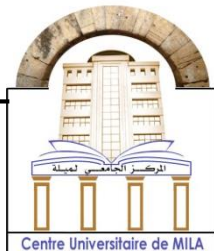


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref :

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Etude de l'activité biologique de l'extrait d'une plante
médicinale.**

Présenté par :

- ABDEDAIM Houyem.
- BENARIFA Faiza.

Devant le jury :

MENAKH Mouna	MCB	Présidente
KADJOU DJ Nadia	MCB	Examinatrice
AMIRA Aicha	MCB	Promotrice

Année Universitaire : 2024/2025

REMERCIEMENTS

*En premier lieu, nous tenons à remercier notre **DIEU**, notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.*

*Nous tenons à remercier chaleureusement notre directrice, Melle **AMIRA Aicha**, pour sa disponibilité, ses orientations et ses précieux conseils.*

*Nous exprimons notre profonde gratitude aux membres du jury : Mme **MENAKH Mouna** qui nous a fait l'honneur de présider le jury de soutenance.*

*Melle **KADJOUDJ Nadia** pour nous avoir honorés en acceptant de juger notre travail.*

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation.

Nous souhaitons remercier l'équipe de laboratoire pédagogique du Centre Universitaire Abdelhafide BOUSSOUF - Mila pour son Accompagnement , sa disponibilité et son soutien tout au long de notre travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents, pour leurs soutiens, leurs sacrifices, leurs encouragements et leurs précieux conseils durant toute ma vie. Que dieu vous procure bonne santé et longue vie.

Mes sœurs Nessrin, Afaf et Samiha pour leurs encouragements et leurs soutien moral.

Ma nièce Anya.

Mes neveux Yazen, Rssim et Wassim.

Mes chers amis qui me rendent la vie plus belle.

Tous ceux qui m'ont soutenu, de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Faiza

Dédicace

Je dédie ce travail :

À mon père ABDEDAIM Mohamed pour ses conseils précieux, son soutien et son encouragement à poursuivre mes rêves.

À la mémoire de ma mère, Houda, qui nous a quittés, mais dont l'amour et les valeurs transmises continuent de m'inspirer chaque jour.

Son souvenir reste gravé dans mon cœur et guide mes pas,

Que Dieu repose son âme en paix.

A ma belle-mère Farida pour son soutien.

À ma chère amie Imane, pour sa présence constante, son soutien moral et son amitié sincère qui m'ont profondément réconfortée.

À mes cousines Rihab, Malak, Sabrina, Anfal et Aya pour *leur* encouragement.

Houyem

Résumé

Ce travail vise à identifier les principaux groupes chimiques présents dans les feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora* ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de ses deux extraits méthanolique et aqueux. Les résultats de l'étude phytochimique ont montré la présence des phénols, des flavonoïdes, des tanins, des terpénoïdes, des glucides, des quinones, des saponines, des stéroïdes et des protéines. L'analyse quantitative a montré la richesse des extraits en polyphénols avec des teneurs de 62.38 à 200.64 µg EAG /mg d'échantillon ; la teneur élevée a été obtenue par le méthanol. Le pouvoir antioxydant a révélé que les deux extraits présentent des propriétés antioxydantes ; où l'extrait méthanolique présente une excellente aptitude à neutraliser les radicaux libres DPPH. Concernant le test de l'activité antibactérienne, les résultats ont montré une activité importante de l'extraits aqueux et méthanolique contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*. Pour *Staphylococcus aureus* les deux extraits ont révélé un effet relativement faible. Par contre *Escherichia coli* a été résistante vis-à-vis les deux extraits. Les résultats obtenus indiquent que les extraits méthanolique et aqueux des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora* présentent une richesse en composés bioactifs, avec une forte activité antioxydante et une efficacité antibactérienne variable selon les souches.

Mots clés : *Eucalyptus citriodora*, étude phytochimique, polyphénols, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract

This work aims to identify the main chemical groups present in *Eucalyptus citriodora* leaves as well as the evaluation of the antioxidant and antibacterial activities of its methanolic and aqueous extracts. The results of the phytochemical study showed the presence of phenols, flavonoids, tannins, terpenoids, carbohydrates, quinones, saponins, steroids and proteins. Quantitative analysis showed the richness of the extracts in polyphenols with contents of 62.38 to 200.64 µg EAG /mg of sample; the high content was obtained by methanol. The antioxidant power revealed that both extracts exhibit antioxidant properties; where the methanolic extract exhibits excellent ability to neutralize the free radicals DPPH. Concerning the antibacterial activity test, the results showed significant activity of the aqueous and methanolic extracts against *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis*. For *Staphylococcus aureus*, both extracts revealed a relatively weak effect. On the other hand, *Escherichia coli* was resistant to both extracts. The obtained results indicate that the methanolic and aqueous extracts of *Eucalyptus citriodora* leaves are rich in bioactive compounds, exhibiting strong antioxidant activity and antibacterial efficacy that varies depending on the bacterial strains.

Keywords: *Eucalyptus citriodora*, phytochemical study, polyphenols, antioxidant activity, antibacterial activity.

المخلص

يهدف هذا العمل إلى تحديد المجموعات الكيميائية الرئيسية الموجودة في أوراق شجرة الكاليتوس *Eucalyptus citriodora* وكذلك تقييم النشاط المضاد للأكسدة والبكتيريا لمستخلصها المائي والميثانولي. أظهرت نتائج الدراسة الكيميائية النباتية وجود الفينولات والفلافونويدات والتانينات والتربينويدات والكربوهيدرات والكينونات والسابونين والستيرويدات والبروتينات. أظهر التحليل الكمي ثراء المستخلصات بالبوليفينولات تتراوح بين 62.38 إلى 200.64 ميكروغرام / EAG ملغ من العينة؛ وتم الحصول على المحتوى العالي بالميثانول. أظهرت القوة المضادة للأكسدة أن كلا المستخلصين يظهران خصائص مضادة للأكسدة؛ حيث يظهر المستخلص الميثانولي قدرة ممتازة على تثبيت الجذور الحرة DPPH. فيما يتعلق باختبار النشاط المضاد للبكتيريا، أظهرت النتائج نشاطاً ملحوظاً للمستخلصات المائية والميثانولية ضد *Pseudomonas aeruginosa* و *Bacillus subtilis*. أما بالنسبة *Staphylococcus aureus* ، فقد أظهر كلا المستخلصين تأثيراً ضعيفاً نسبياً. في المقابل، أظهرت *Escherichia coli* مقاومةً لكلا المستخلصين. تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن المستخلصات الميثانولية والمائية لأوراق نبات *Eucalyptus citriodora* تحتوي على المركبات النشطة بيولوجياً، مع نشاط قوي مضاد للأكسدة وفعالية مضادة للبكتيريا تختلف وفقاً للسلاسلات.

الكلمات المفتاحية:

Eucalyptus citriodora ، دراسة كيميائية نباتية، البوليفينول، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا.

SOMMAIRE

Sommaire	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Partie I : Recherche bibliographique	
Chapitre 01 : Généralité sur la plante <i>Eucalyptus citriodora</i>	
I.1.1. Présentation de la plante	3
I.1.2. Nomenclature	3
I.1.3. Taxonomie	4
I.1.4. Description botanique	4
I.1.5. Distribution biogéographique	6
I.1.5.1. Répartition mondiale	6
I.1.5.2. Répartition en Algérie	7
I.1.6. Composition chimique de la plante <i>Eucalyptus citriodora</i>	8
I.1.7. Principale utilisation de la plante <i>Eucalyptus citriodora</i>	8
I.1.8. Propriétés pharmacologiques	9
I.1.8.1. Activités antioxydante	9
I.1.8.2. Activités antibactérienne	10
I.1.8.3. Activités antifongique	10
I.1.8.4. Activités antivirale	10
I.1.8.5. Activités anticancéreuse	11
I.1.8.6. Activités antidiabétique	11
I.1.8.7. Activité insecticide	11
Chapitre 02: Métabolites secondaires et activités biologiques	
I.2.1. Métabolites secondaires	12
I.2.1.1. Définition	12
I.2.1.2. Classification	12
I.2.1.2.1. Composés phénoliques	12

I.2.1.2.2. Terpanoïdes	17
I.2.1.2.3. Alcaloïdes	18
I.2.2. Activités biologiques des polyphénols	19
I.2.2.1. Activité antioxydante	20
I.2.2.2. Activité antibactérienne	20
I.2.2.3. Activité anticancéreuse	20
I.2.2.4. Activité antiulcéreuse	20
I.2.2.5. Activité antivirale	21
I.2.2.6. Activité antifongique	21
I.2.2.7. Activités antidiabétique	21
I.2.2.8. Activité antiallergique	21
I.2.2.9. Activités anti-inflammatoire	21
Partie II : Partie expérimentale	
Matériels et méthodes	
II.1. Matériel	22
II.1.1. Matériel végétal	22
II.1.2. Présentation de la zone d'étude	23
II.2. Méthodes	24
II.2.1. Extraction	24
II.2.2. Calcul du rendement des extraits	26
II.2.3. Analyse qualitative (Screening phytochimique)	26
II.2.4. Analyse quantitative (dosage des polyphénols)	27
II.2.5. Activité antioxydante	28
II.2.6. Activité antibactérienne	29
Partie III : Résultats et discussion	
III. Résultats et discussion	34
III.1. Rendement de l'extraction	34
III.2. Analyse qualitative (screening phytochimique)	35
III.3. Analyse quantitative (dosage des polyphénols)	38
III.4. Activité antioxydante	40
III.5. Activité antibactérienne	42

Conclusion	45
Références bibliographiques	46
Annexes	I

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Ecorce de la plante <i>Eucalyptus citriodora</i> .	4
02	Feuilles de la plante <i>Eucalyptus citriodora</i> .	5
03	Fleurs de la plante <i>Eucalyptus citriodora</i> .	6
04	Fruit de la plante <i>Eucalyptus citriodora</i> .	6
05	Aire de répartition de la plante <i>Eucalyptus citriodora</i> dans le monde.	7
06	Propriétés pharmacologiques de la plante <i>Eucalyptus</i> .	9
07	Trois principaux types de métabolites secondaires.	12
08	Phénol.	13
09	Structure de base des flavonoïdes et principaux types de flavonoïdes.	14
10	Structure chimique de l'acide phénolique, A : l'acide hydroxybenzoïque et B : l'acide hydroxycinnamique.	15
11	Structures chimiques des tannins (A) Tannins hydrolysables, (B) Tannins condensés.	16
12	Exemples de coumarines.	17
13	Exemples d'alcaloïdes.	18
14	Représentation des activités biologiques des polyphénols.	19
15	Etapes de préparation de poudre des feuilles de la plante <i>Eucalyptus citriodora</i> .	22
16	Localisation géographique de la wilaya de Mila.	23
17	Protocole de préparation des extraits bruts (méthanoliques et aqueux) des feuilles de la plante <i>Eucalyptus citriodora</i> .	25
18	L'infusé à 5% préparer à partir de la poudre végétale.	26
19	Piégeage du radical libre DPPH.	28
20	Protocole de l'activité antibactérienne des feuilles de la plante <i>Eucalyptus citriodora</i> .	32
21	Rendement en extraits sec.	34
22	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.	38

23	Teneur des polyphénols de l'extrait aqueux des feuilles de la plante <i>E .citriodora</i> .	39
24	Teneur des polyphénols de l'extrait méthanolique des feuilles de la plante <i>E.citriodora</i> .	39
25	Test de DPPH de l'acide ascorbique.	40
26	Test de DPPH de l'extrait méthanolique.	41
27	Test de DPPH de l'extrait aqueux.	41
28	Photos représentatives des zones d'inhibition obtenues vis-à-vis les souches testées (photo originale).	44

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Classification de la plante <i>Eucalyptus citriodora</i> .	4
02	Souches bactériennes testées.	30
03	Niveaux de sensibilité des souches en fonction des diamètres des zones d'inhibition.	33
04	Résultats du screening phytochimique des feuilles de la plante <i>Eucalyptus citriodora</i> .	35
05	IC ₅₀ de l'extrait méthanolique, aqueux et l'acide ascorbique.	40
06	Activité antibactérienne de l'extrait aqueux de la plante <i>Eucalyptus citriodora</i> .	42
07	Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de la plante <i>Eucalyptus citriodora</i> .	43

Liste des abréviations

E. citriodora : *Eucalyptus citriodora*.

ERO : Les espèces réactives de l'oxygène.

Na₂CO₃ : Carbonate de Sodium.

ALCL₃ : Chlorure d'aluminium.

HCL : Chlorure d'hydrogène.

FeCl₃ : Chlorure ferrique.

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

µg EAG/mg : Microgrammes d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait.

µg : Microgrammes.

MeOH : Méthanol.

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

MH : Milieu Muller Hinton.

BN : Bouillon nutritif.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice 50% des radicaux libres du DPPH.

E. coli : *Escherichia coli*.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

B. subtilis : *Bacillus subtilis*.

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*.

