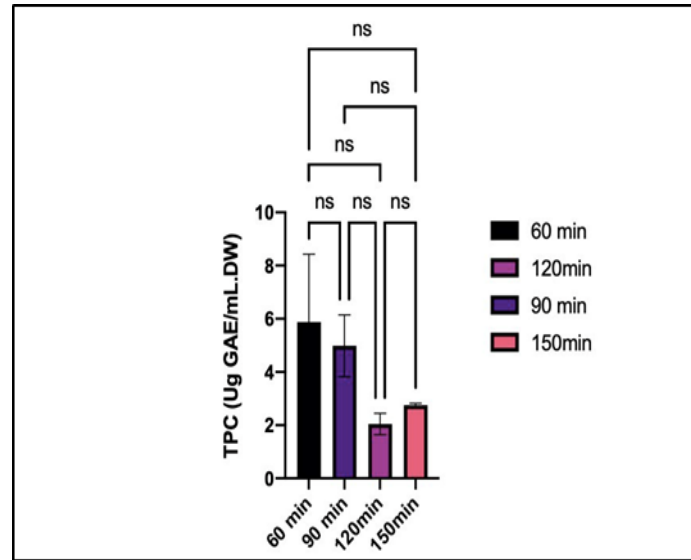
**Figure 11:** Effet de ratio (masse/ volume) sur le rendement en polyphénol totaux

L'augmentation de la masse en poudre de notre extrait de 0,1 à 0,6 g/ml a entraîné une légère diminution du rendement du TPC à 6,17- 2 (µg GAE/ml MS), ce qui est une constatation remarquable de la recherche. Pour les rapports supérieurs à 0,2 g/ml, il n'y avait pas de distinction substantielle (pas différence peu significative) entre 0,4 et 0,6 g/ml ; par conséquent, le TPC acquis était nettement inférieur à celui obtenu à des rapports inférieurs, avec une valeur minimale d'environ 2 (µg GAE/ml PS).

Le ratio de 0,1 g/ml a présenté le meilleur rendement en polyphénols pour *R.officinalis*, et a donc été retenu pour les prochaines étapes de l'étude.

Cette relation peut être interprétée de la manière suivante ; À un ratio de 0,6 g/ml, l'ajout de 0.6g de poudre feuilles de *Romarin* avec 1 ml l'éthanol en raison de la saturation de ce dernier en poudre, ce qui rend difficile la pénétration de l'éthanol dans la membrane des feuilles. Cela a un impact négatif sur l'efficacité de l'extraction et par conséquent, sur le rendement en TPC.

### C) Effet du temps d'extraction sur le rendement en polyphénol totaux



**Figure 12:** Effet du temps d'extraction sur le rendement en polyphénol totaux.

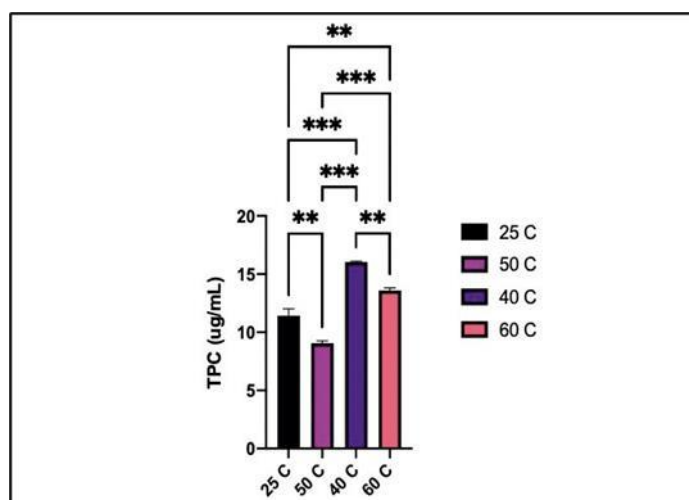
La figure ci-dessus représente l'effet du temps d'extraction sur le rendement d'extraction des polyphénols totaux pour *R.officinalis*. D'après l'étude ; le temps a un effet non significatif sur le rendement en polyphénol ; dont 60min a montré d'ailleurs le meilleur rendement comparant aux autres temps.

Plus le temps d'extraction était long, plus l'efficacité serait élevée. Cependant, jusqu'à un certain temps, l'allongement du temps d'extraction ne pouvait pas augmenter l'efficacité. D'autre part, il a causé un gaspillage d'énergie et de solvant (**Minh et al., 2021**).

Conformément à la figure 12, le fait de prolonger le temps d'extraction de 60 à 120 minutes a entraîné une diminution du TPC, ce qui signifie que le temps n'a pas eu d'incidence significative sur le TPC obtenu.



## D) Effet de la température sur le rendement en polyphénol totaux



**Figure 13:** Effet de la température sur le rendement en polyphénol totaux.

La figure ci-dessus illustre l'impact de la température sur le rendement d'extraction des polyphénols totaux pour *R. officinalis*. Selon l'analyse statistique ANOVA, la température a un effet très significatif sur le rendement en polyphénols, avec une performance optimale observée à 40°C par rapport aux autres températures.

Une amélioration du rendement a été constatée en passant de 25°C à 60°C, atteignant ainsi un pic de 16 (µg/mL) en TPC à température 40°C. Cependant, une légère diminution du TPC à 8.8 (µg/mL) a été observée à 50°C, ce qui signifie qu'il y aura une différence très significative entre les deux ratios suggérant une possible dégradation thermique des polyphénols (**Minh et al., 2021**).

Selon Les résultats **Richter et al., 1996** indiquent que l'augmentation de la température lors de l'extraction semble avoir favorisé une amélioration dans la diffusion du solvant, le transfert de masse et la solubilité des composés phénoliques.

La température de 40°C a montré le rendement le plus élevé en polyphénols pour *R. officinalis* et a donc été retenue pour les prochaines étapes de l'étude.

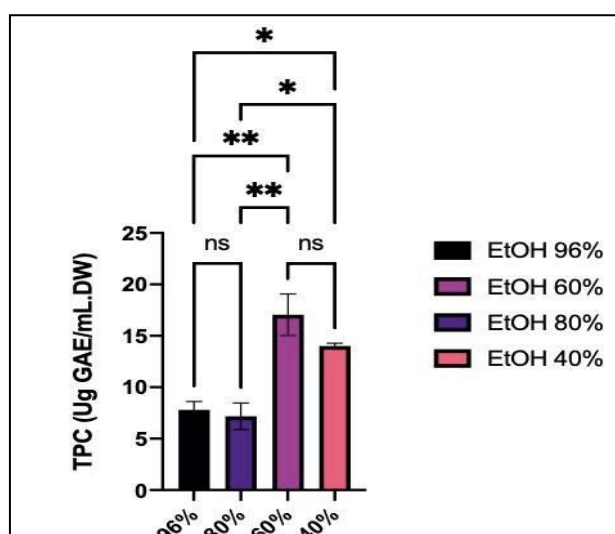
Ces résultats concordent avec des observations antérieures indiquant une diminution de taux des polyphénols totaux dans les extraits éthanoliques de *R. officinalis* à 70°C (**Juntachote et al., 2006**).

### II.1.2. Paramètres optimaux pour *E.globulus*

#### A) Effet de pourcentage en éthanol sur le rendement en polyphénol totaux

D'après la figure 14, il semble que la concentration en éthanol ait eu un impact relativement modéré sur le taux de polyphénols totaux extraits à partir des feuilles *d'E.globulus*.

Les résultats de l'analyse statistique indiquent que la concentration optimale en éthanol pour maximiser le rendement en polyphénols se situerait autour de 60%. Les extraits obtenus avec cette concentration en solvant ont en effet présenté les plus fortes teneurs en composés phénoliques totaux, comparativement aux autres pourcentages d'éthanol testés.



**Figure 14:** Effet de concentration en éthanol sur le rendement en polyphénol totaux

L'augmentation de la concentration d'éthanol de 40% à 60% a entraîné une diminution du rendement en TPC, passant de 16.67, à 7,91 (µg/ml), ce qui constitue un aspect significatif par rapport aux concentrations supérieures (80% et 96%).

La concentration de 60% a démontré le meilleur rendement en polyphénols pour *E.globulus* et a donc été choisie pour les étapes ultérieures de l'étude.

Cependant, il a été observé que la concentration d'éthanol avait un double effet sur le TPC : dans la première moitié de sa plage de variation, ce paramètre a eu un effet positif sur le TPC (augmentation) ; cependant, une fois le niveau optimal atteint (seuil d'activité), l'augmentation de la concentration d'éthanol a eu un effet négatif sur le TPC (diminution), en raison de l'influence de la polarité des solvants et des composés sur l'extraction des composés phénoliques (Beatriz *et al.*, 2017).

Il a été souligné que l'utilisation d'un seul solvant peut ne pas être aussi efficace pour l'extraction de composés bioactifs, tandis qu'un mélange d'alcool et d'eau s'avère plus efficace pour l'extraction de composés phénoliques que l'alcool seul (Wang *et al.*, 2013 ; Rajha *et al.*, 2014).

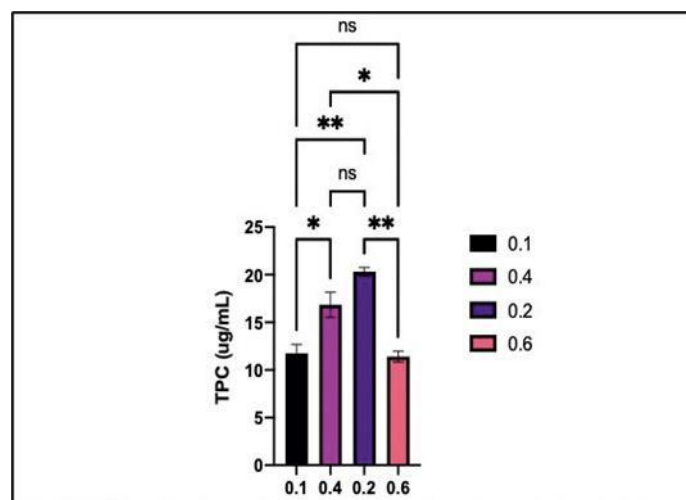
Ces observations suggèrent que la plupart des composés bioactifs présents dans les extraits de feuilles d'*E.globulus* ont un caractère polaire.

La valeur maximale de TPC, soit 16,67 ( $\mu\text{g/ml}$ ), a été obtenue à 60%. Les résultats de notre étude ont été comparés favorablement à ceux rapportés par (Mota *et al.*, 2012), qui ont également signalé un pic de composés phénoliques dans l'écorce d'*E.globulus* contenant 50% d'éthanol. Une tendance similaire a été observée pour l'extraction assistée par ultrasons de composés antioxydants à partir de feuilles de mûre (Aybastier *et al.*, 2013).

### B) Effet de ratio (masse/ volume) sur le rendement en polyphénol totaux.

La figure ci-dessous met en évidence l'impact du ratio masse/volume sur le rendement d'extraction des polyphénols totaux de *E.globulus*.

Les analyses statistiques et de variance (ANOVA) ont confirmé l'importance de ce ratio sur le rendement en polyphénols. En particulier, le ratio de 0,2 g/ml a été identifié comme offrant le meilleur rendement parmi les différents ratios et présente différence très significative positive par rapport le ratio de 0,1 g/ml qu'a également montré une différence significative par rapport le 0,4 g/ml avec un TPC de (16,34  $\mu\text{g/ml}$ ).



**Figure 15:** Effet de ratio (masse/ volume) sur le rendement en polyphénol totaux.

L'augmentation de la masse de poudre de l'extrait de 0,1 à 0,6 g/ml (une différence non significative) a entraîné une augmentation du rendement en TPC avec un pic optimal de 20,03 ( $\mu\text{g/ml}$ ), ce qui constitue une observation clé de l'étude.

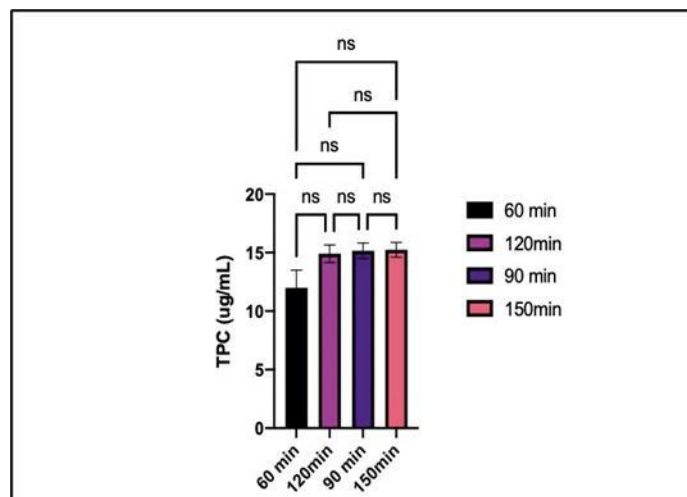
Pour les ratios supérieurs à 0,2 g/ml, une différence très significative a été observée entre 0,2 et 0,6 g/ml, entraînant un rendement en TPC nettement inférieur par rapport aux ratios inférieurs, avec une valeur minimale d'environ 12,27 ( $\mu\text{g GAE/ml PS}$ ).

Ainsi, le ratio de 0,2 g/ml a été retenu pour les prochaines étapes de la recherche en raison de son meilleur rendement en polyphénols pour *Eucalyptus globulus*, probablement en raison des mêmes facteurs mentionnés précédemment.

### C) Effet du temps d'extraction sur le rendement en polyphénol totaux.

La figure ci-dessus illustre l'impact du temps d'extraction sur le rendement d'extraction des polyphénols totaux pour *E. globulus*.