Introduction

Les plantes médicinales, qu'elles soient utilisées sous forme d'extraits standardisés ou à l'état pur, offrent de vastes perspectives pour le développement de nouveaux médicaments. Elles présentent également de nombreux avantages nutritionnels, en raison de la présence de composés phytochimiques (des substances organiques bioactives) qui jouent un rôle protecteur contre diverses maladies **(Chijioke et al., 2024)**. Par ailleurs, les composés phytochimiques bioactifs présents dans les plantes médicinales, tels que les flavonoïdes, les composés phénoliques, les terpènes, les coumarines ou encore les saponines, sont reconnus pour leurs multiples propriétés thérapeutiques **(Hlatshwayo et al., 2025)**.

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont naturellement produites par l'organisme et jouent un rôle important dans le fonctionnement cellulaire normal. Cependant, lorsque leur production dépasse leur élimination, elles s'accumulent et endommagent des biomolécules importantes. Ces dommages peuvent entraîner le développement de diverses maladies. C'est pourquoi l'utilisation d'antioxydants aide à protéger le corps en prévenant ou en ralentissant l'apparition de diverses maladies **(Miguel et al., 2018)**.

L'émergence de micro-organismes multirésistants constitue une grave menace pour la santé mondiale. Face à la menace croissante des bactéries multirésistantes, la recherche s'oriente vers de nouvelles stratégies antimicrobiennes, notamment l'exploration des plantes médicinales comme sources de traitements potentiels. Le screening phytochimiques, basé sur des données médicales, constitue une méthode prometteuse pour découvrir des médicaments innovants **(El-Saadony et al., 2025)**.

Les composés phytochimiques des plantes médicinales sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. Elles constituent donc un substitut potentiel à la médecine moderne **(Akl and Younos, 2024)**.

Les feuilles de la plante d'*Eucalyptus* sont une excellente source d'antioxydants, notamment de flavonoïdes, qui protègent contre le stress oxydatif et les dommages causés par les radicaux libres **(Álvarez et al., 2021)**. On outre, les extraits de feuilles de la plante d'*Eucalyptus* sont reconnus pour leurs propriétés antibactériennes **(Takahashi et al., 2004)**. De plus, l'utilisation des extraits de feuilles d'*Eucalyptus* suscite un intérêt croissant dans divers secteurs, notamment pharmaceutique, cosmétique et alimentaire **(Álvarez et al., 2021)**.

Dans ce contexte, notre travail vise à explorer le potentiel d'*Eucalyptus citriodora* à travers une approche combinée reposant sur le screening phytochimique, l'étude du pouvoir antioxydant ainsi que l'évaluation de l'activité antibactérienne et de ses extraits méthanolique et aqueux.

Notre travail est structuré en trois parties. La première partie est consacrée à une étude bibliographique composée de deux chapitres : le premier porte sur l'*Eucalyptus citriodora* et ses activités, et le second traite les métabolites secondaires et leurs activités biologiques. La deuxième partie décrit le matériel utilisé ainsi que les méthodes expérimentales mises en œuvre. Enfin, la troisième partie présente les résultats obtenus, accompagnés de leur analyse et de leur discussion.

Partie I :
Recherche bibliographique

Chapitre 01 :
Généralités sur la plante *Eucalyptus*
citriodora

I.1.1. Présentation de la plante

L'*Eucalyptus* est un arbre à fleurs appartenant à la famille des *Myrtacées*, qui compte plus de 900 espèces et sous-espèces. Ces arbres sont connus pour leur croissance rapide et leur capacité à tolérer des environnements difficiles tels que les incendies de forêt, les sécheresses et les sols acides (Moges et al., 2024).

L'*Eucalyptus citriodora* ou *Corymbia citriodora* a d'abord été classé dans les *Eucalyptus* pendant des années (Koziol, 2015). Le genre *Corymbia* comprend les gommiers sanguinaires, tachetés et fantômes. Cependant, en 1995, des recherches ADN et morphologiques ont conclu que les gommiers sanguinaires, tachetés et fantômes étaient génétiquement distincts des autres espèces d'*Eucalyptus* et ont donc été reclassés comme membres du genre *Corymbia* de la famille des *Myrtacées* (Perry et Wangchuk, 2023). L'*Eucalyptus citronné* est donc devenu *Corymbia citriodora* mais son nom vernaculaire est resté *Eucalyptus citriodora* (Koziol, 2015).

Outre les utilisations ethnomédicales connues de diverses espèces de *Corymbia*, un large éventail d'activités biologiques est observé dans les huiles essentielles, les extraits bruts et les composés isolés de ce genre, soulignant le potentiel du genre *Corymbia* pour fournir de nouvelles pistes thérapeutiques et des traitements pour de nombreuses maladies courantes (Perry et Wangchuk., 2023).

En effet, l'*Eucalyptus citriodora* Hook ou gomme parfumée au citron est reconnu pour ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes et il est largement utilisée en parfumerie et dans la purification de l'air en tant qu'ingrédient important dans les cosmétiques et les assainisseurs d'air (Lenny et al, 2024 ; Şahin et al, 2024 ; Ramu et al, 2025).

I.1.2. Nomenclature

En français, il est appelé par plusieurs noms qui sont : *Eucalyptus*, arbre de la fièvre, gommier bleu, en anglais : blue gum tree et en arabe : Kalitus, Kalatus (Goetz et Ghadira., 2012). On mention spécialement les noms vernaculaires dans notre pays l'Algérie : Calitouss « le nom le plus connue en Algérie », Caliptus, Kafor. Ces noms sont les plus populaires en Algérie qui sont appelés dans plusieurs différentes régions (Daroui – Mokaddem, 2012).

- Nom latin : *Corymbia citriodora* anciennement *Eucalyptus citriodora*.
- Noms vernaculaires : *Eucalyptus citronné*, *Eucalyptus blanc*, *Eucalyptus* à odeur de citron.
- Noms scientifiques et synonymes : *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D.Hill&L.A.S.Johnson, *Eucalyptus citriodora* Hook., *Eucalyptus maculata* var. *citriodora* (Hook.) F.M.Bailey

- Noms vernaculaires étrangers : Lemon scented Gum (Koziol, 2015).

I.1.3. Taxonomie

L'espèce *Eucalyptus citriodora* est classée comme suit (Koziol, 2015).

Tableau 01 : Classification de la plante *Eucalyptus citriodora* (Koziol, 2015).

Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous Embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Myrtacées</i>
Genre	<i>Eucalyptus</i> ou <i>Corymbia</i>
Espèce	<i>Eucalyptus Citriodora</i>

I.1.4. Description Botanique

L'espèce *Eucalyptus citriodora* est un arbre dont la hauteur varie entre 20 et 40 m (Koudoro et al., 2014) ; son écorce fibreuse change de teinte d'une saison à l'autre, passant du blanc au rosé ou au beige clair. Les petites branches sont de couleur verte, peu ramifiées, l'écorce s'exfolie en plaques irrégulières vers la fin juin (Koziol, 2015).

- **L'écorce** : La plante *Eucalyptus citriodora* possède une écorce lisse, pâle, uniforme ou légèrement marbrée, blanche à cuivrée en été. L'écorce de la plante *Eucalyptus citriodora* est lisse sur toute la hauteur de l'arbre, souvent poudreuse, se détachant en fines lamelles ondulées (Ibrahim et al., 2018).



Figure 01 : Ecorce de la plante *Eucalyptus citriodora* (Koziol, 2015).

• **Les feuilles** : Ses feuilles sont alternes, pendantes, limbiques, de couleur verte et grisâtre, (Koudoro et al., 2014). Elles mesurent de 7 à 15 centimètres de long sur 0,7 à 1,5 de large. Dégageant une forte odeur caractéristique (odeur fortement citronnée) due à la présence de grande quantité de citronellal, ont une curieuse caractéristique : sur les jeunes arbres, elles sont opposées, sessiles, ovales et glauque, et quand l'arbre grandit, elles deviennent alternes, pétiolées, très allongées, parfois un peu courbées comme des lames de faux, et d'un vert luisant. (Kozioł, 2015).



Figure 02 : Feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora* (Nicolas., 2012).

• **Les fleurs** : Les fleurs sont en grappes ou en ombelles, possédant chacune un calice à tubes accrescents certains légèrement évasés, de nombreuses étamines à demi-longueurs, très décoratives et un ovaire à style court (Koudoro et al., 2014).



Figure 03 : Fleurs de la plante *Eucalyptus citriodora* (Nait Achour., 2012).

- **Les fruits :** Maturité ont la forme d'un cône, ils sont secs, et de couleur brune. Ils ont également des valves qui se soulèvent pour laisser échapper les graines lors de leur chute sur le sol (Bruneton, 1999).



Figure 04 : Fruit de la plante *Eucalyptus citriodora* (Eraou.,2019).

I.1.5. Distribution biogéographique

I.1.5.1. Représentation mondiale

La plante *Eucalyptus* est originaire d'Australie et de Tasmanie, seules quelques espèces ont pour origine l'Indonésie (Soumare., 2018 ; Kumar et al., 2021) et sa disponibilité dans le reste du monde dépend des conditions environnementales. Parmi les différentes espèces, *E.*

globulus est la plus populaire et se trouve généralement dans les régions subtropicales de Bolivie, du Brésil, du Chili, de Chine, d'Inde, du Paraguay, du Portugal, d'Espagne et d'Uruguay. Une autre espèce, *E. radiate*, est originaire d'Australie et d'Afrique du Sud. *E. citriodora*, utilisée en aromathérapie et en parfumerie, est principalement présente au Brésil, en Chine, en Inde, Nouvelle Guinée, en Indonésie et en Phillipine (**Kumar et al., 2021 ; Ewansiha et al., 2022**).

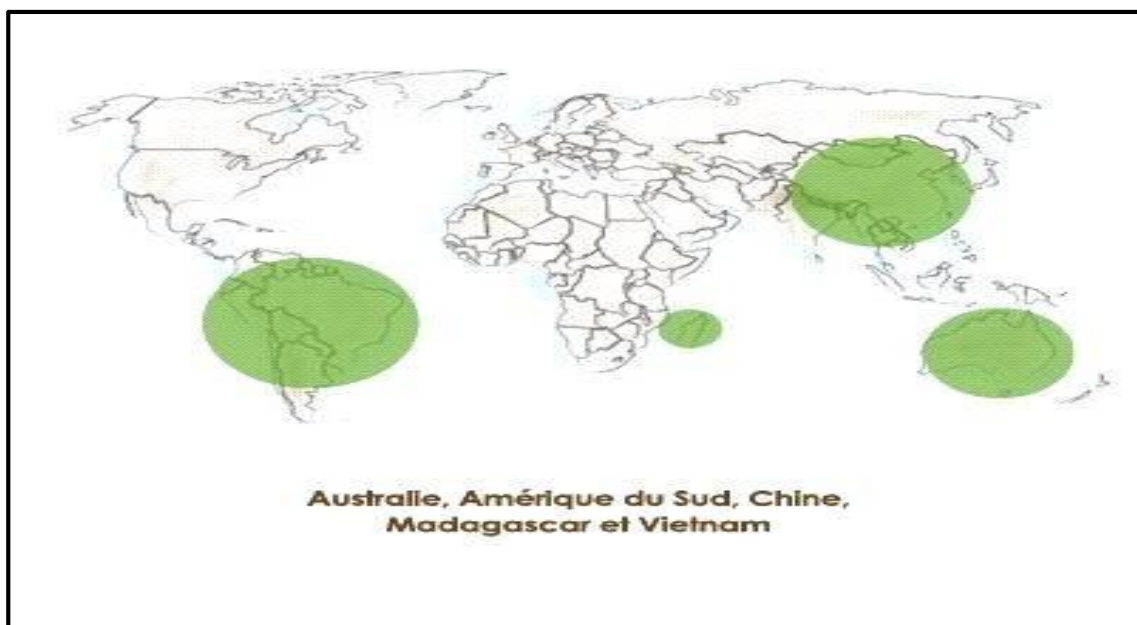


Figure 05 : Aire de répartition de la plante *Eucalyptus citriodora* dans le monde (**GBIF, 2020**).

I.1.5.2. Répartition en Algérie

Les *Eucalyptus* ont été introduits en Algérie entre 1854 et 1860 et plusieurs espèces ont donné d'excellents résultats dans les zones subhumides et semi-arides du pays, principalement en dessous de 800 m d'altitude et dans les zones bénéficiant d'une pluviométrie supérieure à 450 mm. En 1965, la superficie des plantations était estimée à 28 200 ha (**Pryor, 1981**).

Pendant les années 60 à 70, les reboisements à base d'*Eucalyptus* ont concerné notamment l'Est (El-Kala, Annaba, Skikda), le centre (Tizi-Ouzou, Baïnem) et l'Ouest (Mostaganem) et ceci afin de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et papetiers (**Nait Achour, 2012**).