Selon l'étude statistique l'analyse ANOVA, le temps n'a pas d'effet significatif sur le rendement en polyphénols, avec une performance optimale observée à 90 minutes par rapport aux autres durées.



**Figure 16:** Effet du temps d'extraction sur le rendement en polyphénol totaux.

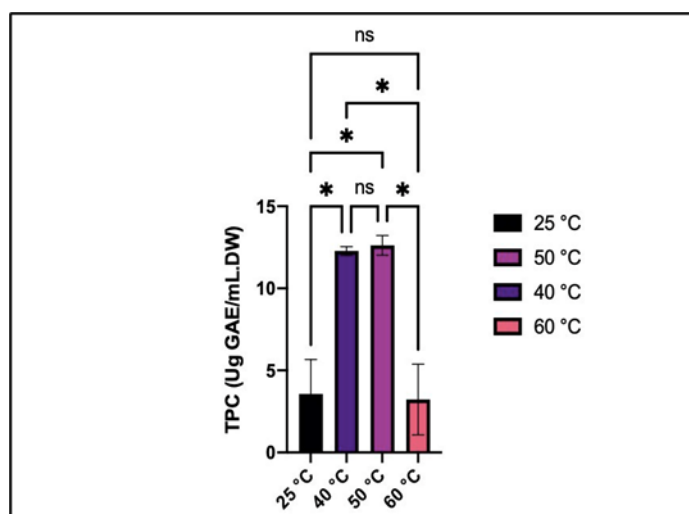
Une augmentation de la durée d'extraction a été associée à une amélioration de l'efficacité. Cependant, au-delà d'un certain seuil, prolonger le temps d'extraction n'a pas permis d'accroître davantage l'efficacité, entraînant plutôt une inefficacité énergétique et une perte de solvant (Minh *et al.*, 2021).

En prolongeant le temps d'extraction de 60 à 150 minutes, une légère augmentation du TPC a été observée, indiquant que le temps n'a pas eu d'impact significatif sur le TPC obtenu.

En d'autres termes, une fois dépassé un certain seuil, le temps influence de manière marginale. Le temps de 90 à 150 minutes a présenté le meilleur rendement en polyphénols pour l'*E.globulus* (15,12  $\mu\text{g/mL}$ ) et a donc été retenu pour les étapes ultérieures de l'étude. Les résultats de notre étude sont cohérents avec ceux publiés par (Natalia *et al.*, 2012), où le TPC de la biomasse forestière augmentait avec la concentration d'alcool jusqu'à environ 50% à 180 minutes, en raison des mêmes facteurs mentionnés précédemment.

#### D) Effet de la température sur le rendement en polyphénol totaux

La figure ci-dessus met en évidence l'influence de la température sur le rendement d'extraction des polyphénols totaux de l'*E.globulus*. Selon l'analyse statistique ANOVA, la température a un effet relativement faible sur le rendement en polyphénols, avec une performance optimale observée à 50°C par rapport aux autres températures.



**Figure 17:** Effet de la température sur le rendement en polyphénol totaux.

Une amélioration significative du rendement a été observée en passant de 25°C à 60°C (différence non significative ; valeur de  $P < 0,0001$ ), atteignant un pic optimal de 12,57 ( $\mu\text{g/mL}$ ) en TPC à 50°C. Cependant, une forte diminution du TPC à 3,24 ( $\mu\text{g/mL}$ ) a été constatée à 60°C, suggérant une possible dégradation thermique des polyphénols (Minh *et al.*, 2021).

L'élévation de la température semble favoriser l'extraction en améliorant la diffusion du solvant, le transfert de masse et la solubilité des composés phénoliques (Richter *et al.*, 1996).

La température de 50°C a démontré le meilleur rendement en polyphénols pour l'*E.globulus* et a donc été retenue pour les étapes suivantes de l'étude.

Il est cohérent que l'augmentation de la température augmente la solubilité et la polarité de nombreux composés, favorisant ainsi une extraction plus efficace des composés antioxydants grâce à une meilleure diffusion.

## II.2. Screening phytochimiques

La méthode de criblage phytochimique est utilisée pour détecter la présence de composés de métabolites secondaires et évaluer leur concentration dans les tissus de *R.officinalis* et *E.globulus*. Des substances chimiques sont utilisées pour interagir avec ces composés et déterminer leur présence ou leur absence dans les tissus végétaux, ce qui peut être observé par un changement de couleur spécifique ou par un examen visuel.

### II.2.1. Analyse qualitative

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les échantillons de Romarin et d'Eucalyptus broyés sont répertoriés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 3:** Résultats du screening phytochimique de l'extrait éthanolique d'*Eucalyptus globulus* et *R.officinalis*.

Métabolites Secondaires	Remarque	Résultats	
		<i>R. officinalis</i>	<i>E. globulus</i>
Flavonoïdes	Coloration orange ou rouge.	+	+
Tannins Condensés	Coloration bleu-noire	+	+
Saponines	Anneau jaune se forme au fond du tube	+	-
Quinone libre	Coloration rouge violacée	-	-
Terpenoïdes	L'apparition de deux phases distinctes.	+	+
Oses et holosides	Virage de la couleur vers le rouge.	+	-

(+) : Présence ; (-) : Absence.

L'analyse phytochimique des extraits à base d'éthanol issus des feuilles *E. globulus* a révélé la présence de plusieurs classes de composés. On a pu notamment détecter la présence de flavonoïdes, de composés terpéniques (terpenoïdes) et de tanins condensés dans ces extraits. En revanche, les sucres libres (oses et holosides), les quinones libres et les saponines n'ont pas été mis en évidence dans ces extraits éthanoliques.

Ces résultats indiquent que les extraits végétaux *E. globulus* obtenus à l'éthanol sont riches en métabolites secondaires de type flavonoïdes, terpènes et tanins, mais dépourvus de certains autres composés comme les sucres libres, les quinones et les saponines.

Ces résultats concordent avec l'étude menée par **(Belbachir, 2019)** sur les extraits méthanolique et aqueux de l'espèce *E.camaldulensis* à Ain Timouchent en Algérie, qui a également identifié ces métabolites dans ses échantillons.

Cependant, les saponosides, les composés réducteurs (oses et holosides) et les quinones libres présents dans notre espèce sont absents chez l'espèce étudiée par **(Belbachir, 2019)**. En outre, l'absence de saponosides dans notre *Eucalyptus globulus* va à l'encontre des résultats obtenus par **(Shubhreet et al., 2019)** pour l'*E.camaldulensis* en Inde, qui ont rapporté des résultats contradictoires. Malgré cela, cette espèce contient des flavonoïdes et des tanins, similaires à ceux identifiés dans notre plante.

Cette analyse phytochimique de l'*E.globulus* a révélé des résultats cohérents avec certaines études et divergents avec d'autres, en ce qui concerne la présence de certaines familles de composés chimiques. La variabilité observée dans les résultats de l'analyse phytochimique des extraits d'*E.globulus* peut s'expliquer par de nombreux facteurs différents. D'un point de vue biologique, le stade de développement de la plante ainsi que l'organe végétal étudié (feuilles, écorce, fleurs, etc.) peuvent influencer la composition en métabolites secondaires.

De plus, le lieu de récolte et les conditions environnementales comme le climat, le sol, l'ensoleillement ou les précipitations peuvent également jouer un rôle important. Enfin, les méthodes d'extraction utilisées, telles que les solvants employés, la température, la durée d'extraction, peuvent moduler la solubilisation et la récupération de certains composés plutôt que d'autres. Tous ces éléments - biologiques, géographiques et techniques - peuvent donc expliquer les variations observées dans la composition phytochimique des extraits d'*E.globulus*.

**a) Les flavonoïdes**

Les résultats de notre étude révèlent un changement de couleur vers le rouge orangé, indiquant une concentration élevée de flavonoïdes. Ces conclusions sont en accord avec les recherches menées par (Fadili *et al.*, 2015), ainsi que par (González *et al.*, 2007). De même, les travaux de (Johar *et al.*, 2015) confirment une présence modérée de flavonoïdes dans les feuilles de *R. officinalis*.

Les flavonoïdes jouent un rôle crucial dans les plantes en les protégeant contre le stress hydrique. Ces composés sont associés à de nombreuses activités biologiques et agissent comme des antioxydants efficaces, protégeant les aliments d'origine végétale contre l'oxydation et offrant une action antiradicalaire reconnue (Makhloufi, 2013).

**b) Les tanins**

Lors du test des tanins, l'observation d'un changement de couleur vers le vert foncé indique la présence significative de tanins condensés (catéchiques) et l'absence de tanins hydrolysables dans l'extrait aqueux de Romarin. Les études de (Makhloufi, 2013 ; Johar *et al.*, 2015), ainsi que (González *et al.*, 2007), soulignent l'abondance de ces métabolites dans *R. officinalis*.

Selon les recherches de (Iserin, 2001), les tanins ont la capacité d'arrêter les hémorragies et de combattre les infections. Ces tanins agissent en donnant des protons aux radicaux libres lipidiques générés lors de la peroxydation. Cette réaction forme des radicaux tanniques plus stables, interrompant ainsi la réaction en chaîne de l'auto-oxydation des lipides, comme le mentionne (Makhloufi, 2013).

**c) Les Quinones libres**

Le tableau 03 présente également la concentration en quinones libres dans l'extrait. La confirmation de ces quinones est observée par un changement de couleur vers le rouge dans le milieu réactionnel, indiquant une forte présence de ces composés dans la plante. Ces résultats sont cohérents avec les études menées par (Fadili *et al.*, 2015 ; Makhloufi, 2013).

Les quinones ont une action irritante et laxative sur le gros intestin en induisant des contractions des parois intestinales, stimulant les évacuations et favorisant ainsi le transit intestinal. Cela explique l'effet stomacal du romarin, comme le souligne (Makhloufi, 2013).



#### d) Les terpenoïdes

Le tableau 0 3 révèle la présence de terpenoïdes dans l'extrait de la plante. Cette identification est confirmée par l'apparition d'une coloration brun rougeâtre à l'interface, suggérant une concentration modérée de ces métabolites dans la plante. Les études menées par (Fadili *et al.*, 2015), ainsi que (Johar *et al.*, 2015), indiquent une faible présence de terpenoïdes dans le romarin.

Les terpenoïdes sont reconnus pour leurs propriétés antibactériennes et cardiotoniques, comme le mentionne Saad (2017). Selon les recherches de Makhloufi (2013), ils contribuent également à la protection contre les attaques fongiques,

#### e) Les saponines

Le test des saponines révèle la formation d'une mousse de plus de 1 cm de hauteur, confirmant la forte présence de ces composés dans la plante. Ces résultats sont en accord avec les études de (Johar *et al.*, 2015), ainsi que de (Makhloufi, 2013), qui mettent en évidence l'abondance de saponines dans *R. officinalis*.

La plante est particulièrement riche en saponines, des molécules reconnues pour leurs propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et anti-œdémateuses, comme le soulignent les recherches de (Roux *et al.*, 2007).

#### f) Les composés réducteurs (Oses et holosides)

Notre recherche démontre que la présence de composés réducteurs se manifeste par une coloration rouge brique intense, indiquant une concentration significative de ces composés, ce qui contredit les études de (Fadili *et al.*, 2015), ainsi que de (Johar *et al.*, 2015).

Selon Makhloufi (2013), la richesse de *R.officinalis* en composés réducteurs pourrait expliquer l'effet antioxydant élevé du romarin. La figure ci-dessus met en évidence l'influence de la température sur le rendement d'extraction des polyphénols totaux de l'*E.globulus*.

L'analyse statistique et l'ANOVA montre que la température a un effet relativement faible sur le rendement en polyphénols, avec une performance optimale observée à 50°C par rapport aux autres températures.

### II.3. Dosages colorimétriques des extraits des feuilles de *R. officinalis* et *E. globulus*

#### II.3.1. Dosage des Polyphénols totaux

La quantité de polyphénols totaux a été évaluée à l'aide de la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, une méthode ancienne largement utilisée pour mesurer la teneur en polyphénols des plantes médicinales et des aliments.

L'acide gallique est le standard couramment utilisé dans cette méthode. Les résultats obtenus (quantification des polyphénols totaux) ont été effectuée en appliquant une équation de régression linéaire établie à partir d'une courbe d'étalonnage. L'équation spécifique utilisée dans cette étude était :  $y = 0,0109x - 0,0039$ , l'acide gallique utilisé comme étalon de référence (Annexe III). Le coefficient de détermination ( $R^2$ ) de cette équation s'élevait à 0,9975, démontrant ainsi un ajustement satisfaisant des données à la courbe d'étalonnage.

Les résultats obtenus indiquent que la quantité des composés phénoliques est relativement importante dans les feuilles du romarin ( $86,200 \pm 25,46$  mg EAG/g MS).

Cette valeur est beaucoup plus faible que celle trouvée par (Stephanovits *et al.*, 2003), qui est de l'ordre de  $128,976 \pm 9,257$  mg EAG/g MS, ce qui signifie que leurs solvant d'extraction (méthanol) malgré sa toxicité influence et améliore le rendement en PPT.

Les teneurs reportés par (Yesil *et al.*, 2007), qui ont mené des études sur les teneurs en composés phénoliques totaux issus de trois régions différentes de Turquie, variaient entre 70,3 et 147,3 mg EAG/g MS, sont inférieurs par rapport à nos résultats, et cela dû à la région et le stade de maturité des échantillons, les facteurs environnementaux, ainsi la toxicité de leur solvant d'extraction (Méthanol) qu'elle influence peut-être de manière inverse et négative sur les résultats.

Selon la littérature, la teneur des polyphénols dans les feuilles du romarin est moindre à celle trouvée par (Ekran *et al.*, 2008) : (162 mg EAG/g MS) ; et (Ho *et al.*, 2008) : (127 mg EAG/g MS). Cependant, pour (Tsai *et al.*, 2007) : (58.1 mg EAG/g MS) et (Tawaha *et al.*, 2007): (39.1 mg EAG/g MS) ; nos résultats représente une teneur phénolique totale remarquablement élevée à celle d'eux, ce qui peuvent être attribué au ratio (masse/ volume), les conditions climatiques, ainsi la méthode d'extraction UAE qu'elle améliore de manière approfondie les rendements d'extraction ce qui dû à sa polyvalence et la capacité d'utiliser moins ou pas de solvant organique, sa nature en tant que méthode physique d'extraction, sa simplicité de fonctionnement, son efficacité de l'extrait, sa capacité à préserver l'activité

biologique des extraits de composés (Dzah *et al.*, 2020), et rapide (Dolatowski *et al.*, 2007) et beaucoup d'autres facteurs.

Les résultats révèlent que la teneur moyenne en phénols totaux de l'extrait éthanolique d'*Eucalyptus globulus* est de  $109,715 \pm 2,326$  mg EAG/g MS. On remarque que le taux en PPT de notre étude est inférieur à celle rapportée par (Atoui *et al.*, 2005) avec une teneur de  $113 \pm 1,33$  mg EAG / tasse (240 ml) d'infusion de feuilles d'*E.globulus*, qui dû au solvant d'extraction, comme c'est déjà expliqué précédemment.

D'autre part, Amakura *et al.* (2009), utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu pour évaluer les polyphénols totaux dans les extraits de feuilles d'Eucalyptus A et Eucalyptus B (utilisés comme additifs alimentaires). Ces différences pourraient être attribuées à la différence de la nature et la polarité du solvant utilisé malgré que le méthanol donne un meilleur rendement en polyphénols totaux par rapport à l'éthanol, l'éthanol représente peu de toxicité comparant au premier.

### II.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le taux de flavonoïdes dans les extraits de feuilles de Romarin et d'eucalyptus a été mesuré en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium. Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant la quercétine comme flavonoïde de référence (voir Annexe III), et les résultats ont été exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

L'équation de régression linéaire obtenue était  $y = 0,0321x - 0,0319$ . Le coefficient de détermination ( $R^2$ ) de cette équation s'est élevé à 0,9939, indiquant une forte corrélation entre les mesures effectuées et les concentrations en flavonoïdes.

Les analyses ont révélé que la teneur en flavonoïdes de l'extrait éthanolique de *R. officinalis* était de  $(43,225 \pm 1,732)$  mg EQ/g MS), montrant une faible concentration en flavonoïdes dans cet extrait. Comparativement, une étude antérieure menée par (Tsai *et al.*, 2007) a rapporté une teneur de  $(128 \pm 0,8)$  µg EQ/g MS), bien inférieure à nos résultats, et ça attribué à l'utilisation de l'infusion aqueuse (Macération) ainsi, le méthanol comme solvant toxique qui peuvent réduit leurs teneurs en PPT.

Des études ultérieures ont montré des variations significatives dans les teneurs en flavonoïdes. Par exemple, (Megateli, 2018) a trouvé une teneur de  $(14,48 \pm 1,5)$  mg EQ/g MS) dans un extrait aqueux de la même espèce de la région de Medea, tandis qu'Aljabri (2020) a

rapporté une teneur de (4,32 mg EQ/g MS), plus faible que notre résultat de 5,92 mg EQ/g MS, ce qui dû à la région de récolte malgré les mêmes conditions de préparation de l'extrait.

Selon **Boussahel (2011)**, les flavonoïdes représentent une part importante des polyphénols, ce qui explique les concentrations élevées en composés phénoliques par rapport aux flavonoïdes. Cependant, ces résultats sont en contradiction avec ceux de (**Stephanovits et al., 2007**).

En général, la présence significative de flavonoïdes dans la partie aérienne de la plante *d'E.globulus*, comme observer lors du dosage des polyphénols totaux, indique une teneur de ( $5,165 \pm 1,181$  mg EQ/g MS) dans les feuilles. Nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par (**Chira et al., 2008 ; Pietta, 2000**), qui ont trouvé des teneurs plus faibles ( $1,16 \pm 0,03$  mg EQ/g EB) correspondant à environ 31 % de flavonoïdes totaux. Ces différences peuvent être attribuées à la région de culture de la plante, à la méthode de dosage, à la sensibilité et à la pureté des réactifs utilisés, ainsi qu'à la période de récolte.

En fin de compte, la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols, y compris les flavonoïdes, et leur concentration peuvent être influencées par des conditions climatiques difficiles telles que la température élevée, l'exposition au soleil, la sécheresse et la salinité. La teneur en phénols d'une plante dépend de divers facteurs génétiques et environnementaux, tels que les conditions climatiques, les pratiques agricoles, la maturité au moment de la récolte, les conditions de stockage et le solvant d'extraction (**Falleh, et al. 2008**).

### II.3.3. Dosage des flavonols

La teneur en flavonols pour nos deux extraits d'*Eucalyptus globulus* et celle de *Rosmarinus officinalis* varient de 9,882mg/g MS à 7,222 mg/g MS.

Les résultats montrent, la présence d'une différence non significative ( $P < 0.009$ ) selon la région de récolte (Boussaleh et Khmairia) pour les feuilles.

### II.3.4. Dosage des tanins

Les tanins ont été mesurés en utilisant la méthode de la vanilline en milieu acide. Les résultats obtenus (quantification des tanins condensés) ont été effectuée en appliquant une équation de régression linéaire établie à partir d'une courbe d'étalonnage. L'équation spécifique utilisée dans cette étude était :  $y = 0,0009x - 0,0032$ , la catéchine a été utilisé comme étalon de référence (Annexe III). Le coefficient de détermination ( $R^2$ ) de cette équation s'élevait à

0,9964, démontrant ainsi un ajustement satisfaisant des données à la courbe d'étalonnage. Les teneurs ont été rapportées en mg équivalent de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS).

En ce qui concerne les extraits de différentes parties de la plante *Rosmarinus officinalis*, les résultats obtenus par (Martínez *et al.*, 2007), montrent que la teneur en tanins des tiges est généralement plus élevée que celle des feuilles (55,76 mg EC/g MS), qui sont en plein désaccord avec celles qu'on les obtenus ( $9,665 \pm 0,940$  mg EC/g MS), ce qui dépend probablement à la méthode et le pourcentage d'extraction comme on a déjà cité.

Nos résultats sont loin d'être comparables avec ceux trouvés par (Zeghad *et al.*, 2016), la teneur en tanins des feuilles de romarin était 10,42 mg EC/g MS, et cela dû aux facteurs bioclimatiques et saisonniers.

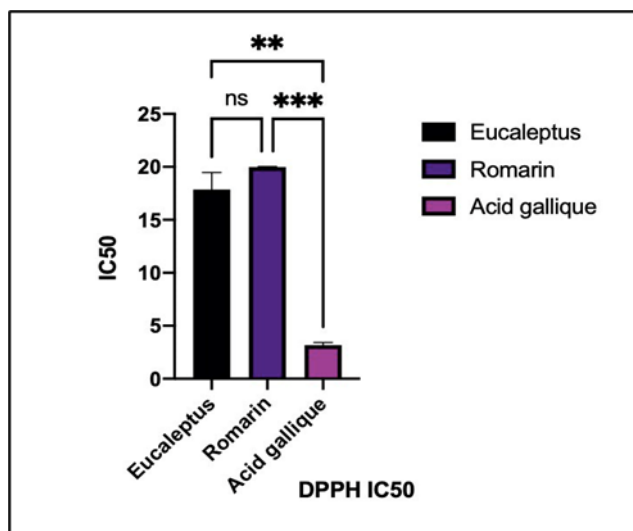
Tandis que pour l'analyse de l'échantillon d'*Eucalyptus globulus* de la région de Bouira (Khmairia), montre que la teneur en tanins ( $9,055 \pm 1,336$  mg EC/g MS) varie selon le type d'extrait et la partie de la plante, l'extrait aqueux des feuilles ont une faible concentration en tannins d'environ 133,77mg EC/g MS (Zrira *et al.*, 1994).

## II.4. Estimation de l'activité antioxydante

### II.4.1. Activité scavenging du radical DPPH

Pour évaluer l'efficacité de nos extraits dans la neutralisation du radical DPPH, nous avons mélangé la solution fraîchement préparée de DPPH avec les extraits de feuilles d'eucalyptus et de romarin respectifs. Après une incubation de 2 heures, nous avons observé un changement de couleur du violet au jaune dans tous les extraits, indiquant ainsi la réduction du DPPH<sup>•</sup> et la capacité de nos extraits à piéger ce radical.

Pour évaluer l'activité antioxydante des extraits d'*E.globulus* et de *R.officinalis* sur le radical DPPH<sup>•</sup>, les valeurs de CI<sub>50</sub> ont été calculé, en utilisant des concentrations différentes du même extrait. Les résultats de l'étude statistique (tukey's test) sont représentés ci-dessous (figure 18).



**Figure 18:** Concentrations inhibitrices de 50% du radical DPPH<sup>•</sup> des extraits de Romarin et d'eucalyptus étudiés.

Les résultats précédents indiquent que l'extrait d'*E.globulus* présente une meilleure capacité antioxydante contre le radical DPPH<sup>•</sup>, avec une concentration inhibitrice de (16,73 ± 1,78 µg/ml). Alors, l'étude statistique montre que celui-ci est significatif que l'acide gallique (p value ; <0.0001), donc ça confirme qu'il inhibe une concentration faible contre le DPPH<sup>•</sup> à celle du standard.

En revanche, l'extrait de *R.officinalis* obtenu par ultrasons montre aussi une forte activité antioxydante avec une concentration inhibitrice plus élevée de (19,92 ± 3,35 µg/ml), à celle d'acide gallique (3,35 ± 1,17 µg/ml), ce qui affirme d'après ces résultats et d'après l'étude statistique que y'a une différence très significative entre eux (p value ; <0.0001).

Il est important de noter que l'IC<sub>50</sub> est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il représente la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire la concentration du radical libre de 50 %. Ainsi, une valeur d'IC<sub>50</sub> plus faible correspond à une activité antioxydante plus élevée, comme mentionné par (Kelebek *et al.*, 2009).

Une étude menée en Algérie par (Si Said *et al.*, 2016) a mis en évidence un pouvoir antiradicalaire de 69,47 % attribuable à la richesse en polyphénols des feuilles d'*E.globulus*, avec un taux de 464,71 mg EGA/gCE. Cependant, les extraits de cette étude ont montré une activité antioxydante supérieure à celle des extraits étudiés, démontrant ainsi que nos résultats sont plus efficaces que les leurs.

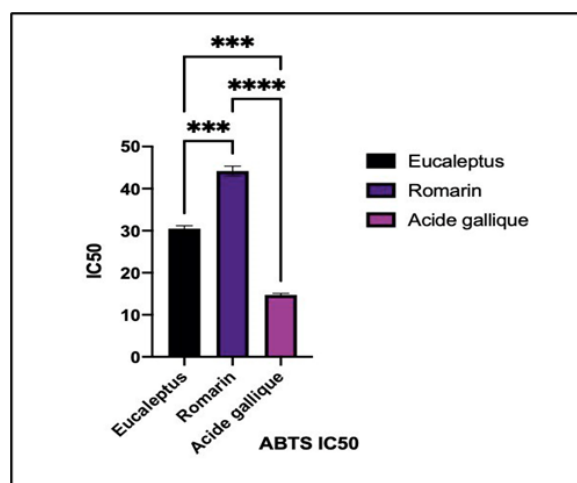
Notre extrait de *R.officinalis* présente la moins grande activité par rapport à l'antioxydant standard, avec une IC<sub>50</sub> de 21,111 µg/ml.

La puissance antioxydante de notre extrait éthanolique surpasse celle rapportée par (Naciye *et al.*, 2008) dans leur étude sur *R.officinalis* L et par (Aneta *et al.*, 2007) avec des IC<sub>50</sub> d'environ 54,0 ± 1,4 µg/ml et 513 ± 5,99 µg/ml respectivement. Cela confirme que notre extrait éthanolique de romarin est le plus efficace par rapport les autres, et cela dû probablement à la richesse de la plante par son extrait éthanolique, ainsi à cause de la région de récolte et la composition de l'extrait.

#### II.4.2. Test du radical ABTS<sup>+</sup>

Les observations de ce test révèlent une décoloration croissante avec l'augmentation des concentrations des extraits, indiquant ainsi une diminution de l'ABTS<sup>+</sup> et mettant en évidence l'effet scavenger de nos extraits sur le radical ABTS<sup>+</sup>.

L'histogramme ci-dessus présente l'évaluation de l'activité scavenger de nos deux extraits, ainsi que celle de l'antioxydant de référence utilisé (acide gallique).



**Figure 19:** Concentrations inhibitrices de 50% du radical ABTS<sup>+</sup> des extraits de Romarin et d'Eucalyptus étudiés.

Les données indiquent que l'extrait de *R.officinalis* présente une capacité antioxydante supérieure vis-à-vis du radical ABTS<sup>+</sup> (17,04 µg/ml) avec une concentration inhibitrice de 45,47 µg/ml pour l'ultrason.

En revanche, l'extrait d'*E.globulus* obtenu par ultrason a montré une meilleure activité antioxydante, avec la concentration inhibitrice la plus basse par rapport à l'autre extrait, mesurée à 30 µg/ml.