I.1.6. Composition chimique de la plante *Eucalyptus citriodora*

La plante *Corymbia citriodora* contient divers composés chimiques, dont plusieurs présentent des propriétés biologiquement actives. Parmi les principaux composants identifiés, on retrouve notamment :

- **Les acides phénoliques** : (acide quinique, acide rosmarinique, acide férulique, acide caféique, acide gallique, acide ellagique, catéchol et 3-O-méthylellagique).
- **Les flavonoïdes** : (quercétine, kaempférol, isoquercitrine, isomyricitrine, myricétine, myricitrine, eucalyptine, acides citriodoliques et citrioside A).
- **Les glycosides** : (quercétine-3-O- β -D-galactoside, kaempférol-3-O- β -D-glucoside, quercétine-3-O- β -D-glucuronide, quercétine-3-O-rutinoside et kaempférol-3-O- α -L-rhamnoside),
- **Les huiles essentielles** : (citronellal, citronellol, p-cymène et spathulénol)

(Valdiviezo - campos et al., 2024).

I.1.7. Principale utilisation de la plante d'*Eucalyptus citriodora*

L'*Eucalyptus citriodora* est une plante largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses nombreuses vertus thérapeutiques. Elle est couramment employée pour traiter divers troubles digestifs tels que les nausées, les vomissements, les douleurs abdominales, l'indigestion, le côlon irritable et les ballonnements. Les feuilles de cette espèce sont très riches en huile essentielle, utilisée en ethnomédecine comme agent aromatisant, en aromathérapie, ou encore comme ingrédient dans des préparations à base de plantes destinées au traitement de maladies telles que le paludisme, la fièvre typhoïde ou la tuberculose (Ibrahim et al., 2018).

Cette plante est aussi utilisée pour traiter la fièvre, les infections respiratoires virales et même le cancer (Valdiviezo-Campos et al., 2024).

Les feuilles d'*Eucalyptus citriodora* étaient traditionnellement employées pour lutter contre des pathologies chroniques telles que l'obésité, le vieillissement, les maladies cardiovasculaires et le diabète (Koudoro et al., 2014).

En outre, différents extraits de feuilles de cette espèce ont montré diverses bioactivités, notamment des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, analgésiques et anti-inflammatoires (Ibrahim et al., 2018). Par exemple, les extraits à l'eau chaude de feuilles séchées d'*Eucalyptus citriodora* Hook sont utilisés traditionnellement comme analgésiques,

anti-inflammatoires et antipyrétiques pour soulager les symptômes d'infections respiratoires tels que le rhume, la grippe et la congestion des sinus (Koudoro et al., 2014).

I.1.8. Propriétés pharmacologiques

La figure ci-dessous illustre les principales propriétés pharmacologiques de la plante *Eucalyptus* :

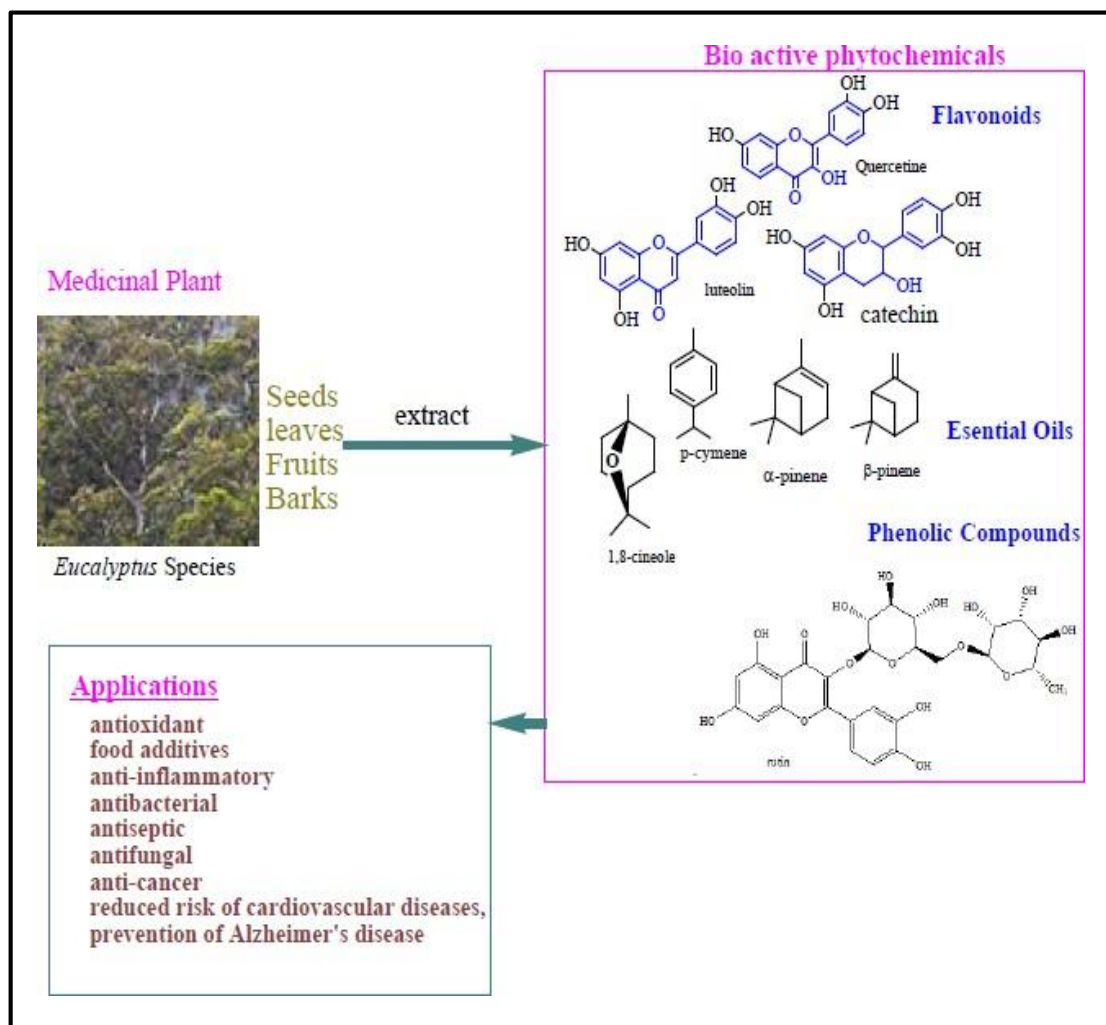


Figure 06 : Propriétés pharmacologiques de la plante *Eucalyptus* (Moges et al., 2024).

I.1.8.1. Activité antioxydante

Les extraits méthanolique, aqueux et à l'éthyle d'acétate des feuilles de *Corymbia citriodora* ont montré une activité antioxydante significative, évaluée à travers plusieurs méthodes complémentaires. Le pouvoir antioxydant réducteur ferrique, le test de piégeage du peroxyde d'hydrogène et du phosphomolybdène (Ramu et al., 2025).

I.1.8.2. Activité antibactérienne

Les extraits bruts l'éthyle d'acétate et d'eau des feuilles d'*Eucalyptus citriodora* contre plusieurs souches bactériennes pathogènes, notamment *Salmonella paratyphi*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* et *Streptococcus pyogenes* ; ont montré que l'extrait à l'éthyle d'acétate inhibait la croissance de toutes les bactéries testées, indiquant une forte activité antibactérienne. En revanche, l'extrait aqueux n'a démontré aucune activité contre l'ensemble des micro-organismes étudiés (Ewansiha et al., 2022).

L'infusé et le décocté des feuilles d'*Eucalyptus citriodora* contre six souches bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella paratyphi*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* ont révélé que les deux types d'extraits, présentaient une activité antibactérienne significative contre l'ensemble des bactéries testées (Okhale et al., 2022).

Les extraits de l'éther de pétrole, de Méthanol et d'ethanol de feuilles de *C. citriodora* ont également démontré une activité antibactérienne modérée contre une multitude de bactéries Gram-positives et Gram-négatives, notamment *E. faecalis*, *S. aureus*, *A. baumannii*, *C. freundii*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *P. fluorescens* et *V. parahaemolyticus*. Une activité antibactérienne a également été rapportée dans diverses fractions d'extraits de kino contre *M. aureus* et *My. Pheli* (Perry et Wangchuk., 2023).

I.1.8.3. Activité antifongique

Les extraits de chloroforme, de méthanol et de l'eau des feuilles d'*Eucalyptus citriodora* contre quatre espèces fongiques : *Aspergillus terreus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus* ont montré une activité antifongique très faible, voire négligeable, contre l'ensemble des champignons étudiés. Cette faible efficacité pourrait s'expliquer par la présence de composés antifongiques dans la plante, mais à des concentrations insuffisantes pour exercer une action significative (Javed et al., 2013).

L'extrait de feuille de *C. citriodora* à l'éther de pétrole possède une activité inhibitrice et fongicide modérée contre *A. flavus* et *A. parasiticus*. Des composés d'ométhylkaempférol, dont la 7-O-méthylaromadendrine 1, le 7-Ométhylkaempférol 2 et l'acide ellagique 3, isolés du kino de *C. citriodora*, ont également démontré des activités antifongiques variables contre *P. notatum*, *A. niger* et *F. oxysporium* (Perry et Wangchuk., 2023).

I.1.8.4. Activité antivirale

Les acides citriodoliques A–C 23–25 ont été isolés de l'extrait éthanolique d'*Eucalyptus citriodora*, utilisé pour la ribacirivine, un médicament déjà approuvé pour le traitement des

infections à virus respiratoire syncytial (RSV). D'autres extractions et isollements de feuilles de *C. citriodora* ont également permis d'obtenir le citriocide A 26 et le quercétine-3-O- α -L-rhamnoside 27, qui ont également montré une puissante activité contre le VRS. Ces résultats soulignent le potentiel de *C. citriodora* pour fournir de nouveaux composés antiviraux (**Perry et Wangchuk., 2023**).

I.1.8.5. Activité anticancéreuse

Les extraits aqueux des feuilles de *Corymbia citriodora* ont démontré une activité anticancéreuse notable, notamment par des effets antiprolifératifs sur les cellules cancéreuses pancréatiques humaines PaCa-2 (**Bhuyan et al., 2017**).

I.1.8.6. Activité antidiabétique

Plusieurs recherches ont mis en évidence l'activité antidiabétique des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de *Corymbia citriodora*. Ces extraits ont démontré des effets bénéfiques sur la régulation de la glycémie, la stimulation de la sécrétion d'insuline et l'amélioration de l'absorption du glucose (**Arjun et al., 2009 ; Ansari et al., 2021 ; Ansari et al., 2022**).

I.1.8.7. Activité insecticide

L'extrait MeOH de feuilles *Corymbia citriodora* est mortel pour le criocère rouge *Tribolium castaneum* (**Sahi, 2016**). Alors que l'extrait hexanique présente une activité larvicide contre les moustiques *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* et *Aedes aegypti* (**Singh et al., 2007**).

Chapitre 02 :
Métabolites secondaires et
activités biologique

I.2.1. Métabolites secondaires

I.2.1.1. Définition

Les métabolites secondaires sont des composés biochimiques aux structures chimiques variées et sophistiquées (Nair et al., 2022). Ces composés interviennent souvent dans la protection des plantes contre les stress biotiques et abiotiques (Pagare et al., 2015; Erb et Kliebenstein, 2020).

I.2.1.2. Classification

Les métabolites secondaires sont classés en trois groupes (figure 07), les terpénoïdes, les composés phénoliques et les composés azotés non protéiques tels que les alcaloïdes (Nawrot-chorabikl et al., 2022).

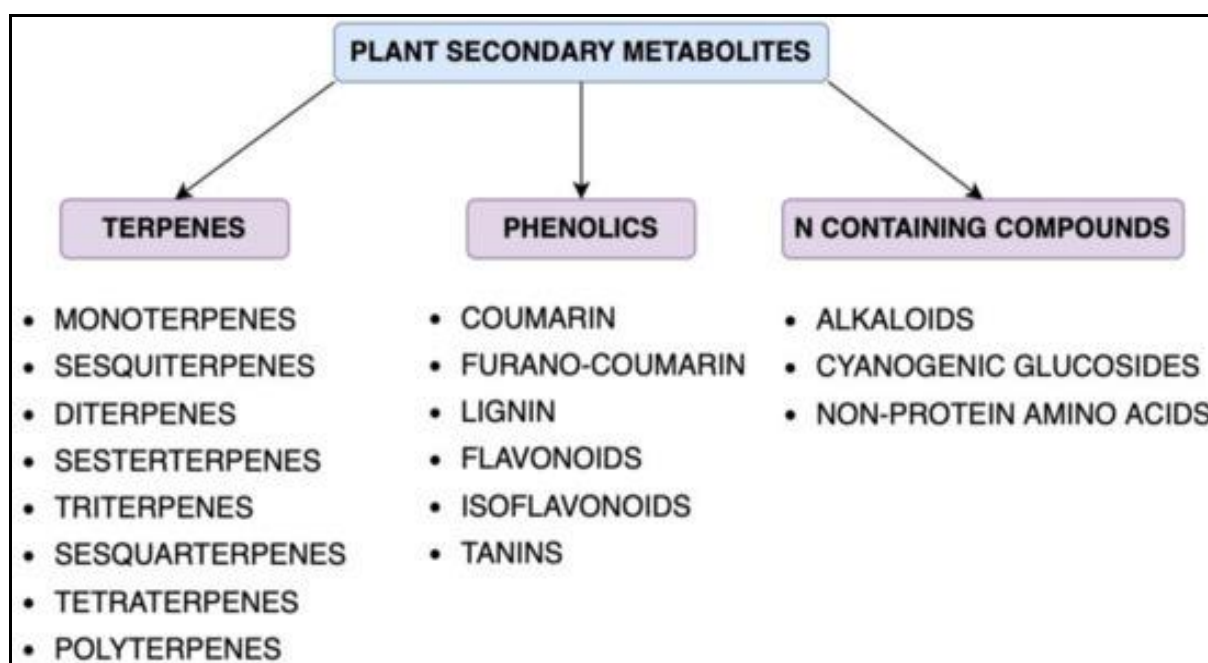


Figure 07 : Trois principaux types de métabolites secondaires (Nawrot-Chorabikl et al ., 2022).

I.2.2.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal, avec environ 8 000 structures phénoliques différentes. Leur structure chimique indique qu'ils contiennent au moins un groupe phénol. Ce phénol est composé d'un cycle aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyles. Ils sont classés en deux groupes : flavonoïdes et non-flavonoïdes (Cosme et al., 2020).

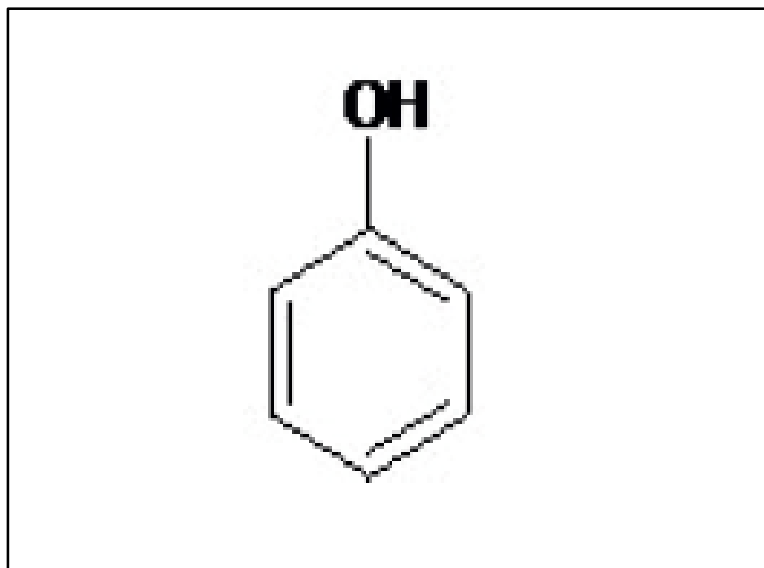


Figure 08 : Phénol (Hussein et El-Anssary, 2018).

➤ **Flavonoïdes**

Les flavonoïdes (de flavus, jaune en latin) représentent une classe de composés polyphénoliques largement répandue dans le règne végétal dont plusieurs milliers de composés ont déjà été recensés. Ils sont présents dans les fruits, les graines, les écorces, les racines et les fleurs. Ils sont responsables de couleur bleu, rouge et jaune qu'arborent les fleurs, les feuilles et les fruits **(Freddy., 2013)**. Leur principal élément structural est un cycle benzopyrone qui possède des groupes phénoliques ou polyphénoliques positionnés de manière variable **(Moges et al., 2024)**.

Les flavonoïdes ou sous-familles de flavonoïdes les plus fréquents sont les anthocyanes, les flavanones, les flavanols, les flavones, les isoflavones, les quercétines, le kaempférol et les catéchines comme l'épigallocatechine gallate **(batra et al., 2013)**.

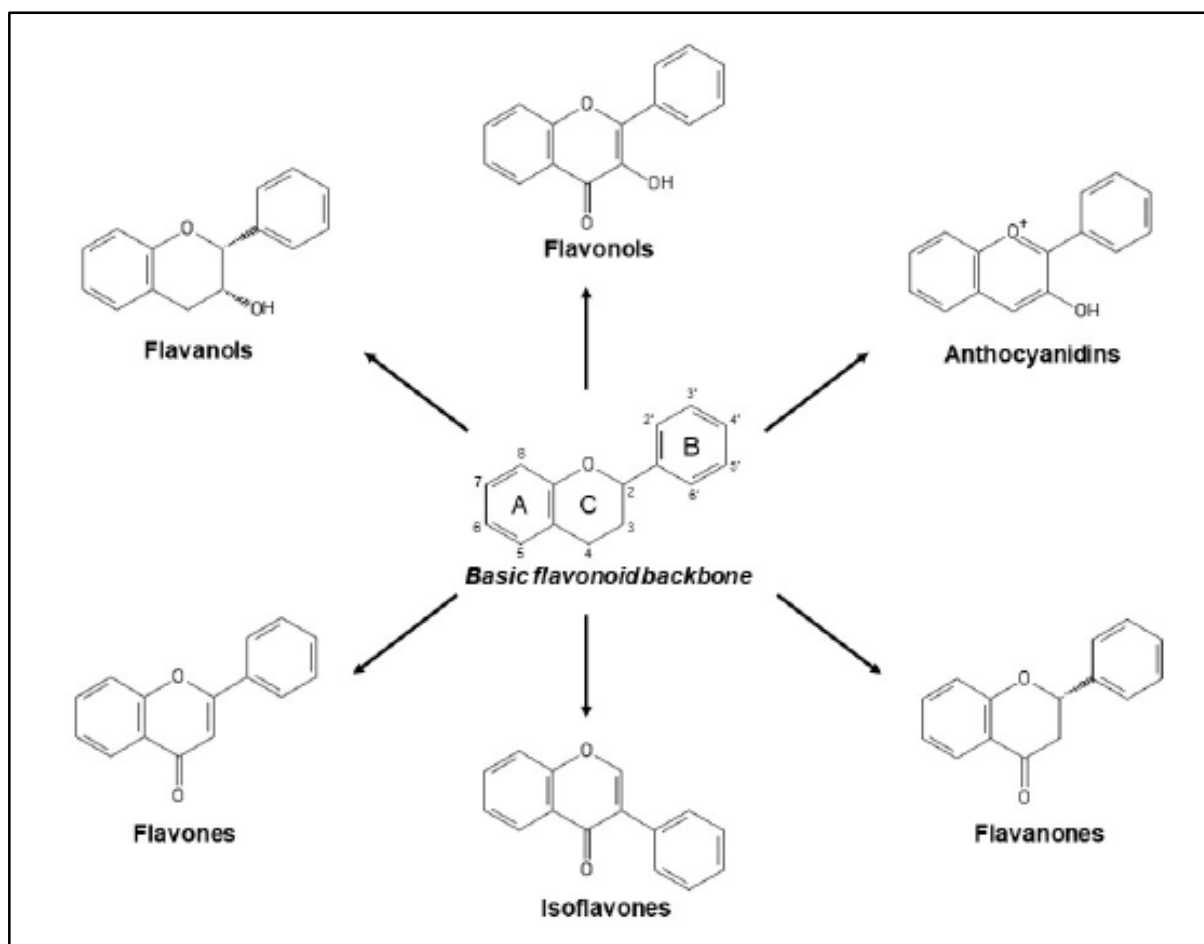


Figure 09 : Structure de base des flavonoïdes et principaux types de flavonoïdes (Cosme et al., 2020).

➤ Non-flavonoïdes

a. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des métabolites aromatiques secondaires qui confèrent la couleur, la saveur, et contribuant aussi aux caractéristiques organoleptiques typiques des aliments.

Ils sont classés en acides hydroxybenzoïques et acides hydroxycinnamiques, en raison de leurs deux structures carbonées distinctes, ainsi que de la position et du nombre de groupes hydroxyles sur le cycle aromatique. Les acides hydroxybenzoïques sont des dérivés de l'acide benzoïque, dont la structure est en C6-C1 et dont la structure est à sept atomes de carbone. Les acides hydroxycinnamiques sont des dérivés de l'acide cinnamique, dont la structure est en C6-C3 (Rashmi et Negi, 2020).

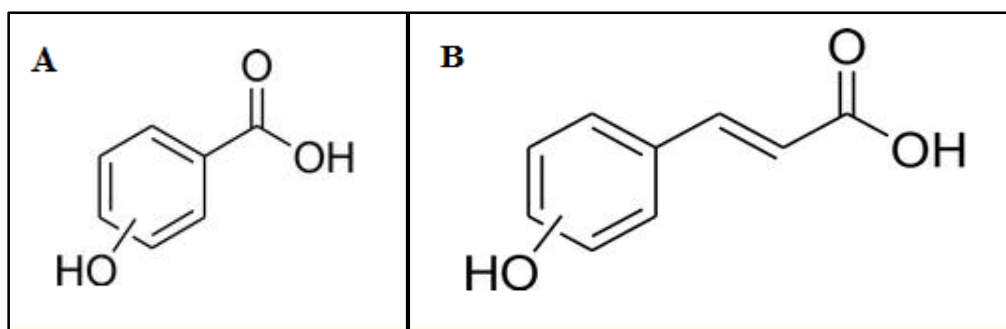


Figure 10 : Structure chimique de l'acide phénolique, **A** : l'acide hydroxybenzoïque et **B** : l'acide hydroxycinnamique (Al Mamari, 2021).

b. Tannins

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles (Aguilera-Carbo et al., 2008). Sur le plan structural, on distingue les tanins hydrolysables, esters d'acide phénolique, des tanins condensés plutôt des polymères de polyhydroxyflavan-3-ols (Fogliani., 2002).

✓ Tannins hydrolysables

Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (acide ou alcaline) ou enzymatique. Ils libèrent une fraction phénolique qui peut être soit de l'acide gallique (cas des gallotannins) soit un dimère de ce même acide appelé l'acide ellagique (cas des tannins ellagiques) et une fraction non phénolique qui est souvent du glucose (figure 11A) (Bossu et al., 2006 ; Bennick, 2002). Les tannins hydrolysables sont abondants dans le bois, l'écorce, les feuilles et les fruits des végétaux (Bossu et al., 2006).

✓ Tannins condensés

Les tanins condensés résultent de la polymérisation auto oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diols liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi proanthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de type A (Wollgast et al., 2000). Le degré de polymérisation varie considérablement de quelques molécules de flavanols à plus de 50 (figure 11B) (Bennick, 2002 ; Chira et al., 2008 ; Rahim et al., 2008).

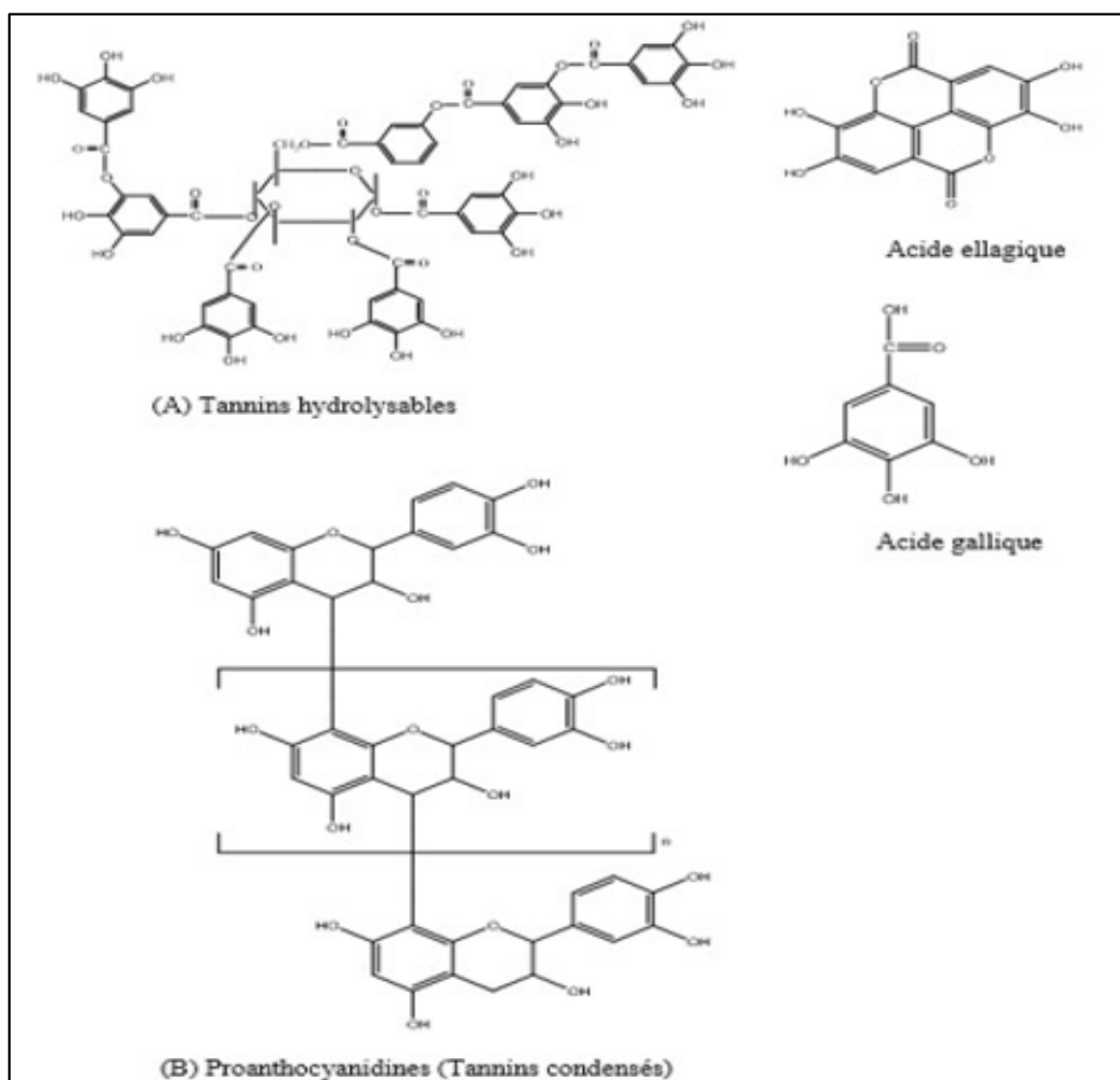


Figure 11 : Structures chimiques des tannins : **(A)** Tannins hydrolysables, **(B)** Tannins condensés (Naczki and Shahidi., 2004).