Des recherches ont démontré que les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes, jouent un rôle crucial dans l'activité antiradicalaire.

Les travaux de **Floegel et al. (2011)** ont établi une corrélation positive entre la capacité de piégeage du radical cationique ABTS<sup>+</sup> et la quantité de composés phénoliques, ce qui est en plein accord avec nos propres résultats.

Dans notre étude, l'extrait d'*E.globulus* présente une activité antiradicalaire supérieure, attribuée à sa richesse en composés phénoliques, en particulier les flavonols, suivie par le romarin. Ce dernier présente une teneur plus faible en phénols totaux et en flavonols, ce qui se traduit par une activité de piégeage du radical ABTS<sup>+</sup> moins prononcée.

Bien que les polyphénols soient les principaux contributeurs à l'activité antioxydante, il est important de noter que d'autres composés non phénoliques tels que les polysaccharides et les acides aminés (métabolites primaires) peuvent également influencer cette activité.

Les travaux de **Heim et al. (2002)** ont souligné le rôle essentiel des groupes hydroxyles des polyphénols et des flavonoïdes dans leur pouvoir antioxydant.

## II.5. Evaluation de l'activité antibactérienne

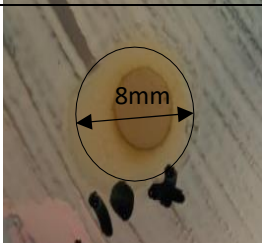
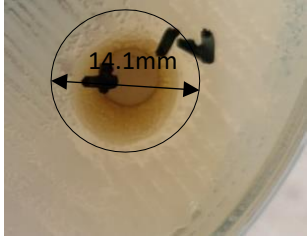
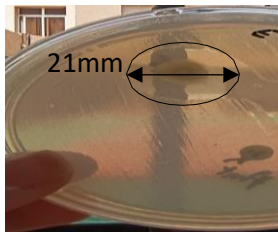
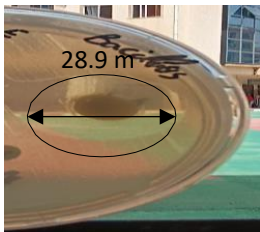

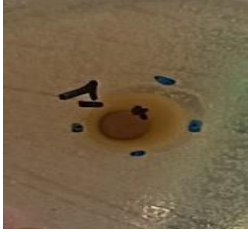
Pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits d'*E.globulus* et *R.officinalis*, la méthode de diffusion sur disque a été étudiée. Cette méthode permet de tester l'efficacité de l'extrait contre différentes souches bactériennes, en l'occurrence, *Klebsiella pneumoniae* (Gram-), *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-), et *Bacillus cereus* 14579 (Gram+).

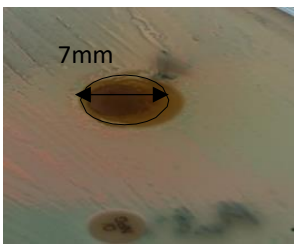
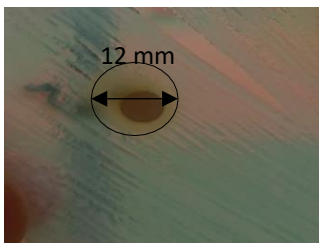
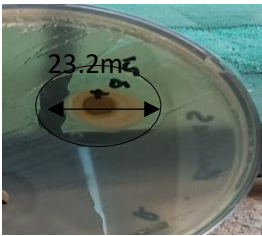
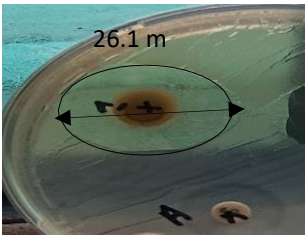
Les résultats de l'étude in vitro sur l'activité antimicrobienne des différents extraits d'*E.globulus* et de *R.officinalis*, obtenus par ultrasons, sont déterminés par la technique de diffusion des disques sur milieu solide (gélose Muller-Hinton). Cette méthode nous permet d'estimer le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits préparés.

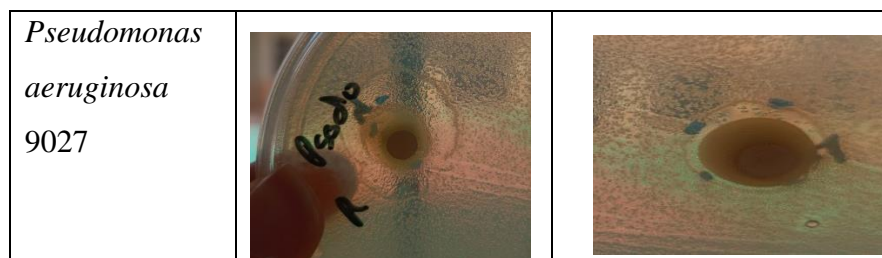
Une échelle a été élaborée pour évaluer l'activité antimicrobienne en classant les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance bactérienne en quatre catégories distinctes. Une extrême sensibilité (+++) est caractérisée par un diamètre dépassant les 20 millimètres. Les bactéries très sensibles (++) montrent des zones d'inhibition comprises entre 15 et 19 millimètres. Pour celles qui sont sensibles (+), les diamètres varient de 8 à 14 millimètres. Enfin, les bactéries peu sensibles (-) présentent des zones d'inhibition inférieures à 8 millimètres (**Ponce., et al. 2003**).



**Tableau 4** : Diamètres des zones d'inhibition des éthanoliques d *E.globulus* et *R.officinalis*

	<i>E.globulus</i>	
Concentration	50ul	100ul
<i>Klebsiella</i> .sp		
<i>Bacillus cereus</i> 14579		
<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> 9027		

	<i>R.officinalis</i>	
Concentration	50ul	100ul
<i>Klebsiella</i> .sp		
<i>Bacillus cereus</i> 14579		



**Tableau 5 :** Résultats de résistance et / ou sensibilité des extraits de *R.officinalis* et *E.globulus*.

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)						
Concentration d'extrait	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 9027		<i>Bacillus cereus</i> 14579		<i>Klebsiella .sp</i>	
<i>Eucalyptus globulus</i>						
100 mg/ml	14mm	+	28.9mm	+++	14.1mm	+
50 mg/ml	13mm	+	21mm	+++	8mm	+
<i>Rosmarinus officinalis</i>						
100 mg/ml	13mm	+	26.1mm	+++	12mm	+
50 mg/ml	11mm	+	23.2mm	+++	7mm	+

En comparant nos valeurs à celles publiées par **Balčiūnaitienė et al. (2022)** et **Sukhikh et al. (2022)**, nous observons une activité antibactérienne modérée de l'extrait éthanolique des feuilles d'*E.globulus* sur *Pseudomonas aeruginosa*, avec des zones inhibitrices de 13,8 mm et 14 mm respectivement, ce qui est proche de nos résultats. En revanche, les résultats obtenus sur la même espèce (*Pseudomonas aeruginosa*) par **Karouche et al. (2021)** ont montré que l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis* possèdent un faible effet, avec des zones inhibitrices de  $6,7 \pm 0,29$  mm et aucune zone d'inhibition respectivement, ce qui est inférieur à nos résultats.

L'étude d'**Edrah et al. (2020)**, révèle une activité antibactérienne modérée sur *Klebsiella pneumoniae* avec des zones inhibitrices de 12 mm pour l'extrait éthanolique d'*E.globulus*, ce qui est inférieur à nos résultats. L'étude menée par **Athamena et al. (2016)** a montré que l'extrait hydro-méthanolique (EBr) de *R.officinalis* possède un faible effet sur *K. pneumoniae* avec un diamètre de  $7,67 \pm 0,58$  mm, ce qui est également supérieure à nos résultats.

Selon les résultats de l'étude menée par **Abirami et al. (2017)** sur l'activité antibactérienne des extraits éthanolique de feuilles d'*Eucalyptus globulus* contre *Bacillus cereus*, l'extrait a montré une activité très élevée sur la souche testée avec un diamètre de 20 mm, ce qui est inférieur à nos résultats. Comme l'a montré l'étude menée par **Amaral et al. (2019)**, l'effet inhibiteur de l'extrait de *R. officinalis* sur *Bacillus cereus* est le plus puissant, avec une zone d'inhibition de 30 mm, ce qui est supérieur à nos résultats.

Les extraits de *R. officinalis* et celles d'*E. globulus* ont démontré une activité significative sur les bactéries Gram positives par rapport aux bactéries Gram négatives, en raison des différences structurales de leurs membranes externes (**Sarr et al., 2015**), les parois cellulaires des bactéries à Gram positif, par rapport aux bactéries à Gram négatif, sont plus sensibles à de nombreux anti-biotiques, composés chimiques antimicrobiens (**Kittika et al., 2007**).

La paroi cellulaire des bactéries Gram-positives est caractérisée par une épaisse couche de peptidoglycane enrichie de structures polysaccharidiques, ce qui facilite l'entrée des composés bioactifs. En revanche, les bactéries Gram-négatives (Gram-) ont une mince couche de peptidoglycane, renforcée par une membrane externe. Cette membrane externe limite l'espace périplasmique et confère une résistance relative aux agents antibactériens, rendant ces bactéries généralement plus résistantes aux traitements antibiotiques (**Padalia et al., 2017 ; Prescott et al., 2003**).

Les bactéries Gram positives sont sensibles aux variations de l'environnement externe, comme la température, le pH et les extraits naturels. Et en particulier l'absence de la membrane externe qui la rend particulièrement vulnérable (**Athamena et al., 2016**).

# *Conclusion*

### Conclusion

L'examen approfondi de la littérature a mis en lumière le fait que l'espèce eucalyptus est une source importante de nombreux produits chimiques aux propriétés pharmacologiques et médicinales significatives, tels que les huiles essentielles et les terpenoïdes utilisés en aromathérapie. De même, le romarin, une plante aromatique sauvage abondante dans notre région et dans le bassin méditerranéen, possède également une variété de propriétés thérapeutiques.

Notre investigation est portée sur l'étude de la phytochimie, le dosage des antioxydants présents dans les deux plantes sélectionnées et l'évaluation de leurs activités antimicrobienne et antioxydantes par le biais de trois méthodes DPPH, ABTS et la méthode de diffusion sur disque.

Les parties aériennes de deux plantes ont été traitées par ultrasons dans de l'éthanol pour extraire les métabolites secondaires.

L'analyse phytochimique qualitative menée sur les extraits de romarin et l'eucalyptus a révélé que ces deux plantes sont riches en métabolites secondaires de différentes classes tels que les flavonoïdes, les tanins et les terpènes. Ces composants pourraient contribuer aux propriétés thérapeutiques de ces plantes.

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos échantillons par la méthode de réduction du radical libre DPPH et ABTS a montré que ces extraits présentaient un pouvoir antioxydant très puissant.

Selon la littérature, l'activité antimicrobienne a été très importante aussi en termes d'inhibition de différentes souches utilisées y compris les souches les plus pathogènes tels que *Klebsiella.sp* et *Pseudomonas aeruginosa*.

A travers les résultats obtenus, les extraits de *R. officinalis* et celles d'*E. globulus* présentent des potentiels médicaux remarquables justifiant l'usage traditionnel de ces deux dans le traitement de certaines maladies (diarrhées, affections pulmonaires), ainsi même un potentiel alimentaire pour la conservation des aliments par exemple.

Étant donné la richesse de la biodiversité de notre pays, chaque plante possède un vaste éventail de métabolites secondaires aux propriétés thérapeutiques et pharmacologiques uniques

qui méritent d'être explorés par la recherche. Dans cette optique, plusieurs perspectives sont envisagées :

-Identifier de nouveaux composés bioactifs naturels pouvant servir de remèdes pour divers problèmes de santé et constituer une alternative aux médicaments synthétiques à l'avenir.

- Développer des médicaments à base de plantes dotés d'activités antibactériennes et antiradicalaires, mettant en avant leur activité antioxydante.
- Tester d'autres extraits de plantes obtenus avec différents solvants de polarités variées (comme l'éther diéthylique, le méthanol, l'eau, etc.) contre les radicaux libres DPPH- et ABTS+ pour évaluer leur pouvoir antioxydant.
- Orienter les recherches scientifiques vers des études approfondies sur les composants biochimiques des plantes, leurs structures, et la détermination de leurs diverses activités biologiques in vitro et in vivo, pris individuellement.