c. Lignines

Les lignines sont des phytoestrogènes synthétisés par l'union de deux résidus d'acide cinnamique ou de leurs parents biogéniques. Elles sont présentes dans tous les organes de nombreuses familles de plantes vasculaires, mais en faible concentration dans les céréales, les fruits, les noix et les légumes (Cosme et al., 2020).

d. Coumarines

Les coumarines sont des dérivés structuraux de l'acide o-coumarique. Présentes dans les plantes sous forme libre ou sous forme de glycosides coumariniques, elles absorbent les UV, ce qui leur confère leur fluorescence bleue caractéristique. On les trouve principalement dans

l'huile d'olive, l'avoine et les épices, et leurs principaux représentants sont la coumarine, l'ombelliférone, l'esculetine et la scopoletine (Cosme et al., 2020).

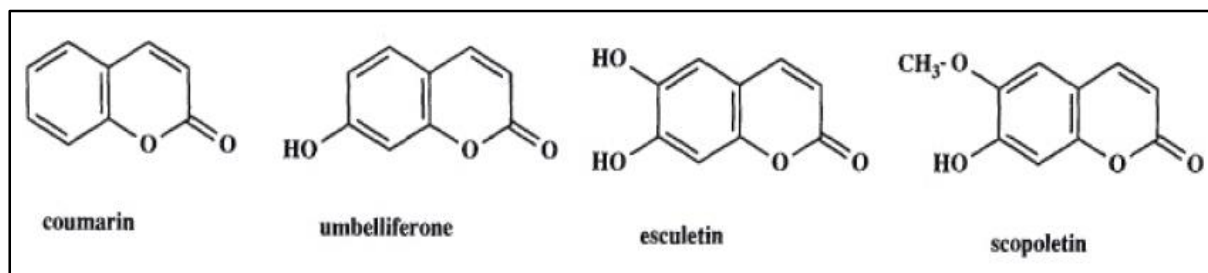


Figure 12 : Exemples de coumarines (Hussein et El-Anssary, 2018).

I.2.1.2.2. Terpénoïdes

Il s'agit d'un groupe vaste et diversifié de métabolites secondaires. Il contient également des métabolites primaires essentiels à la croissance et au développement des plantes. Les terpénoïdes sont des hydrocarbures oxygénés, tandis que les terpènes ne sont que de longues chaînes hydrocarbonées. Leur formule générale est : $(C_5H_8)_n$, où n représente le nombre d'unités isoprène à 5 atomes de carbone. On les appelle également composés isoprénoïdes. Les terpénoïdes sont classés selon le nombre d'unités isoprène présentes dans la molécule. On y trouve :

- **Hémi terpène** : Il est constitué d'une seule unité isoprène. Parmi ses exemples, on peut citer l'acide isovalérique de *Vaccinium myrtillus* et l'acide angélique isolé d'*Angelica archangelica*.
- **Monoterpène** : Il est constitué de deux unités isoprènes. Ils sont classés selon leur structure en hydrocarbures, alcools, cétones, esters d'alcools et aldéhydes. Parmi ces composés, on peut citer la carvone, le linalol, le limonène, l'acétate de linalyle et le citronellal.
- **Sesquiterpène** : Il possède trois unités isoprènes. Parmi ces composés, on trouve le caryophyllène et le farnésol.
- **Diterpène** : Il contient quatre unités isoprènes. Parmi les exemples de ce groupe figurent les gibbérellines, la cembrane, le phytane et le labdane.
- **Triterpènes** : Ils contiennent six unités isoprènes. La quassine est un exemple de triterpène.
- **Sesquaterterpène** : Il est composé de sept unités isoprène.
- **Tétraterpène** : Il contient huit unités isoprènes. Parmi ces composés, on trouve les caroténoïdes et les xanthophylles.

- **Polyterpène** : Il comprend des molécules comportant plus de huit unités isoprènes. Le caoutchouc naturel en est un exemple (**Anjali., 2022**).

I.2.1.2.3. Alcaloïdes

L'alcaloïde est une substance organique azotée (appartenant au vivant) d'origine végétale, à caractère alcalin et présentant une structure complexe. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique ; les alcaloïdes possèdent une activité pharmacologique significative.

Les alcaloïdes sont classés en trois groupes : les alcaloïdes vrais, les proto-alcaloïdes et les pseudo-alcaloïdes (**Badiaga., 2011**).

- **Les vrais alcaloïdes** : Sont des composés qui dérivent d'un acide aminé et d'un cycle hétérocyclique avec de l'azote, par exemple l'atropine, la nicotine, etc. (**Roy, 2017**).
- **Les proto-alcaloïdes** : Sont des composés qui contiennent un atome d'azote dérivé d'un acide aminé qui ne fait pas partie du cycle hétérocyclique, par exemple l'adrénaline, l'éphédrine, etc. (**Roy, 2017**).
- **Les pseudo-alcaloïdes** : Sont des composés qui ne proviennent pas d'acides aminés, par exemple la caféine, la théobromine, etc. (**Roy, 2017**).

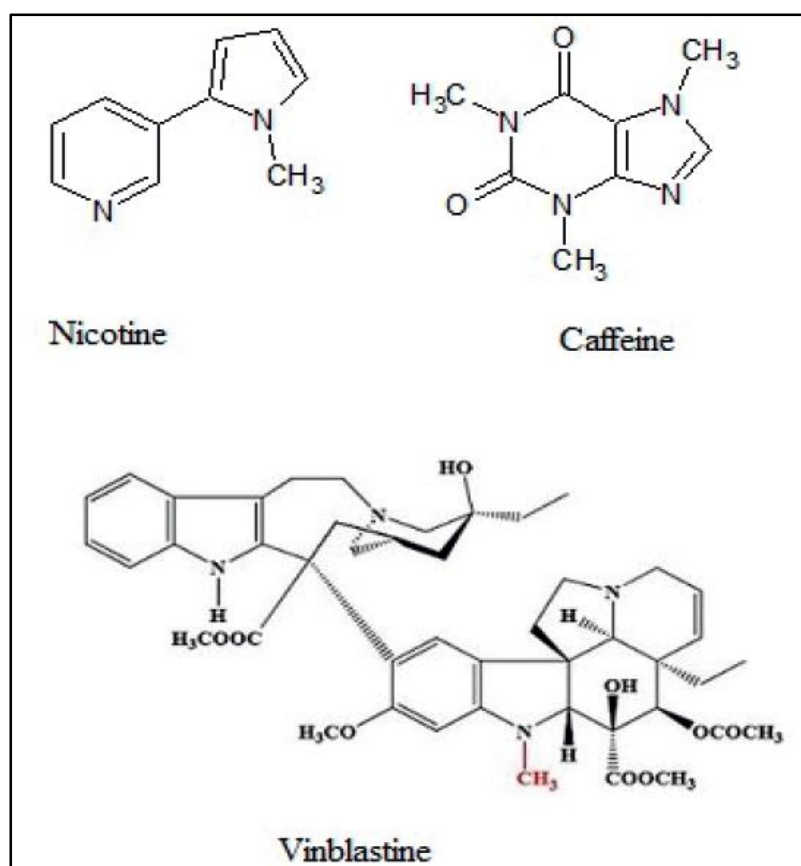


Figure 13 : Exemples d'alcaloïdes (**Hussein et El-Anssary, 2018**).

1.2.2. Activités biologiques des polyphénols

Les polyphénols suscitent un grand intérêt dans le domaine de la santé en raison de leur large éventail d'activités biologiques. De nombreuses études ont mis en évidence leurs propriétés antioxydantes, antivirales (Ulomskiy et al., 2020), antibactériennes (Abudunia et al., 2017), antidiabétiques (Ren et al., 2020) et anticancéreuses (Yang et al., 2020). Ils possèdent également des effets analgésiques, anti-inflammatoires et antipyrétiques (Javed et al., 2020), ainsi que des propriétés cardioprotectrices, neuroprotectrices, antiasthmatiques et antiseptiques. Par ailleurs, les polyphénols jouent un rôle dans la protection cérébrovasculaire, la régulation du cholestérol (effets hypocholestérolémiants), la protection du foie (effets hépato protecteurs) et présentent aussi des activités antifongiques et antithrombotiques (Ali et al., 2007).

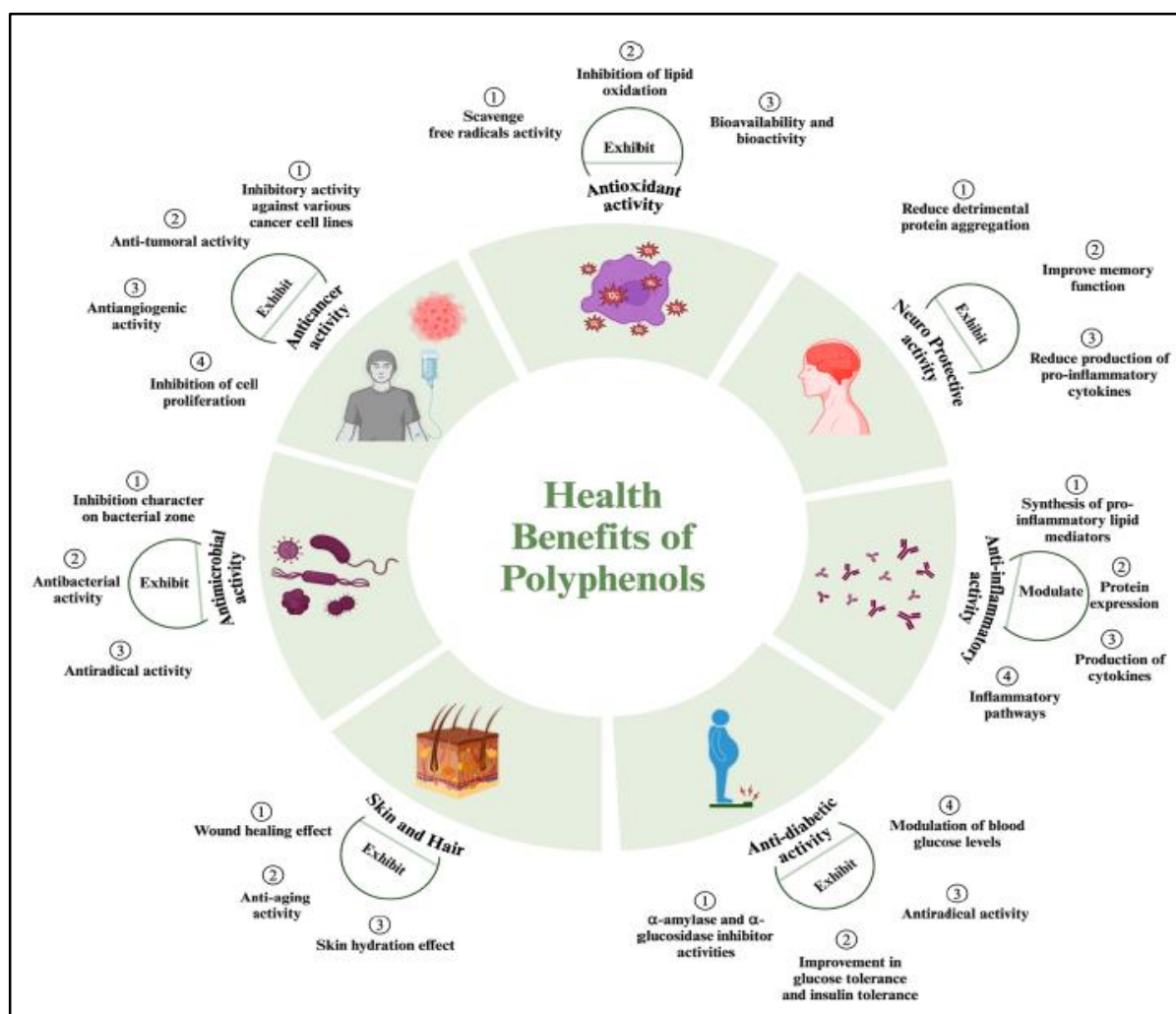


Figure 14 : Représentation des activités biologiques des polyphénols (Bolat et al., 2024).