# **Annexes**

<b>Annexe I: Matériel non biologique</b>
--

**Appareillage****Verreries et autres****Produits chimiques et réactifs**

- Autoclave	- Flacons	- Eau distillée
- Balance	- Béchers	- Eau physiologie
- Pied à coulisse	- Erlenmeyers	- Ethanol
- Bec Bunsen	- Eprouvette	- Folin – Ciocalteu (0.1N)
- Etuve d'incubation	- Entonnoires	- Persulfate de potassium (K <sub>2</sub> O <sub>8</sub> S <sub>2</sub> )
- Réfrigérateur	- Boîtes pétries	- Hydroxyde de sodium (NaOH) à 1%
- Moulin à café	- Filtre à Seringue	- Acide gallique
- Plaque chauffant / agitatrice	- Seringue	- Acide ascorbique
- Bain marie	- Micro-tubes Eppendorf	- Trichlorure d'aluminium (AlCl <sub>3</sub> )
- Spectrophotomètre	- Tubes coniques	- DPPH (diphényl 1-picrylhydrazyle)
- Bain ultrasons	- Tube à essai	- ABTS <sup>•+</sup> (Acide 2,2'-azino-bis (acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique))
	- Ecouvillon	- Catéchine
	- Pince	- Milieu Muller Hinton Agar
		- Gélose Nutritive
		- DMSO (Diméthylsulfoxyde)
		- Quercetine
		- Acétate de sodium (C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NaO <sub>2</sub> )
		- d'acide chlorhydrique (HCl)
		- Chlorure ferrique (FeCl <sub>3</sub> ) à 1%
		- Acide sulfurique concentré
		- Vanilline





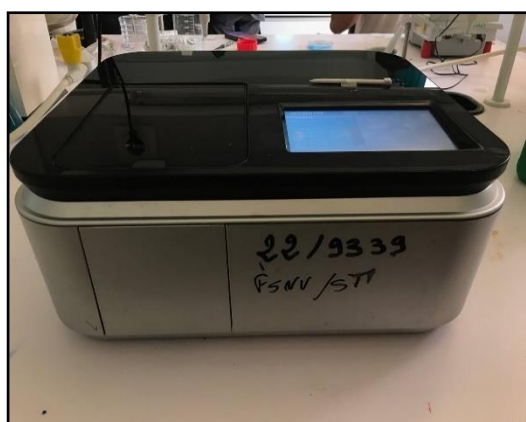
**Figure : Centrifugeuse**



**Figure : Balance de précision**



**Figure : Bain à ultrasons**



**Figure : Spectrophotomètre UV/Vis.**



**Figure : Etuve de séchage microbologique.**



**Figure : Autoclave**

**Annexe II** : Préparation des solutions

**Solution de l'acide gallique** : Dissoudre 1 mg d'acide gallique dans un volume de 1ml d'éthanol à 99.9%.

**Solution de Folin-Ciocalteu à 0.1N** : Ajouter 1ml du réactif Folin-Ciocalteu dans 9ml d'eau distillée.

**Solution de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) à 1%** : Ajouter 1 ml solution de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) dans 9ml d'eau distillée.

**Solution de Carbonate de sodium à 7.5g/l** : Dissoudre 7.5g de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dans 100 ml de l'eau distillée.

**Solution de vanilline à 4%** : Dissoudre 4g de vanilline dans 100 ml de l'eau distillée.

**Solution de Quercétine** : Dissoudre 1 mg de quercétine dans 1ml d'éthanol pure.

**Solution de Trichlorure d'aluminium à 2%** : Dissoudre 2g d'AlCl<sub>3</sub> dans 100 ml de l'eau distillée.

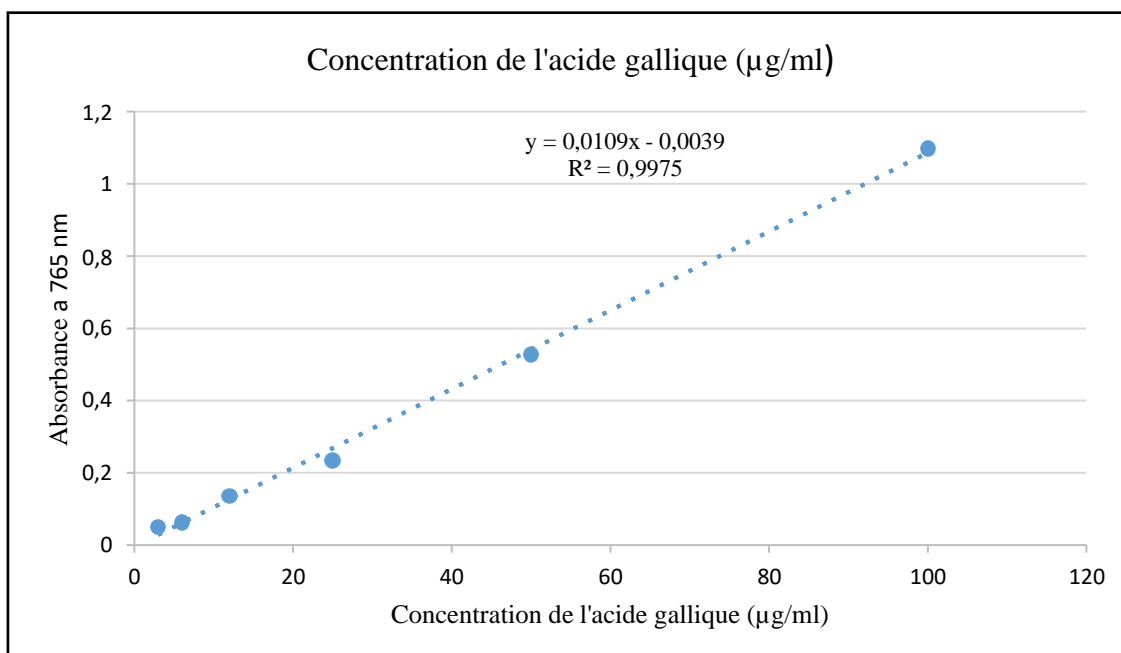
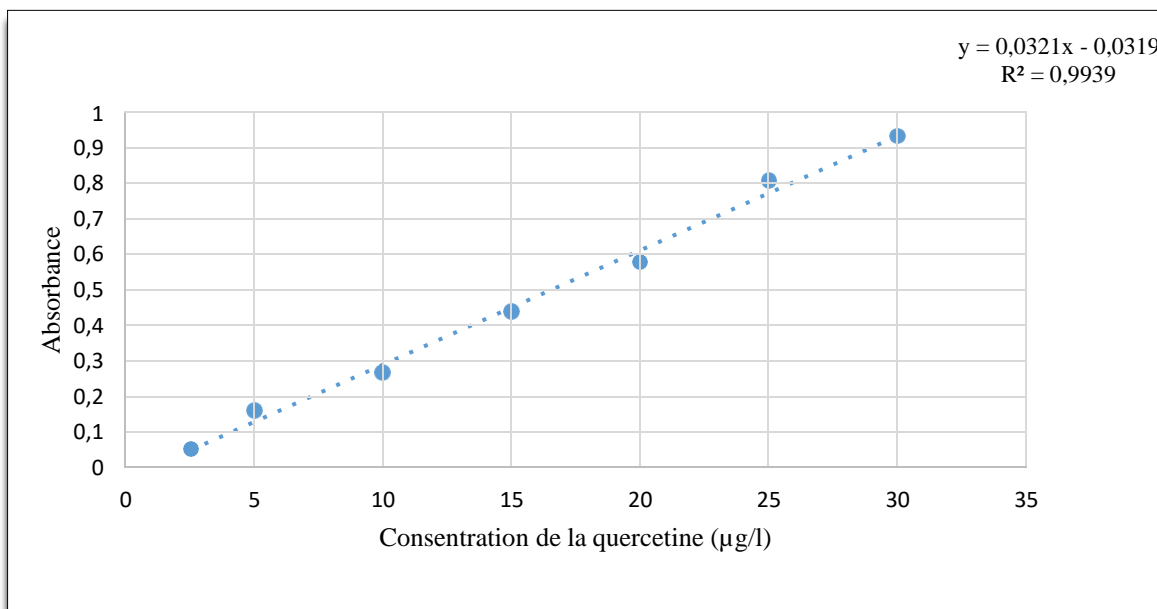
**Solution d'acétate de sodium (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>) à 5%** : Dissoudre 5g d'acétate de sodium dans 100ml de l'eau distillée

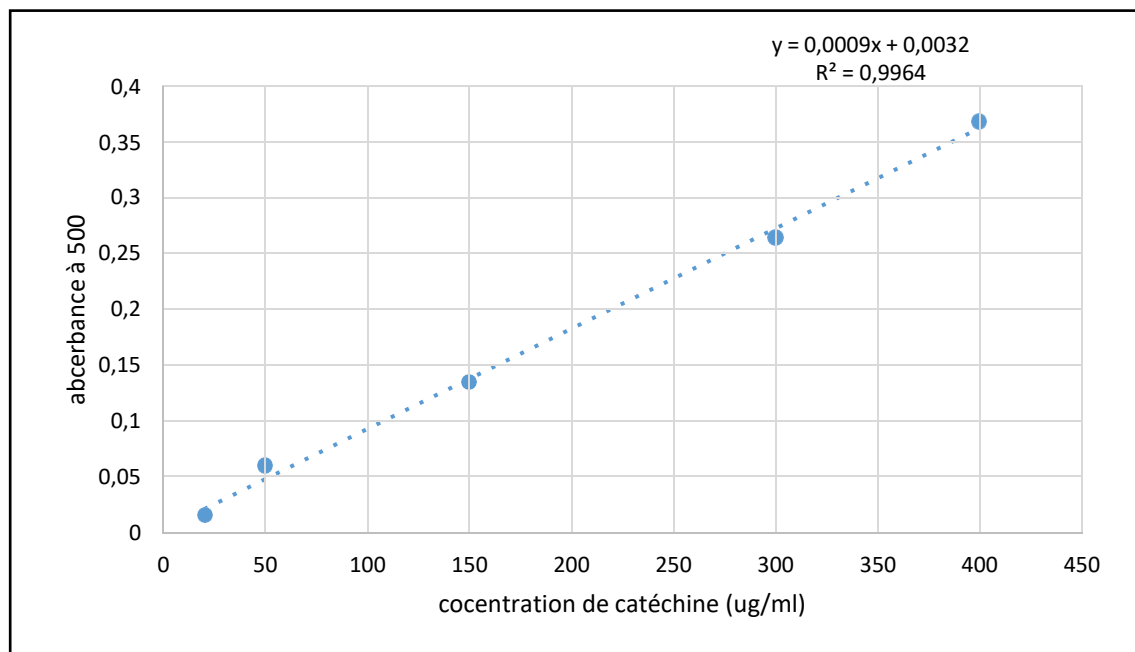
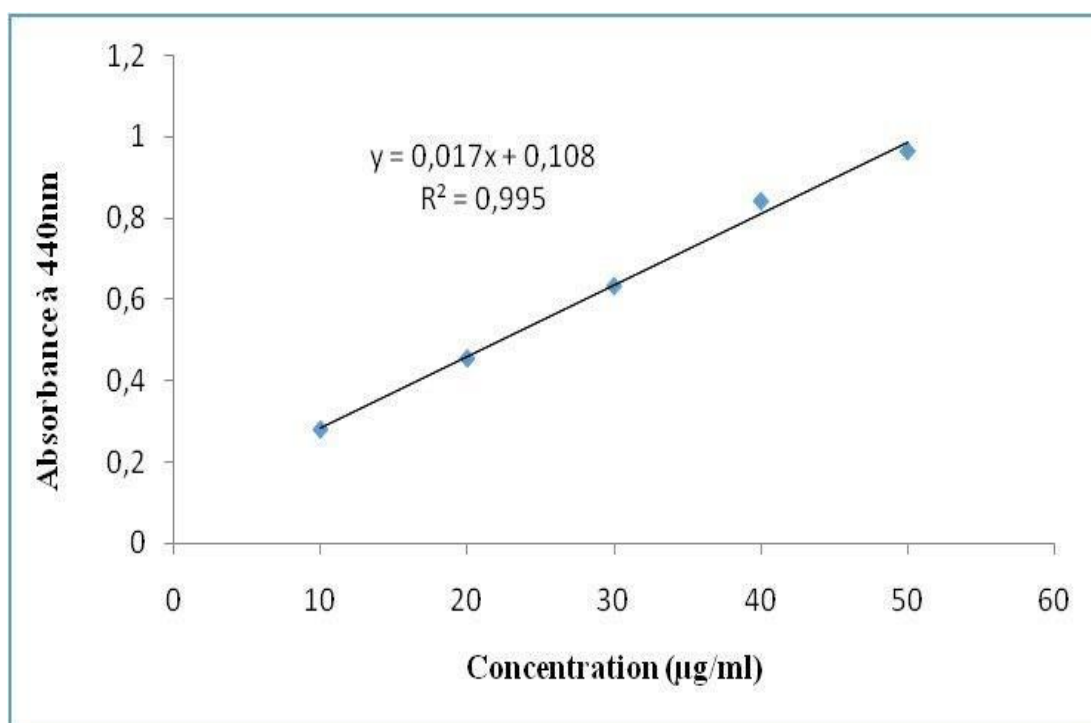
**Solution de catéchine** : Dissoudre 1 mg de catéchine dans un volume de 1ml d'éthanol à 99.9%.

**Solution de DPPH** : Mélanger dans un flacon 2.4mg de DPPH avec 100 ml d'éthanol. Le mélange est maintenu sous agitation continue pendant 30 min après enrobage par le papier aluminium.

**Solution radical ABTS<sup>•+</sup>** : Mélanger une solution de 7 mM d'ABTS (36mg ABTS en poudre + 10ml eau distillée) avec une solution de 2,5 mM du persulfate de potassium (K<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>) (6,6mg du persulfate + 10ml eau distillée).

La solution ABTS<sup>•+</sup> a ensuite été stockée à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 16 heures, puis diluée avec de l'eau distillée pour obtenir une DO de 0,700 ± 0,02 à 734 nm.

**Annexe III****1** : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols.**2** : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.

**3. Courbe d'étalonnage pour le dosage tanins.****4: Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonols.**

### **Annexe IV** : Préparation des milieux de culture.

**Les milieux de cultures** : servent de support pour la croissance de micro-organismes (bactéries, levures et moisissures) en leur apportant les éléments essentiels à leur bon développement.

Au cours de notre étude, les différents milieux de culture utilisés sont les suivants :

- A. La gélose nutritive** : est un milieu à usage général adapté à la culture d'une grande variété de micro-organismes non exigeants. Ce milieu nutritif, de composition relativement simplifiée, est utilisé pour repiquer des organismes à des fins d'entretien ou pour vérifier la pureté des repiquages.

#### **PREPARATION**

- Dissoudre 28 grammes dans 1 litre d'eau distillée.
- Chauffer sous agitation fréquente et laisser bouillir 1 minute pour dissoudre complètement la Suspension.
- Répartir en flacons.
- Autoclaver 15 minutes à 121°C.

- B. La gélose Müller-Hinton**: Il s'agit d'un environnement de développement microbologique fréquemment employé pour évaluer la sensibilité aux antibiotiques.

#### **PREPARATION**

- Dissoudre 38 grammes dans 1 litre d'eau distillée.
- Chauffer sous agitation fréquente et laisser bouillir 1 minute pour dissoudre complètement la suspension.
- Répartir en flacons.
- Autoclaver 15 minutes à 121°C.

**Annexe V** : Souches bactériennes cibles.

<b>Souche cible</b>		<b>ATCC</b>
<b>S1</b>	<i>Klebsiella.</i> sp	Souche de laboratoire
<b>S2</b>	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	9027
<b>S3</b>	<i>Bacillus cereus</i>	14579

*Références*

*Bibliographiques*

## Références Bibliographiques

---

- Abdullah-M, A.B., Céspedes-Valcarcel, A.J., Maurizio, A., Layla, A., Myat-Kyaw U. A., Sassan, B., Ivo, B., Gordon, B., Anna, C., Carmelita, C., Vittorio, C., Swee-Seng, C., Anchalee, Ch., Dairine, D., Alessandro, D., Daniela, G. (2003). Guidelines on Developing Consumer Information on Proper Use of Traditional, Complementary and Alternative Medicine. Italy: World Health Organization, 24-27.
- Agrimer, F. (1996). Les plantes aromatiques : Garante Quarté supérieur label rouge, 5.
- Aljabri, M. (2020). Composition and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract. Eurasian Journal of Biosciences, 14(1): 2182.
- Ali, N., Ghayour, A., Syed Wadood, A.S., Ismail, S., Mehreen, G., Imran, K. (2011). Acute toxicity, brine shrimp cytotoxicity and relaxant activity of fruits of *Callistemon citrinus* Curtis. BMC Complementary and Alternative Medicine, 11(1), 99.
- Alignan, M. (2006). Thèse de doctorat : Phoma du Tournesol : déterminisme de la tolérance de l'hôte à la maladie, Toulouse.
- Amakura, Y., Umino, Y., Tsuji, S., Ito, H., Hatano, T., Yoshida, T., Tonogai, Y. (2002). Constituents and their antioxidative effects in eucalyptus leaf extract used as a natural food additive. Food Chemistry, 77: 47.
- Andjelkovic, M., John-Van, C., Bruno-De, M., Griet, D., Carmen, S., Marc, V., Roland, V. (2006). Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. Food Chemistry, 98: 23–31.
- Aneta, W., Jan, O., Renata, C. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. Poland: Food Chemistry, 105: 942.
- Ang-Lee, M.K., Moss, J., Yuan, C.S. (2001). Herbal medicine and perioperative Care: The Journal of the American Medical Association, 286: 208.
- Aboughe, A.S., Eric, Nguema-O., Azeddine, D. (2010). La thérapie par les plantes en Afrique : activités immunostimulantes des polysaccharides de la paroi végétale. France : Springer-Verlag, Pharmacognosie, 8 : 224.
- Alam, Md. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, Md. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal, 21(2), 143-152.
- Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., Mesbah, S. (2018). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa atropurpurea* sub. *maritima* L. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 13-21.
- Antoinette, M. (2005). Secrets d'une herboriste : Ed. Davphiu, 460-462.
- Asia, B., Sandhya, S., Syed-Shaff, A.A., Vinod, R., Swapna, R., David, B. (2013). An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). India: Acta Sci. Pol., Technol. Aliment, 12(1) : 61-62.



## Références Bibliographiques

---

- Athamena, S., Laroui, S., & Athamena, M. (2016.). Phenolic composition, antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis*.
- Atmani-Merabet, G., Abdelmalik, B., Abdeslam-Dems, M., Abdeldjallil, L., Zakaria, K., Bouzid, M., Mohamed-Abdesselem, D. (2018a). Chemical Composition, Toxicity, and Acaricidal Activity of *Eucalyptus Globulus* Essential Oil from Algeria. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 31(2), 89-93.
- Atmani-Merabet, G., Abdelmalik, B., Abdeslam-Dems, M., Abdeldjallil, L., Zakaria, K., Bouzid, M., Mohamed-Abdesselem, D. (2018b). Chemical Composition, Toxicity, and Acaricidal Activity of *Eucalyptus Globulus* Essential Oil from Algeria. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 31(2), 89-93.
- Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89: 27.
- Aybastier, O., Işık, E., Şahin, S., Demir, C. (2013). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant compounds from blackberry leaves using response surface methodology. *Ind. Crop. Prod.* 44, 558–565.
- Bachir, R.G., Benali, M. (2012). Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Asian Pac. J. Trop: Med*, 2: 739–742.
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J.C., Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung.* 46(11):1086).
- Bakkali, A., Amal, E.A., Zantar, S. (2018). Étude de la composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis* et évaluation de son effet acaricide sur l'acarien ravageur *Tetranychus Urticae koch* (Acari, Tetranychidae). *Maroc : Afrique SCIENCE*, 14(3) : 411-412.
- Balentine, C.W., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Duong, D.Q., Pohlman, F.W. (2006). The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science.* 73 : 413-421.
- Bardeau, F. (1998). *La médecine par les fleurs*. France: 1978.
- Barni, M. V., Carlini, M.J., Cafferata, E.G., Puricelli, L., Moreno, S. (2012). Carnosic acid inhibits the proliferation and migration capacity of human colorectal cancer cells. *Argentina : Oncology reports*, 27 : 1041.
- Baron-Chaufaille N. (1985). *Propriétés diététiques et thérapeutiques du miel. Mythe et réalité*. Thèse de doctorat, Nantes.
- Batish, D.R., Singh, H.P., Ravinder, K., Shalinder, K. (2008). *Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide, *Forest. Ecol. Manag.*, 256: 2166-2174.

## Références Bibliographiques

---

- Beatriz, G., Patricia, G., Thelmo, A., Lú, C, Maria, T.M., Juan, M., Lemaa, Gemma, E. Optimization of solvent extraction of antioxidants from *Eucalyptus globulus* leaves by response surface methodology: Characterization and assessment of their bioactive properties. *Industrial Crops & Products*, 108 : 652–656.
- Belbachir, KH.A. (2019) Etude phytochimique et l'Activité Antioxydante de la plante *Eucalyptus camaldulensis*, Mémoire de Master, Université de Ain Temouchent.
- Bencheikh, D., Gueddah, A., Soualat, K., Ben-aissi, H., Benslama, A., Harrar, A., & Khennouf, S. (s. d.). Polyphenolic contents, antioxidant and antibacterial activities of aqueous extracts.
- Benini, C. (2007). Contribution à l'étude de la diversification de la production des huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'Ingéniorat. Université Gembloux.
- Besombes, C. (2008). Thèse doctorat : Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermo-mécanique d'herbes aromatiques, 130.
- Biljana Bauer, P. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Macedonia: Pharmacognosy Review*, 6(11) : 1-3.
- BILJANA, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Jovin, E. (2007). Antimicrobial and Antioxidant Properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) Essential Oils. *Serbia: J. Agric. Food Chem*, 55: 7879-7880.
- Bogavac, M., Kristina, T.C.A., Jovana, M., Mirjana, J., Maja, K. (2019). Antimicrobial activity and toxicity of *Eucalyptus globulus* Labill. Essential oil against vaginal microorganisms. *Trends Phytochem: Res*, 3: 201.
- Bouakaz, I. (2006). Mémoire de magister : Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Batna.
- Boukhalfoun, L. (2012). Extraction des coposés actifs chez *Eucalyptus globulus*. Thèse de doctorat, Université Saad Dahleb de Blida. Algérie.
- Boulekbache-Makhlouf, L., Emmanuelle, M., Mohamed, C., Jean-Paul, M., Sakina, S., Max, H., Veronique, k., Khodir, M. (2010). Analysis by High-Performance Liquid Chromatography Diode Array Detection Mass Spectrometry of Phenolic Compounds in Fruit of *Eucalyptus globulus* Cultivated in Algeria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(24), 12615-12624.
- Boulekbache-Makhlouf, L.; Sakina, S., Khodir, M. (2013). Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. *Ind : Crops Prod*, 41 : 85–89.
- Boussahel, S. (2011). Étude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif. Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbes, Sétif, 74.
- Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., & Dakka, N. (2017). Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*. *Phytothérapie*, 15(6), 379-383.

## Références Bibliographiques

---

- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. 3<sup>ème</sup> édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris, p.1120.
- Catherine, U., Tracee, R.A., Ashley, B., James, C., Jessica, C., Whitney, C., Catherine, K., Nicole, G., Kevin, H., Ramon, I., Richard, I., Erica, R., Grimes-Serrano, J.M., Minney, V., Wendy, W., Windsor, R.C. (2010). An Evidence-Based Systematic Review of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) by the Natural Standard Research Collaboration. USA: Informa Healthcare, 7(4): 351-354.
- Chandorkar, N., Srushti, T., Purnima, A., Chandu, M. (2021a). A systematic and comprehensive review on current understanding of the pharmacological actions, molecular mechanisms, and clinical implications of the genus *Eucalyptus*. *Phytomedicine Plus*, 1(4), 100089.
- Chandorkar, N., Srushti, T., Purnima, A., Chandu, M. (2021b). A systematic and comprehensive review on current understanding of the pharmacological actions, molecular mechanisms, and clinical implications of the genus *Eucalyptus*. *Phytomedicine Plus*, 1(4), 100089.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. & Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Analysis*, 10, 178-182.
- Chira, K., Suh, H., Teissède, L., (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6 :75-82.
- Chvátalová K., Iva, S., Lenka, B., Jiří, S. (2008). Influence of dietary phenolic acids on redox status of iron: Ferrous iron autoxidation and ferric iron reduction. *Food Chemistry*, 106(2): 650-660.
- Claire, H. (2018). Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, antihépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Metz: HAL. Open science, 8-9.
- Clifford, M.N. (1999). Appendix. A nomenclature for phenols with special reference to tea. *Washington*, 41(5): 393-397.
- Daniel-Waweru, G., Mitchel-Otieno, O., Stephen-Gitahi, K., James-Mucunu, M., Peter-Karuri, G., Peter-Mbaabu, M., Joseph-Mwanzia, N. (2020). Traditional medicine in Kenya: Past and current status, challenges, and the way forward. *Kenya: Scientific African*, 8: 2.
- Daoud, N., Scherazed, M., Safia, B., Leila, K.A. (2022). Apport des plantes médicinales et mellifères a la diversité floristique de la région de messaad (ALGÉRIE), *Revue Agrobiologia*, 12(1) : 2905-2906.
- Dey, B., Mitra, A. (2013). Chemo-profiling of *Eucalyptus* and study of its hypoglycemic potential. *World Journal of Diabetes*, 4(5): 170-176.
- Dif, M. M., Benchiha, H., Mehdadi, Z., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., & Bouterfas, K. (2015). Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L. *Phytothérapie*, 13(5), 314-319.
- Djemai-zoughlache, S. (2009), Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphuslotus* L, mémoire de fin d'étude option biochimie appliquée, université Elhadjklakher-BATNA, 56.

## Références Bibliographiques

---

- Dolatowski, Z. J., Stadnik, J., Stasiak, D. (2007). Applications of ultrasound in food technology.
- Dzah, C. S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C., Zhang, J., Chen, G., Ma, H. (2020). The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. *Food Bioscience*, 35, 100547.
- Elbalola, A.A., Abbas, Z. K. (2024). Chemotaxonomy, antibacterial and antioxidant activities of selected aromatic plants from Tabuk region-KSA. *Heliyon*, 10(1), e23641.
- Erkan, N., Ayranci, G., Ayranci, E., (2008). Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, Rosmarinic acid and sesamol. *Food Chem*, 110: 76.
- Escandar G.M., Sala, L. (1991). Complexing behavior of rutin and quercetin. *Canadian Journal of Chemistry*, 69(12) : 1994-2001.
- Fadili K., Amalich F., Soro K., dedianhoua N., Bouachrine M, Mahjoub M., El Hilali F., Zair H. 2015. Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc : *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides*.
- Faiza, B., Sabah, B., Edoardo, N., Amel, B., Righi, N., Amirouche, D., Abderrahmane, B., Giuseppe, R. (2018). Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils from Two Wild Algerian Medicinal Plants: *Mentha pulegium* L. and *Lavandula stoechas* L. *TEOP*, 21 (3): 821).
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Pharmacology, toxicology, C. R. Biologies*, 331: 372-379.
- Fatima Zohra, B. (2015). Mémoire master : Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L, Biskra.
- Floegel, A., Kim, D.O., Chung, S.J., Koo, S.I., Chun, O.K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J Food Comp Anal*, 24: 1043-1048.
- Galan, D. M., Ezeudu, N.E., Garcia, J., Geronimo, C.A., Berry, N.M., Malcolm, B. (2020). Eucalyptol (1,8-cineole): An underutilized ally in respiratory disorders? *Journal of Essential Oil Research*, 32(2), 103-110.
- Geethaa, S., Thavamany, P., Chiew, S., Thong, O. (2013). Interference from ordinarily used solvents in the outcomes of *Artemia salina* lethality test. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 4(4), 179.
- Ghedira, K., Goetz, P., Le Jeune, R. (2008). *Eucalyptus globulus* Labill. *Phytothérapie*, 6(3), 197-200.
- Gibbs, C.R. (1976). Characterization and application of ferrozine iron reagent as a ferrous iron indicator. *Analytical Chemistry*, 48(8) : 1197-1201.