I.2.2.1. Activité antioxydante

Les flavonoïdes sont des composés à forte activité antioxydante, agissant par plusieurs mécanismes : neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (ERO), inhibition des enzymes pro-oxydantes, chélation des ions métalliques, et soutien des systèmes antioxydants endogènes. Parmi les plus étudiés figurent la naringénine, l'api génine, la rutine (Bailly, 2020) et la taxifoline (Luo et al., 2018).

Les tanins, hydrolysables ou condensés, présentent une activité antioxydante 15 à 30 fois supérieure à celle des phénols simples (Peronny, 2005).

I.2.2.2. Activité antibactérienne

Les flavonoïdes présentent une activité antibactérienne notable contre plusieurs souches bactériennes comme *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ou *Enterobacter cloacae*, avec une efficacité variable selon les espèces et les conditions environnementales (Abdelkhalek et al., 2020).

Les tanins, exercent une action bactériostatique ou bactéricide, notamment l'acide tannique, qui inhibe la croissance de bactéries alimentaires et intestinales (Djahra et al., 2013).

I.2.2.3. Activité anticancéreuse

Les composés poly phénoliques, tels que l'isoxanthohumol, ont la capacité de stimuler les mécanismes naturels de défense contre le développement du cancer. Ils peuvent intervenir dès les premières étapes de l'initiation tumorale, notamment en contribuant à l'inactivation des agents mutagènes. Ce rôle protecteur repose en partie sur la capacité des tissus cibles à capter et à métaboliser ces substances potentiellement cancérogènes (Bailly., 2020).

I.2.2.4. Activité antiulcéreuse

Des études expérimentales chez le rat ont démontré l'efficacité de flavonoïdes comme la quercétine et la naringénine dans la prévention des lésions ulcéreuses et la protection de la muqueuse gastrique. La quercétine agirait par divers mécanismes, incluant la stimulation de la production de mucus, la neutralisation des radicaux libres et l'inhibition de la synthèse des leucotriènes. D'autres recherches ont également mis en évidence une corrélation entre les effets antiulcéreux de la quercétine, de la naringénine, de la rutine et du kaempférol, et leur capacité à inhiber le Platelet Activating Factor, une molécule à potentiel ulcérogène. (Vil et al., 2019).

I.2.2.5. Activité antivirale

Plusieurs recherches récentes ont exploré le pouvoir antiviral de diverses plantes. Des composés naturels, tels que certains alcaloïdes (citrusinine I, atropine, scopolamine) et glucides végétaux (mannose de *Cymbidium* et *Epipactis helleborine*), ont montré des effets antiviraux prometteurs contre le VIH, le CMV et le HSV (**Hazem et al., 2023**).

I.2.2.6. Activité antifongique

Les flavonoïdes possèdent une activité antifongique en agissant sur plusieurs mécanismes biologiques. Ils altèrent l'intégrité des membranes, perturbent les fonctions mitochondriales et inhibent la synthèse de composants essentiels à la croissance fongique, comme la paroi cellulaire, l'ADN et les protéines (**Hamed and Mojtaba., 2023**).

I.2.2.7. Activité antidiabétique

Une étude a montré que l'extrait méthanolique de *Berberis aristata* possède une activité antidiabétique notable. En plus d'améliorer le métabolisme glucidique, cet extrait contribue également à l'augmentation du HDL et à la régulation des taux de cholestérol sanguin (**Hamed and Mojtaba., 2023**).

I.2.2.8. Activité antiallergique

Les flavonoïdes, en particulier la quercétine et la lutéoline, possèdent une activité antiallergique reconnue, en limitant la libération de médiateurs pro-inflammatoires et en réduisant les symptômes associés (**Mwakalukwa et al., 2019**).

I.2.2.9. Activité anti-inflammatoire

Les polyphénols, notamment les flavonoïdes, présentent une activité anti-inflammatoire significative. Ils contribuent à réguler la réponse immunitaire et à réduire les processus inflammatoires, ce qui en fait des composés prometteurs pour la prévention et le traitement de pathologies inflammatoires (**Batista et al., 2015**).

Partie II :
Partie expérimentale

Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

La matière végétale utilisée dans ce travail est constituée des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora*. Celles-ci ont été récoltées en février 2025 sur des arbres cultivés au Centre Universitaire de Mila.

Les feuilles de la plante a été soigneusement rincée à l'eau courante afin d'éliminer les impuretés, puis mise à sécher dans une étuve à 37 °C pendant 4 à 5 jours, jusqu'à déshydratation complète. Une fois les feuilles entièrement sèches, elles ont été broyées, puis conservées à l'abri de la lumière dans des conditions appropriées en vue d'une utilisation ultérieure.



Figure 15 : Etapes de préparation de poudre des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora*.

II.1.2. Présentation de la zone d'étude

La wilaya de Mila, d'une superficie de 3 478 km², est située au nord-est de l'Algérie. Cette région se trouve dans l'Atlas tellien, à environ 33 km de la mer Méditerranée, et à une altitude comprise entre 100 et 1 500 m. Elle est bordée au nord par les wilayas de Jijel et Skikda, à l'est par la wilaya de Constantine, au sud par les wilayas de Batna et Oum El Bouaghi, et à l'ouest par la wilaya de Sétif (figure 15).

Le centre universitaire de Mila est situé à environ cinq kilomètres du chef-lieu de la wilaya de Mila, aux coordonnées 36°27'43" N, 6°12'53" E.



Figure 16 : Localisation géographique de la wilaya de Mila (Amira et al., 2022).

II.2. Méthodes

II.2.1. Extraction

La macération est une méthode traditionnelle d'extraction solide – liquide utilisé en préparation médicinale. Elle est considérée comme un moyen répandu et peu coûteux pour obtenir des produits naturels à partir de matières végétales. Dans ce procédé, les matières solides en poudre sont placées dans un récipient fermé et le solvant est ajouté. Le mélange est laissé pendant une longue période (de quelques heures à quelques jours) avec agitation. Le solvant doit alors diffuser à travers la paroi cellulaire et solubiliser le constituant présent dans la plante **(Rasul, 2018)**.

➤ Procédure

L'extraction des composés phénolique a été effectuée par macération en utilisant un rapport d'un gramme (1g) de poudre végétale pour dix (10) ml de solvant **(Park et al., 2023)**. La macération a été faite selon le protocole de **(Behbahani et al., 2013)**. Le mélange d'extrait méthanolique (30 g de poudre végétale + 300 ml de méthanol) a été mis en agitation pendant 24 heures, à température de laboratoire et à l'abri de la lumière. Le mélange aqueux (30 g de poudre végétale + 300 ml d'eau distillée) a été bouilli pendant 20 minutes à feu doux puis macéré sous agitation pendant 24 heures, à température de laboratoire et à l'abri de la lumière. Les mélanges obtenus sont ensuite filtrés à travers un papier filtre Whatman n°1, le filtrat a été concentré par un évaporateur rotatif à 40 °C et séché à l'étuve à 37 °C.

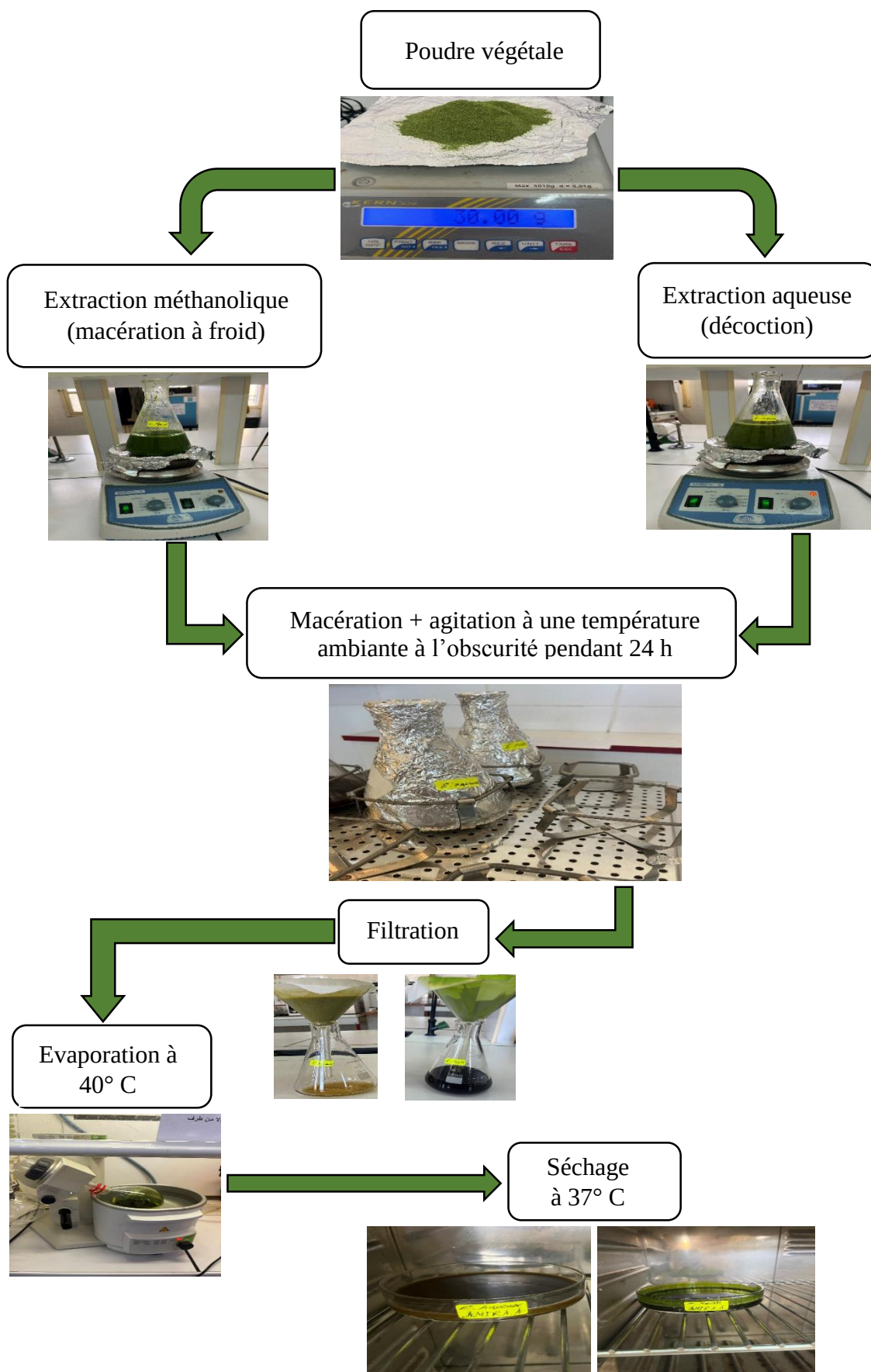


Figure 17 : Protocole de préparation des extraits bruts (méthanoliques et aqueux) des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora*.

II.2.2. Calcul du rendement des extraits

Le rendement des deux extraits est déterminé en calculant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu après évaporation et la masse initiale de la poudre végétale utilisée.

Ce rendement est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = M0 / M1 \times 100$$

Dont :

M0 : Poids du résidu sec évaporé.

M1 : Poids de poudre initiale.

II.2.3. Analyse qualitative (screening phytochimique)

L'analyse phytochimique est basée sur des réactions de coloration ou de précipitation, plus ou moins spécifiques à chaque groupe de principes actifs. Elle a été réalisée sur l'infusé 5% (l'infusé à 5% est préparé par l'ajout de 100 ml d'eau distillée chaude à 5 g de poudre végétale. Après 15 à 20 minutes de contact avec agitation manuelle, la solution est filtrée à l'aide d'un papier filtre), et la poudre végétale. Les tests phytochimiques ont été réalisés en suivant les méthodes décrites dans plusieurs articles (Vastrad et al., 2016 ; Kaur et al., 2018 ; Vyas et al., 2024 ; Nortjie et al., 2024).



Figure 18 : L'infusé à 5% préparé à partir de la poudre végétale.

Les résultats sont classés selon l'apparition en :

- Réaction franchement positive : (+ + +)
- Réaction positive : (+ +)
- Réaction moyennement positive : (+)
- Réaction négative : (-)

-  **Phénol** : Deux millilitres d'extrait ont été mélangés à une petite quantité de chlorure ferrique. L'apparition d'une coloration verte a révélé la présence de composés phénoliques.
-  **Flavonoïdes** : Cinq à six gouttes d'acide chlorhydrique concentré ainsi que quelques copeaux de magnésium ont été ajoutés à 2 ml d'extrait. L'apparition d'une coloration rouge a indiqué la présence de flavonoïdes.
-  **Tannins** : Trois gouttes de chlorure de fer (III) à 5 % ont été ajoutées à 1 ml d'extrait. La formation d'un précipité noir verdâtre a suggéré la présence de tannins.
-  **Glucides** : Deux millilitres d'extrait ont été versés dans un tube à essai, puis 1 ml d'acide sulfurique concentré a été ajouté le long des parois. La formation d'un anneau brun a permis de détecter la présence de glucides.
-  **Quinone** : Deux millilitres d'extrait ont été traités avec quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'une coloration rouge a mis en évidence la présence de quinones.
-  **Saponines** : Environ 0,5 mg de poudre végétale a été vigoureusement agité avec 5 ml d'eau distillée. La formation d'une mousse stable a révélé la présence de saponines.
-  **Stéroïdes** : Environ 1 ml d'extrait a été mélangé à du chloroforme (99 %) puis de l'acide sulfurique concentré (98 %) a été ajouté délicatement le long des parois du tube. L'apparition d'une coloration rouge a indiqué la présence de stéroïdes.
-  **Terpénoïdes** : Un volume de 0,5 ml d'extrait a été mélangé à 2 ml de chloroforme (99 %), puis à 3 ml d'acide sulfurique concentré (98 %). L'observation d'une coloration brun rougeâtre a suggéré la présence de terpènes.
-  **Protéines** : Deux millilitres d'extrait ont été prélevés, puis une à deux gouttes d'acide nitrique ont été ajoutées. Le développement d'une couleur jaune a signalé la présence de protéines.

II.2.4. Analyse quantitative (dosage des polyphénols)

➤ Mode opératoire

- **Préparation de la solution de Carbonate de Sodium Na_2CO_3 à 7.5%**
Une quantité de 7,5 g de Na_2CO_3 est dissous dans 100 ml d'eau distillée.
- **Préparation de la solution de Folin Ciocalteu dilué 10 fois**

Un volume de 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu concentré est dilué avec de l'eau distillée jusqu'à un volume final de 10 ml.

➤ Procédure

La méthode de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour déterminer la teneur en polyphénols totaux des extraits méthanolique et aqueux. Pour cela, 200 µl d'extrait de feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora* ont été mélangés à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué au dixième dans de l'eau distillée), puis à 0,8 ml de carbonate de sodium à 7,5 %. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (modèle 6850, JENWAY). Une courbe d'étalonnage a été établie à partir de l'acide gallique, utilisé comme étalon. Les concentrations en polyphénols ont été exprimées en milligrammes d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait (µg GAE/mg) (Saeed et al., 2023).

II.2.5. Activité antioxydante

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre instable possédant un électron non apparié sur l'atome d'azote (Maisuthisakul et al., 2008). Il s'agit d'un test colorimétrique basé sur la mesure, par spectrophotométrie, de la capacité d'un composé antioxydant à réduire le radical DPPH, initialement violet, en une forme réduite de couleur jaune. Cette réduction se produit lorsque l'électron libre du DPPH est neutralisé par un atome d'hydrogène fourni par l'antioxydant. L'absorbance est alors mesurée à 517 nm. Une faible absorbance indique une meilleure activité anti radicalaire (Ali et al., 2009).

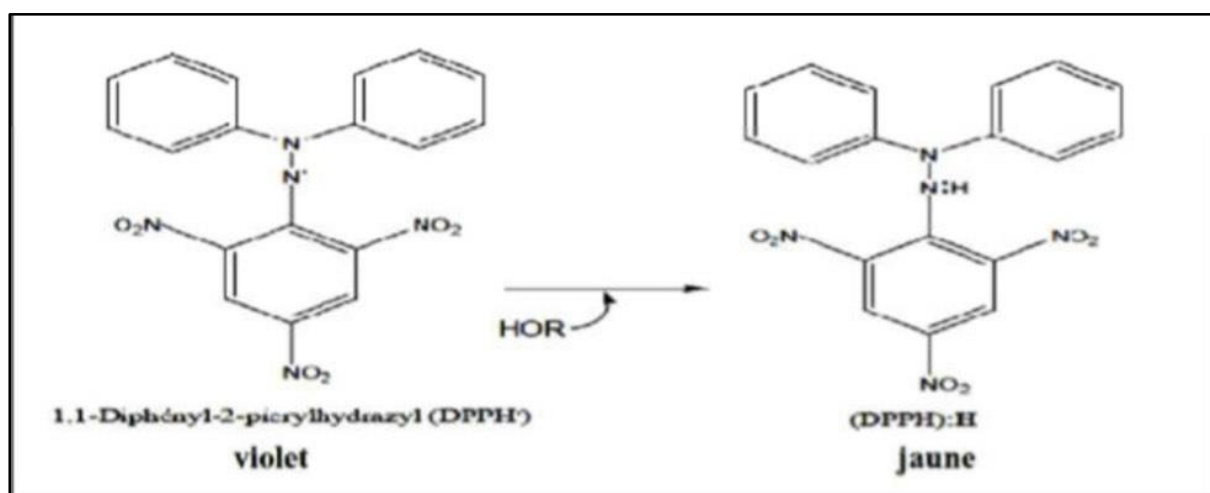


Figure 19 : Piégeage du radical libre DPPH (Ramadan, 2010).

➤ **Mode opératoire**

• **Préparation de la solution méthanolique de DPPH**

Une quantité de 6 mg de DPPH a été dissoute dans 100 ml de méthanol. L'absorbance de la solution a été mesurée à 517 nm et ajustée pour se situer entre 0,7 et 0,8 afin de garantir une concentration suffisante en radical libre DPPH dans le milieu réactionnel. Cette condition est nécessaire pour assurer le bon déroulement de la réaction de réduction du DPPH (violet) en DPPH réduit (jaune).

• **Préparation de la solution des extraits de la plante**

Dix milligrammes d'extrait sec des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora* ont été dissous dans 10 ml de méthanol ou d'eau distillée. Différentes concentrations des deux extraits ont ensuite été préparées : 12,5 ; 25 ; 50 ; 100 et 200 µg/ml.

➤ **Procédure**

Un volume de 400 µl de chaque concentration d'extrait a été ajouté à 1000 µl de la solution méthanolique de DPPH. Pour le contrôle négatif, 400 µl de méthanol ou d'eau distillée ont été mélangés à 1000 µl de la solution de DPPH dans les mêmes conditions. Après incubation dans l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible. Un standard de référence ; l'acide ascorbique, a également été analysés selon le même protocole.

La capacité à piéger le radical DPPH a été calculée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'Inhibition} = \left[\frac{A \text{ contrôle} - A \text{ extrait}}{A \text{ contrôle}} \right] * 100$$

Dont :

-**A contrôle** : est l'absorbance de la solution DPPH.

-**A extrait** : est l'absorbance de l'échantillon à une concentration donnée/standard.

L'analyse de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration inhibitrice CI_{50} , correspondant à 50 % d'inhibition.

Plus la valeur de la CI_{50} est faible, plus l'extrait présente une forte capacité à piéger les radicaux libres.

II.2.6. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits bruts des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora* a été testée in vitro contre quatre souches bactériennes pathogènes (tableau 02). La méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé a été utilisée pour évaluer l'effet antibactérien

des extraits, une méthode basée sur la mesure du diamètre des zones d'inhibition visibles autour des disques imprégnés d'un composé antimicrobien (Bubonja-Šonje et al., 2020).

Tableau 02 : Souches bactériennes testées.

Souche bactérienne	ATCC	Gram
<i>Escherichia coli</i>	25922	Négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Positif
<i>Bacillus subtilis</i>	6633	Positif

➤ **Stérilisation du matériel**

L'eau distillée, les tubes à essai, les milieux de cultures, les disques de 6 mm préparés de papier Whatman n°6, les embouts, l'eau physiologique et l'eau distillée ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 20 min.

➤ **Préparation des différentes concentrations des extraits**

Les extraits méthanolique et aqueux ont été dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) et l'eau distillé stérile respectivement pour préparer les différentes concentrations avec trois dilutions successives au demi (1/2 ,1/4 ,1/8). Sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 400 mg/ml.

➤ **Activation des souches bactériennes**

L'activation des souches bactériennes conservées pour obtenir une culture jeune constitue une étape préalable indispensable avant leur utilisation, car ces souches sont inactives à l'état de conservation. Pour ce faire, les souches sontensemencées dans un bouillon nutritif, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures. Les cultures ainsi obtenues sont ensuite utilisées pour la préparation de la suspension bactérienne.

➤ **Repiquage des bactéries**

Les souches bactériennes préalablement activées dans le bouillon nutritif sont prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile, puisensemencées en stries sur des boîtes de Petri contenant un milieu solide, généralement de la gélose nutritive préalablement coulée et solidifiée. Les boîtesensemencées sont ensuite incubées à 37 °C pendant 24 heures afin de permettre la croissance de colonies isolées et pures.

➤ **Préparation de l'inoculum (Suspension bactérienne)**

La suspension bactérienne a été préparée à partir des cultures jeunes de 18 à 24 h repiquées au préalable par la méthode de la strie sur milieu Muller Hinton (MH). Quelques colonies bien isolées (1 à 3 colonies) ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine et mises en

suspension dans 9 ml d'eau physiologique stérile. Cette suspension bactérienne est ajustée (ajout de la culture bactérienne ou ajout de l'eau physiologique) jusqu'à l'obtention d'une densité optique de 0.08 à 0.10 à une longueur d'onde de 625 m (**Bendahou et al., 2007**).

➤ **Préparation du milieu Mueller Hinton (MH)**

Environ 38 g de poudre déshydratée de Mueller-Hinton sont dissous dans 1 litre d'eau distillée. La solution obtenue est chauffée avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis stérilisée à l'autoclave à 121 °C pendant 20 minutes. Après refroidissement à environ 45–50 °C, le milieu stérile est coulé aseptiquement dans des boîtes de Petri stériles.

➤ **Préparation des disques**

Des disques de 6 mm de diamètre ont été préparés en papier Whatman n°6. Les disques sont placés dans des boîtes de Pétri en verre, puis stérilisés à l'autoclave à 121 °C pendant 20 minutes. Après stérilisation, ils doivent être conservés dans des conditions aseptiques jusqu'à leur utilisation.

➤ **Ensemencement**

L'ensemencement a été réalisé par écouvillonnage. Un écouvillon stérile a été trempé dans la suspension bactérienne, puis passé en stries successives sur toute la surface de la gélose (MH), en tournant légèrement la boîte entre chaque passage afin d'assurer une distribution homogène des bactéries. Cette méthode permet d'obtenir un tapis bactérien uniforme, essentiel pour une interprétation précise des diamètres d'inhibition autour des disques.

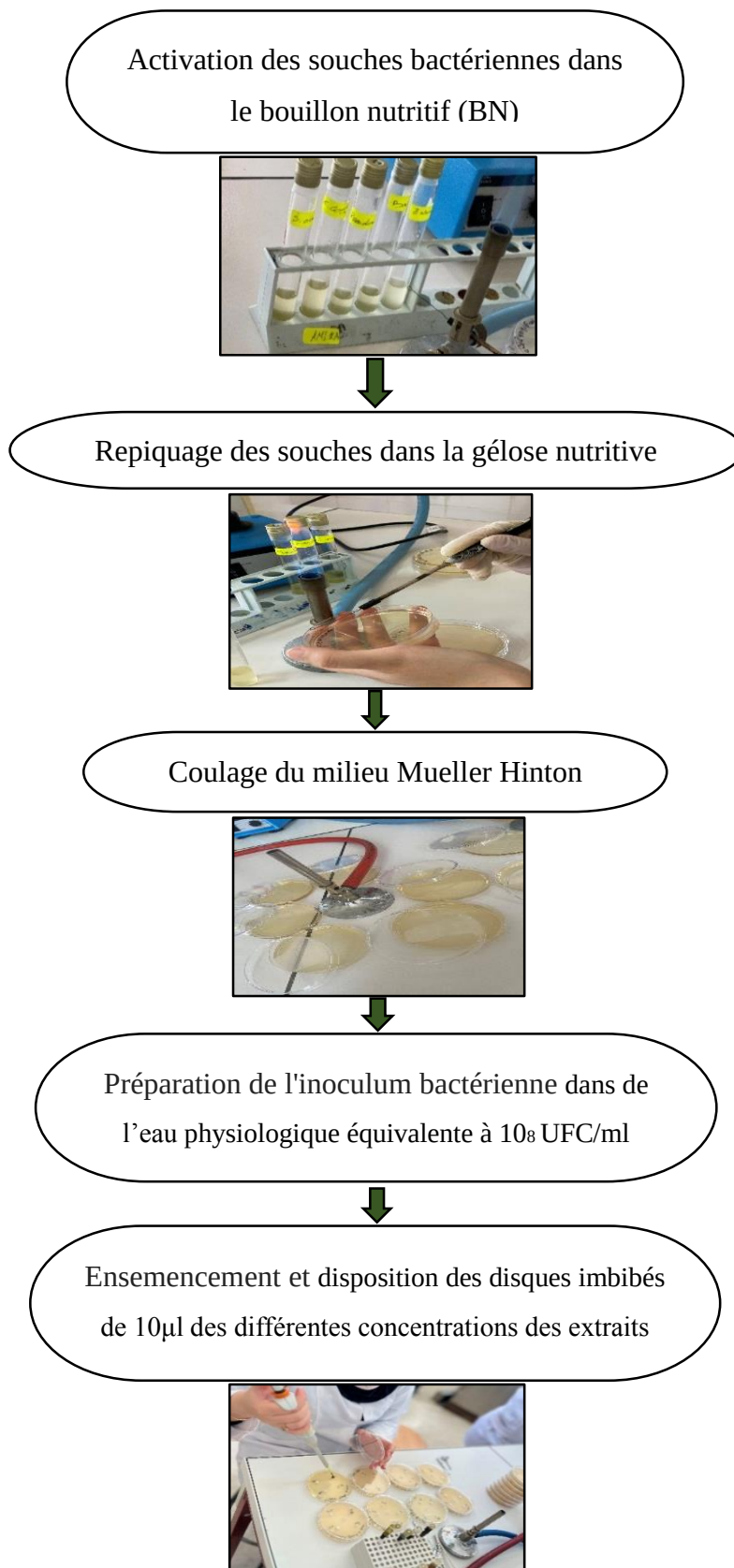


Figure 20 : Protocole de l'activité antibactérienne des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora*.