- Girre, L. (2006). Les plantes et les médicaments. Ed : Delachaux et Niestlé, 143-144.
- Goetz, P., Kamel, G. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse. Springer-Verlag. Paris, France.
- Goldbeck, J.C.; Edmilson do Nascimento, J., Jacob, R., MARIA-Fiorentini, F., P da Silva,W. (2014). Bioactivity of essential oils from *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus urograndis* against planktonic cells and biofilms of *Streptococcus mutans*. *Ind. Crops Prod.* 60: 304–309.
- González-Trujano M. E., Peña E.I., Martínez A. L., Moreno J., Guevara-Fefer P., Déciga-Campos M. (2007). Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J. Ethnopharmacol.* 111 : 476–482.
- Grunwald, J., Christof, J., Sabine,B. (2006). Guide de la phytothérapie. France : Edit Marabout, 415.
- Gueddah, A., soualat, K. (2019). Mémoire Master Activité antioxydante et antibactérienne D'*Eucalyptus globulus*.
- Guesmi, F., Saida, M., Chafiqua, B., Abd El Malek, B., Othmane, M., Zahr-Eddine, D. (2022). Influence des techniques culturales sur l'expression végétative de *Rosmarinus officinalis* : caractérisation des huiles essentielles et étude de l'activité anti vectorielle. *Revue Agrobiologia*, 12(2) : 3255).
- Habibou, H. H., Idrissa, M., Khalid, I., Benjamin, O., & Rabani, A. (2019). Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Différents Organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. *European Scientific Journal ESJ*, 15(12).
- Haddouchi, F., Zerhouni, K., Sidi-Yekhelef, A., & Chaouche, T. M. (2016). Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre*: Evaluation of antimicrobial activity of different extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 152-159.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationship; *J Nutr Biochem*, 13: 572-584.
- Hossain, M.B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A.B., Brunton, N.P. (2011). Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram (*Origanum majorana* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) using response surface methodology. *Food Chemistry*, 126: 341.
- Ho, S.C., Tsai, T.H., Tsai, P.J., LIN, C.C., (2008). Protective capacities of certain spices against peroxynitrite-mediated biomolecular damage. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 920-926.
- Huaquan, G., Wenbin, L., Beihua, Bao., Yudan, Cao., Fangfang, C., Sheng, Y., Qiaoling, F., Li, Z., Qinan, W., Mingqiu Shan/. (2022). A Comprehensive Review of Rosmarinic Acid: From Phytochemistry to Pharmacology and Its New Insight. *China: Molecules*, 27: 1-2.
- Hu, C.J., Gao, Y., Liu, Y., Zheng, X.Q., Ye, J.H., Liang, Y.R., *et al.* (2016). Studies on the mechanism of efficient extraction of tea components by aqueous ethanol. *Food Chem*, 194: 312-8.

## Références Bibliographiques

---

- Ertan, E., Özlem-Aras, A. (2020). Studies on Antimicrobial, Antifungal and Antioxidant Properties of Rosemary: A Review. Turkey: Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 8(12): 2708-2715.
- Ikawati, Z., Wahyuono, S., Maeyama, K. (2001). Screening of several Indonesian medicinal plants for their inhibitory effect on histamine release from RBL-2H3 cells. Journal of Ethnopharmacology, 75 : 249-252.
- Iserin P. (2001). Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed. Larousse, pp10, 335.
- Jamshidi-Kia, F., Zahra, L., Amini-Khoei, H. (2018). Medicinal plants: Past history and future perspective. Iran : J Herbmed Pharmacol, 7(1) : 1-2.
- Jean, B. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition. Edition Tec & Doc, Lavoisier.
- Jean-Jacques, M. (1996). Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle ? Acta Botanica Gallica, 143(6) : 473-479.
- Jean-Jacques, M., Annie, F., Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Italie : Presses polytechniques et universitaires romandes.
- Johar, S., Irfan, S., Ahmed, S.S., Jabeen, R. 2015. Phytochemical screening and antibacterial activity of Rosmarinus officinalis L. against Escherichia coli. Local isolates. International Journal of Basic and Applied Sciences, 4 (4): 413-421.
- Juergens, U.R., Stöber, M., Vetter, H. (1998). Inhibition of cytokine production and arachidonic acid metabolism by eucalyptol (1,8-cineole) in human blood monocytes in vitro. European Journal of Medical Research, 3: 508-510.
- Kanti, B.P., Rizvi, S.I. (2009). Pandey Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease: Oxidative Medecine and Cellular Longevity, 2 (5): 270-278.
- Kelebek, H., Selli, S., Canbas, A., Cabaroglu, T. (2009). HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish. Cv. Microchemical Journal, 91: 187–192.
- Kishan, G.R., Merillon, J.M. (2008). Bioactive Molecules and Medicinal Plants. Berlin Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Kittika, N., Natta, L., Orapian, K. (2007). Effet antibactérien de cinq huiles essentielles de Zingiberaceae. Molécules. 12,8 : 2047-2060.
- Ksouri, R., Falleh, H., Megdiche, W., Trabelsi, N., Mhamdi, B., Chaieb, K., Bakrouf, A., Magné, C., Abdelly, C. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte Tamarix gallica L. and related polyphenolic constituents. Food and Chemical Toxicology, 47(8), 2083-2091.

- Liu, X., Xin-jian, Z., Yu-jie, F., Yuan-gang, Z., Nan, W., Lu, L., Thomas, E. (2011). Cajanol inhibits the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by acting on membrane and DNA damage. *Plant Medica*. 2011; 77(2): 158-163.
- Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F. Tian, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chimestry*, 102, 771-776.
- Loto, C.A. (2011). Inhibition effect of tea extract on the corrosion of mild steel in dilute sulphuric acid, 2 (4): 335-344.
- Lugasi. A., Judit, H., Katalin, V.S, Lajos, B. (2003). The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. *Acta. Biol. Szegedientis*, 1(4): 119-125.
- Luis, A., Duarte, N., Helena, P., Jorge, G., Fernanda, D., Ana, P. (2014). Stumps of *Eucalyptus globulus* as a source of antioxidant and antimicrobial polyphenols: *Molecules*, 19: 16428.
- Luís, Â., Neiva, D., Pereira, H., Gominho, J., Domingues, F., Duarte, A. (2014). Stumps of *Eucalyptus globulus* as a Source of Antioxidant and Antimicrobial Polyphenols. *Molecules*, 19(10), 16428-16446.
- Luís, Â., Duarte, A., Gominho, J., Domingues, F., Duarte, A. P. (2016). Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 79, 274-282.
- Madadori, M.K. (1982). *Les plantes médicinales : Guides vert*. Salar, 624.
- Majda, E., Faiçal, E.O., Amal, L., Taha, E., Abdelhak, B., Noureddine, E. (2022). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Wild and Cultivated *Rosmarinus Officinalis* from Two Moroccan Localities. *Morocco : Journal of Ecological Engineering*, 23(3) : 214-215.
- Makhloufi, A. (2013). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Béchar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de Doctorat, Université Aboubaker Belkaid, 136.
- Maliński, M. P., Kikowska, M. A., Soluch, A., Kowalczyk, M., Stochmal, A., Thiem, B. (2021). Phytochemical Screening, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Biomass from *Lychnis flos-cuculi* L. In *Vitro Cultures and Intact Plants*.
- Marion, L. (2017). Le romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. France: HAL. Open science, 65-89.
- Martínez-González, M., Covadonga; Goday-Buján, J., Martínez, G., Walter; F., Capdevila., E. (2007). Concomitant allergic contact dermatitis due to *Rosmarinus officinalis* (rosemary) and *Thymus vulgaris* (thyme). *Contact Dermatitis*, 56.

## Références Bibliographiques

---

- Masuda, T., Yonemori, S., Oyama, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., Andoh, T. (1999). Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: Activity of the leaf extracts from seashore plants. *J Agric Food Chem*, 47 : 1749-1754.
- Maurice N. (1997). *L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI<sup>e</sup> siècle* Ed. Lavoisier ; Paris ; p. 12-14).
- Mazouzi, N. (2019). Mémoire Master : Evaluation de l'activité antioxydant et l'activité antibactérienne de plante médicinale au sud d'Algérie. OUARGLA, 28.
- Megateli, S., Krea, M. (2018). Enhancement of total phenolic and flavonoids extraction from *Rosmarinus officinalis* L using electromagnetic induction heating (EMIH) process. *Physiol Mol Biol Plants*, 24(5): 889–897.
- Michael, H., Johanna, K., Marco, L., Pardo-de-Santayana, M. (2006). Ethnobotany and ethnopharmacology- Interdisciplinary links with the historical sciences. London: *Journal of Ethnopharmacology*, 107: 157-159.
- Minh-Tam, N.K., Truong, Q.C., Nguyen, M.T., Cao-Thi, B.H., Tong, T.D., Dao, T.P., Tran, T.H., Tan, L.V., Le, X. (2021). Optimized extraction of polyphenols from leaves of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) grown in Lam Dong province, Vietnam, and evaluation of their antioxidant capacity. *Open Chemistry*; 19: 1045–1047.
- Mohamed, G.A., M-Ibrahim, S.R. (2007). Eucalyptone G, a new phloroglucinol derivative and other constituents from *Eucalyptus globulus* Labill. *ARKIVOC*, 15: 281-283.
- Mota, I., Rodrigues Pinto, P.C., Novo, C., Novo, G., Sousa, C., Guerreiro, O., Guerra, Â.R., Duarte, M.F., Rodrigues, A.E. (2012). Extraction of polyphenolic compounds from *Eucalyptus globulus* bark: process optimization and screening for biological activity. *Ind. Eng. Chem. Res.* 51, 6991–7000.
- Mouloud, M.Y., Salah, M.L., Leila, M.H., Amar, M.Z. (s. d.). *De Rosmarinus officinalis et l'évaluation de l'activité biologique*.
- Mutahar, S.S., Al-Otaibi, M., Al-Zoreky, N.S. (2012). Antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *Food and Nutrition Sciences*.
- Naciye, E., Guler, A., Erol, A. (2008). Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Turkey: *Food Chemistry*, 110: 79.
- Natalia, P., Julia, G-A. (2012). Extraction of antioxidants from forestry biomass: Kinetics and optimization of extraction conditions. *Biomass and Bioenergy*, 43: 43.
- Osawa, T. (1987). Inhibition of peroxidation by ellagic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35: 808-811.
- Organisation mondiale de la sante. (2002). *Médecine traditionnelle* : EB111/9, 1-2.



- Padalia, H., Rathod, T., Moteriya, P., & Chanda, S. (2017). Antimicrobial Efficacy of *Cinnamomum verum* Essential Oil Alone and in Combination with Antibiotics and Other Essential Oils. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11), 3377-3395.
- Panda, H. (2009). *Aromatic Plants Cultivation: Processing And uses*.
- Pascale, S.M., Véronique, C. (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*. États-Unis : Éditions Tec & Doc.
- Pedro, M., Martina, C., Michele, T., Kelli, A.H., Chiara, D., Daniele, D.R. (2016). Phytochemical Profiling of Flavonoids, Phenolic Acids, Terpenoids, and Volatile Fraction of a Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract. Switzerland: licensee MDPI, 21(11): 1576- 1578.
- Pereira, V., Dias, C., Vasconcelos, M.C., Rosa, E., Saavedra, M.J. (2014). Antibacterial activity and synergistic effects between *Eucalyptus globulus* leaf residues (essential oils and extracts) and antibiotics against several isolates of respiratory tract infections (*Pseudomonas aeruginosa*). *Ind: Crops Prod*, 52: 1–7.
- Permatasari, H. K., Nurkolis, F., Gunawan, W. B., Yusuf, V. M., Yusuf, M., Kusuma, R. J., Sabrina, N., Muharram, F. R., Taslim, N. A., Mayulu, N., Batubara, S. C., Samtiya, M., Hardinsyah, H., Tsopmo, A. (2022). Modulation of gut microbiota and markers of metabolic syndrome in mice on cholesterol and fat enriched diet by butterfly pea flower kombucha. *Current Research in Food Science*, 5, 1251-1265.
- Pietta, G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *J.Nat.Prod*, 63: 1035-1042.
- Ponce, A.G., Fritz, R., Del-Valle, C., Roura, S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein, D. A. (2003). *Microbiologie*. De Boeck.
- Quezel, P. (1995). *La région circumméditerranéen, Centre mondial majeur de biodiversité végétale*. Institut Méditerranéen d'Ecologie et de la Paléoécologie, France, 152.
- Raju, G., Maridas, M. (2011). Composition, antifungal and cytotoxic activities of essential oils of *Piper barberi* fruits: *International Journal of Biological Technology*, 2(2). 100-103.
- Rameau, J.C., Mansion, D., Dumé, G., Gauberville, C. (2008). *Flore forestière française tome 3, région méditerranéenne : Guide écologique illustré*. France : CNPF-IDF, 3: 75.
- Rayane, K., & Soumia, K. (s. d.). Effet des extraits successifs de déférentes concentrations méthanoliques sur les activités biologiques d'*Eucalyptus globulus* labill.
- Reboredo, F.H., Pelica, J., Lidon, F.C., Pessoa, M.F., Silva, M.M., Guerra, M., Leitão, R., Ramalho, J.C. (2021). The tolerance of *Eucalyptus globulus* to soil contamination with arsenic: *Plants*, 10. 627.
- Reddy, K.J., Bahadur, B., MLN, R. (2005). *Advances in Medicinal Plants*. Hyderabad: Aicra Publishers, 1-5.

## Références Bibliographiques

---

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Roulier, G. (1990). *Les huiles essentielles pour votre santé*. Ed : Dangles, 174.
- Roux, D., Catier, O. (2007). *Botanique, pharmacognosie, phytothérapie*. 3ème édition, Wolters Kluwer, 74-141.
- Saad, S. (2017). *Analyse de la diversité chimique par les composés phénoliques, Marrubium deserti De Noé. Etude ethnobotanique et propriétés médicinales*. Thèse de Doctorat, Université Houari Boumediene USTHB/Alger, 110.
- Sarr, S., Fall, A., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., Ndiaye, B., Diop, Y. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1263.
- Schauenberg P., Paris F. (2006). *Guide des plantes médicinales*. Ed. Dalachaux et Nieslé. Paris. 330 p
- Shubhreet, K., Dr. Saurabh, G and Priyae, B.G. (2019). Phytochemical analysis of Eucalyptus leaves extract. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*; 8(1): 2442-2446.
- Silva, J., Abebe, W., Sousa, S.M., Duarte, V.G., Machado, M.I.L., Matos, F.J.A. (2003). Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of Eucalyptus. *Journal of Ethnopharmacology*, 89(2-3), 277-283.
- Singh, H.P., Kaura, S., Negia, K., Kumarib, S., Sainia, V., Batishb, D.R., Kohli, R. (2012). Assessment of in vitro antioxidant activity of essential oil of Eucalyptus citriodora (lemon-scented Eucalypt; Myrtaceae) and its major constituents. *LWT-Food Sci: Technol*, 48. 237.
- Singleton V.L, Rossi J.A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am J Enol Vitic*. 1 janv. 16 (3):144-58.
- Si Said, B.O., Haddadi-Guemghar, H., Boulekbache-Makhlouf, L., Rigou, P., Remini, H., Adjaoud, A., Khaled-Khoudja, N., Madani, K. (2016). Essential oils composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrodistilled extract of Eucalyptus globulus fruits. *Industrial Crops and Products*, 89, 167-175.
- Stephanovits, B.E., Tulok, M-H., Hegedus, A., Renner, C., Szololosi-Varga, L. (2003). Antioxydant effect of various Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.); 47 (1-4): 111-113.
- Stevinson, C., Huntley, A., Ernst, E. (2002). A systematic review of the safety of kava extract in the treatment of anxiety: *Drug Safety*, 25: 251-253.
- Sugimoto, K., Suzuki, J., Nakagawa, J., Hayashi, S., Enomoto, T., Fujita, T., Yamaji, R., Inui, H., Nakano, Y. (2005). Eucalyptus leaf extract inhibits intestinal fructose absorption, and suppresses diposity due to dietary sucrose in rats. *Brazilian Journal of Nutrition*, 93: 957.

- Taur, D.J., Kulkarni, V.B., Patil, R.Y. (2010). Chromatographic evaluation and anthelmintic activity of Eucalyptus globulus oil. *Pharmacognosy Research*, 2: 125-127.
- Takahashi, T., Kokubo, R., Sakaino, M. (2004). Antimicrobial activities of Eucalyptus leaf extracts and flavonoids from eucalyptus maculate. *Japan: Letters in Applied Microbiolog*, 39. 60.
- Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., El-elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chem.* (in press).
- Thornhill, A. H., Y.W. Ho, S., Külheim, C., Crisp, M.D. (2015). Interpreting the modern distribution of Myrtaceae using a dated molecular phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 93, 29-43.
- Thompsen J. C., Mottola, H.A. (1984). Kinetics of the complexation of iron (II) with ferrozine. *Analytical Chemistry*, 56(4): 755-757.
- Traore, N., Sidibe, L., Bouare, S., Harama, D., Somboro, A., Fofana, B., Diallo, D., Figueredo, G., Chalchat, J.C. (2013). Activités antimicrobiennes des huiles essentielles de Eucalyptus citriodora Hook et Eucalyptus houseana W.Fitzg. ex Maiden. *International journal of Biological and Chemical Science*, 7(2): 800-801.
- Tsai, P.J., Tsai, T.H., Ho, S.C. (2007). In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of Streptococcus sobrinus. *Food Chemistry*, 105: 311-316.
- Turrill, W. B. (2015). The Genus Rosmarinus. Italy: Springer on behalf of Royal Botanic Gardens, Kew, 1920 (3): 105.
- Umer, H., Jilani, M.I., Rehman, R., Nadeem, F. (2015). A Review on Eucalyptus globulus: A New Perspective in Therapeutics. *International journal of Biological and Biochemical Science*, 8: 85-91.
- Vishin, A.P., Nitave, S.A. (2014). A review on eucalyptus globulus: a divine medicinal herb. *india: world journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 3(6): 559-560.
- Wichtl, M., Anton, R. (2009). *Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Paris : Édition LAVOISIR, 38-41.
- Wu, M., Wu, W., Xie, H., Wu, G., Wei, X. (2011). Monoterpenoid indole alkaloids mediating DNA strand scission from Turpinia argute. *Planta Medica*, 77: 284-328.
- Xu, G., In, M.Y., Yuan, Y., Lee, J.J., Kim, S. (2007). In situ spectro electrochemical study of quercetin oxidation and complexation with metal ions in acidic solutions. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 28(5): 889.
- Yaici, K., Dahamna, S., Moualek, I., Belhadj, H., & Houali, K. (2021). Évaluation de la teneur des composés phénoliques, des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de l'espèce Erica arborea L. (Ericaceae) dans la médecine traditionnelle du Tell sétifien dans l'Est Algérien. *Phytothérapie*, 19(4), 226-234.
- Yesil-Celiktas, O., Girgin, G., Orhan, H., Wichers, H-J., Bedir, E., Vardar-Sukan, F. (2007). Screening of free radical scavenging capacity and antioxidant activities of Rosmarinus Officinalis

## *Références Bibliographiques*

---

extract with Focus on location and harvesting times. *European food research and technology*, 224: 443-51.

- Zeghad, N., Merghem, R. (2016). Antioxidant activity of flavonoids isolated from *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of Plant Science and Research*, 3: 2349–2805.
- Zhang, Y., Adlakun, T.A., Qu, L., Li, X., Li, J., Han, L., Wang, T. (2014). New terpenoid glycosides obtained from *Rosmarinus officinalis* L. aerial parts. *China : Fitoterapia*, 99 : 78-79.

## Résumé

Le romarin et l'eucalyptus appartiennent respectivement aux familles des labiées (lamiacées) et des myrtacées. Ces plantes occupent une place significative à l'échelle mondiale et en Algérie, étant utilisées depuis l'antiquité en médecine traditionnelle comme une pharmacopée naturelle pour leurs propriétés thérapeutiques.

Cette étude vise tout d'abord à optimiser les paramètres d'extraction des substances bioactives (métabolites secondaires) de leurs feuilles par ultrason. Ensuite, une analyse phytochimique a été réalisée, comprenant le dosage des composés phénoliques, ainsi que l'évaluation de leurs activités antioxydantes (DPPH, ABTS<sup>+</sup>) et antibactériennes par la méthode de diffusion des disques. Les résultats de l'analyse phytochimique ont révélé la présence de certaines classes de métabolites secondaires comme les flavonoïdes, les tanins et les terpènes chez l'eucalyptus, tandis que les quinones libres étaient absentes chez le romarin. Les extraits d'eucalyptus sont avérés être les plus riches en polyphénols, avec un taux de 109,715 mg EAG/g MS, tandis que le romarin présentait un taux de 43,225 mg EQ/g MS en flavonoïdes. Les flavonols ont montré des valeurs plus faibles en composés phénoliques, variant de 9,882 mg/g MS à 7,222 mg/g MS pour les extraits d'eucalyptus et de romarin respectivement. Le dosage des tanins condensés a révélé une teneur plus élevée dans les feuilles de la région de Boussaleh (9,665 mg EC/g MS) par rapport à Khmaïria (9,055 mg EC/g MS). L'évaluation de l'activité antiradicalaire (DPPH<sup>-</sup>) a indiqué une réponse antioxydante plus élevée pour les feuilles de eucalyptus avec un IC<sub>50</sub> de 16,73 ± 1,78 µg/ml, tandis que les feuilles de la deuxième région ont montré une activité plus faible avec un IC<sub>50</sub> de 19,92 ± 3,35 µg/ml. Pour l'activité antiradicalaire ABTS<sup>+</sup>, les feuilles de la région de khmaïria ont affiché une activité plus élevée par rapport à celles de Boussaleh. Enfin, l'activité antibactérienne s'est révélée négative pour certaines souches et positive pour d'autres.

**Mots clés :** *R.officinalis*, *E.globulus*, activité antioxydante, optimisation, DPPH, ABTS, composés phénoliques, activité antibactérienne.

## Summary

Rosemary and eucalyptus belong respectively to the families of labiiae (lamiaceae) and myrtaceae. These plants occupy a significant place on a global scale and in Algeria, being used since antiquity in traditional medicine as a natural pharmacopoeia for their therapeutic properties.

This study aims first of all to optimize the parameters of extraction of bioactive substances (secondary metabolites) from their leaves by ultrasound. Then, a phytochemical analysis was performed, including the determination of phenolic compounds, as well as the evaluation of their antioxidant activities (DPPH, ABTS<sup>+</sup>) and antibacterial by the method of disc diffusion. The results of the phytochemical analysis revealed the presence of certain classes of secondary metabolites such as flavonoids, tannins and terpenes in eucalyptus, while free quinones were absent in rosemary. Eucalyptus extracts were found to be the richest in polyphenols, with a level of 109.71 mg EAG/g MS, while rosemary had a level of 43.22 mg EQ/g MS flavonoids. Flavonols showed lower values of phenolic compounds, ranging from 9.882 mg/g DM to 7.22 mg/g DM for eucalyptus and rosemary extracts respectively. The dosage of condensed tannins revealed a higher content in the leaves of the Boussaleh region (9.66 mg EC/g MS) compared to Khmaïria (9.05 mg EC/g MS). The results of antioxidant activities showed variations according to the tests. The assessment of antiradical activity (DPPH<sup>-</sup>) indicated a higher antioxidant response for eucalyptus leaves, with an IC<sub>50</sub> of 16.73 µg/ml, while leaves in the second region showed lower activity with an IC<sub>50</sub> of 19.92 µg/ml. For antiradical activity (ABTS<sup>+</sup>), leaves in the khmaïria region showed higher activity than those in Boussaleh. Finally, the antibacterial activity was negative for some strains and positive for others.

**Keywords:** *R.officinalis*, *E.globulus*, antioxidant activity, optimization, DPPH, ABTS, phenolic compounds, antibacterial activity.

## ملخص

تنتمي روزماري و أوكالبتوس على التوالي إلى عائلات الشفراوات (lamiaceae) و (myrtaceae). تحتل هذه النباتات مكانة كبيرة على نطاق عالمي وفي الجزائر، حيث يتم استخدامها منذ العصور القديمة في الطب التقليدي كدواء طبيعي لخصائصها العلاجية. تهدف هذه الدراسة أولاً وقبل كل شيء إلى تحسين معايير استخراج المواد ذات التأثير الحيوي (المستقبلات الثانوية) من أوراقها عن طريق الموجات فوق الصوتية. بعد ذلك، تم إجراء تحليل كيميائي نباتي، بما في ذلك تحديد المركبات الفينولية، بالإضافة إلى تقييم أنشطتها المضادة للأكسدة تأثير الزبال للجذور DPPH<sup>-</sup> و ABTS<sup>+</sup>. ومضادات البكتيريا بطريقة نشر القرص. كشفت نتائج التحليل الكيميائي النباتي عن وجود فئات معينة من المستقبلات الثانوية مثل الفالونويد والعفص والتربينات في الأوكالبتوس، بينما كانت الكينونات الحرة غائبة في إكليل الجبل. تم العثور على مستخلصات الأوكالبتوس لتكون الأغنى في البوليفينول، مع مستوى 109,71 ملغ EAG MS/g، في حين أن إكليل الجبل كان لديه مستوى 43,22 ملغ EQ/g MS flavonoids. أظهر الفلافونول قيماً أقل للمركبات الفينولية، تتراوح من 9.88 ملغ/غرام DM إلى 7.22 ملغ/غرام DM لمستخلصات الأوكالبتوس وإكليل الجبل على التوالي. كشفت جرعة العفص المكثف عن محتوى أعلى في أوراق منطقة بوسالغ (9.66 ملغ EC/g MS) مقارنة بالخمايرية. أظهرت نتائج الأنشطة المضادة للأكسدة اختلافات وفقاً للاختبارات. شار تقييم النشاط المضاد للراديكال DPPH<sup>-</sup>، (إلى استجابة أعلى لمضادات الأكسدة لأوراق الأوكالبتوس، مع IC<sub>50</sub> من (16,73 ± 1,78) غم/مل، في حين أظهرت الأوراق في المنطقة الثانية نشاطاً أقل مع IC<sub>50</sub> من (19,92 ± 3,35) غم/مل. بالنسبة للنشاط المضاد للراديكال ABTS<sup>+</sup>، أظهرت الأوراق الخمايرية نشاطاً أعلى مع IC<sub>50</sub> من 30 غم/مل من تلك الموجودة في منطقة بوسالغ مع IC<sub>50</sub> من 45,47 غم/مل كان النشاط المضاد للبكتيريا سلبياً لبعض السلالات وإيجابياً للآخرين.

**الكلمات الرئيسية :** *R.officinalis*، *E.globulus*، النشاط المضاد للأكسدة، التحسين، DPPH، ABTS، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للبكتيريا.