➤ **Expression des résultats**

La lecture se fait par la mesure précise du diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'une règle. Les résultats obtenus ont été soigneusement enregistrés et les niveaux de sensibilité des différentes souches bactériennes ont été résumés dans le tableau 03.

Tableau 03 : Niveaux de sensibilité des souches en fonction des diamètres des zones d'inhibition (Ponce et al. 2003).

Zone d'inhibition	Sensibilité
Diamètre < 8 mm	Nulle
Diamètre compris entre 9 à 14 mm	Sensible
Diamètre compris entre 15 et 19 mm	Très sensible
Diamètre > 20 mm	Extrêmement sensible

Partie 3 :
Résultats et discussion

III. Résultats et Discussion

III.1. Rendement de l'extraction

L'obtention des composés phytochimiques à partir des plantes repose sur plusieurs étapes essentielles, telles que le broyage, l'homogénéisation et l'extraction. Cette dernière constitue l'étape clé, car elle permet la récupération et l'isolement des composés d'intérêt à partir des matières végétales. Le choix du solvant utilisé pour l'extraction des composés phénoliques dépend étroitement de leur nature chimique et de leur polarité. En pratique, les solvants organiques sont les plus couramment employés pour extraire les divers constituants présents dans les plantes (Velickovic et al., 2006).

Le rendement d'extraction a été calculé par rapport au poids de la matière végétale sèche en poudre, et les résultats ont été exprimés en pourcentage (figure 21).

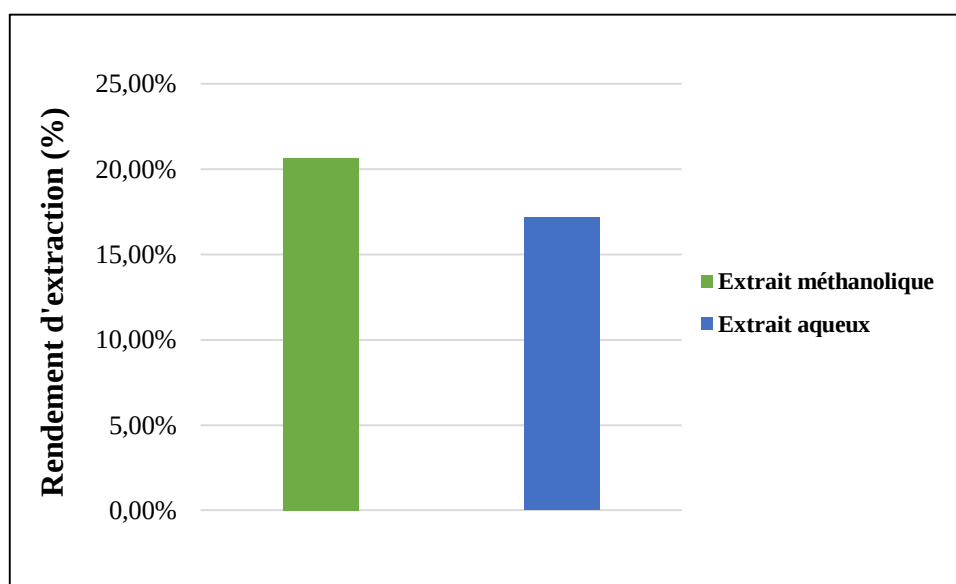


Figure 21 : Rendement en extraits sec.

Le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait méthanolique (20,67 %). Les différences observées entre le méthanol et l'eau traduisent une sélectivité d'extraction pour ces deux solvants. Le méthanol présente généralement une plus grande force de solvant et une solubilité plus large par rapport à l'eau, permettant une extraction plus rapide et plus efficace (Lee et al., 2024).

Le rendement d'extraction obtenu dans l'extrait méthanolique (20,67 %), soit un résultat supérieur à celui rapporté par Javed et al., (2013), qui était de 16 % pour la même espèce végétale. Pour l'extrait aqueux, le rendement obtenu (17,17 %) est supérieur de celui rapporté par Ewansiha et al., (2022), qui était de 4,02%.

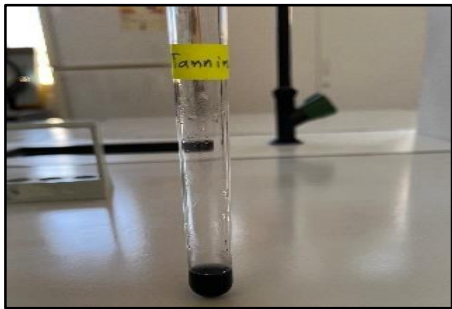
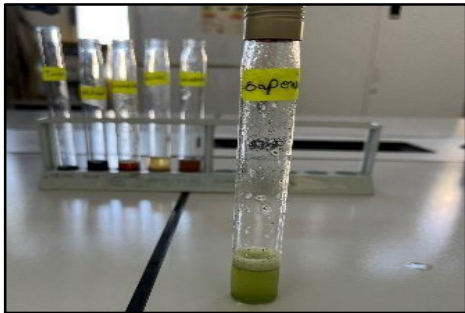
III.2. Analyse qualitative (screening phytochimique)

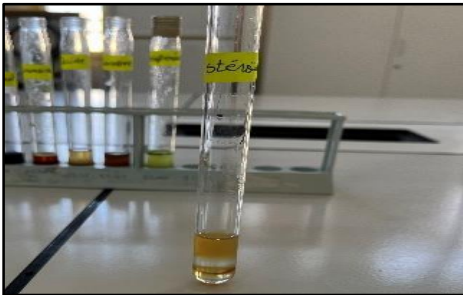
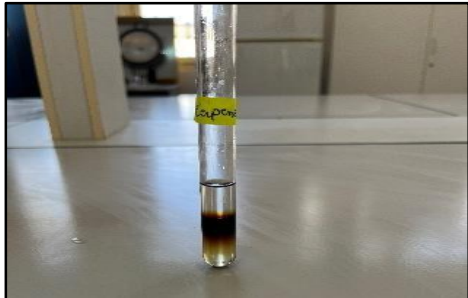
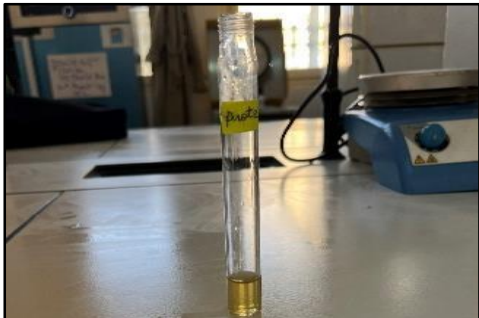
Cette analyse fournit une estimation préliminaire de la composition des extraits en détectant la présence ou l'absence de types spécifiques de métabolites grâce à des tests rapides basés sur des réactions physico-chimiques telles que le changement de couleur, la précipitation ou la turbidité.

L'analyse phytochimique qualitative a révélé la présence de neuf constituants phytochimiques dans la poudre de feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora* (tableau 04). Les composés phytochimiques détectés comprennent les phénols, les flavonoïdes, les tanins, les terpénoïdes, les glucides, les quinones, les saponines, les stéroïdes et les protéines.

Tableau 04 : Résultats du screening phytochimique des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora*.

Composants	Photos	Présence de substance
Phénols		+++
Flavonoïdes		+++

Tannins		+++
Glucides		+++
Quinones		+++
Saponines		+++

Stéroïdes		+++
Terpénoides		+++
Protéines		+

(+++)
(++) Forte présence de substance ; (+) faible présence de substance.

L'étude de **Javed et al., (2011)** a montré que l'extrait méthanolique contenait des constituants similaires, à l'exception des tanins. **Hassan et al., (2020)** ont détecté la présence des tanins, alcaloïdes et des saponines dans l'extrait aqueux des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora*. Par contre, l'étude de **Ramu et al., (2025)** a constaté que l'extrait méthanolique contenait des constituants similaires, à l'exception des phénols, protéines et quinones. De plus, l'extrait aqueux a révélé la présence de flavonoïdes, de phénols, de protéines, de stérols et de quinones. En comparaison, l'extrait d'éthyle acétate a montré des constituants similaires, à l'exception des protéines. Une autre étude de **Ewansiha et al., (2022)** a trouvé des constituants similaires dans l'extrait d'éthyle acétate ; leur étude de l'extrait aqueux a montré des constituants similaires, à l'exception des tanins. Alors que l'étude de **Lenny et al., (2024)** a révélé la présence

de terpénoïdes dans l'extrait d'hexane, de composés phénoliques dans l'extrait d'éthyle acétate et de composés phénoliques et de saponines dans l'extrait méthanolique.

III.3. Analyse quantitative (dosage des polyphénols)

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de (Saeed et al., 2023) avec le réactif de Follin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme Équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g EAG/mg d'E}$), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (figure 22).

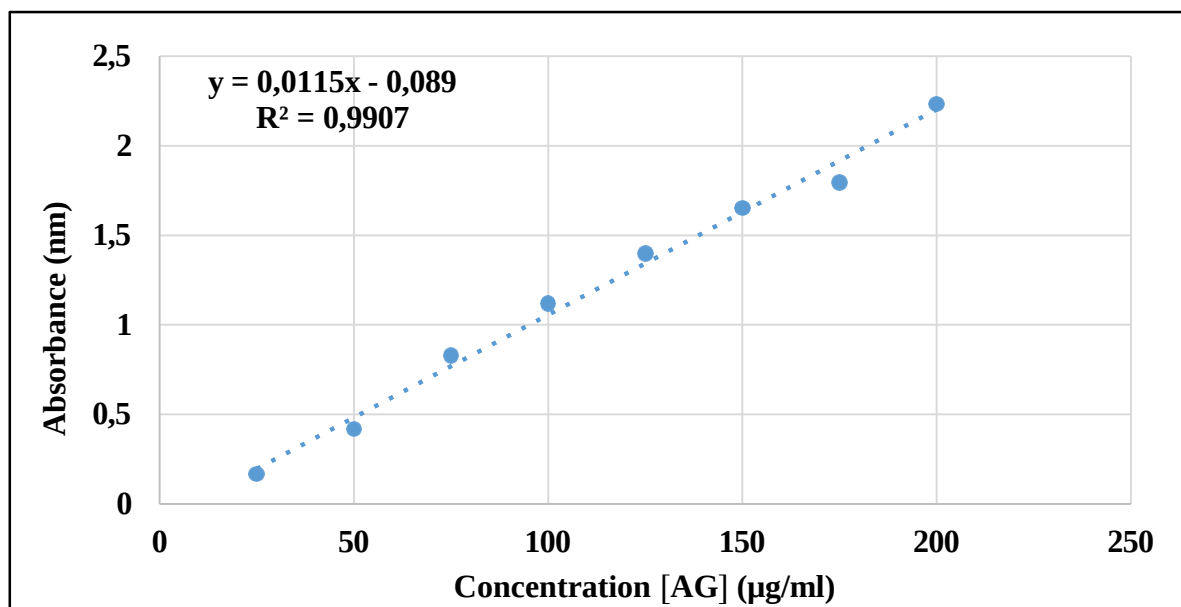


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

Les résultats du dosage des polyphénols ont mis en évidence la présence de ces composés dans les deux extraits bruts (méthanolique et aqueux) des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora*, avec des quantités variant en fonction du solvant d'extraction.

Les teneurs en phénols totaux varient de $62.38 \pm 1.92 \mu\text{g EAG /mg d'E}$ (extrait aqueux) à $200.64 \pm 0.98 \mu\text{g EAG /mg d'E}$ (extrait méthanolique) (figure 23 et 24).

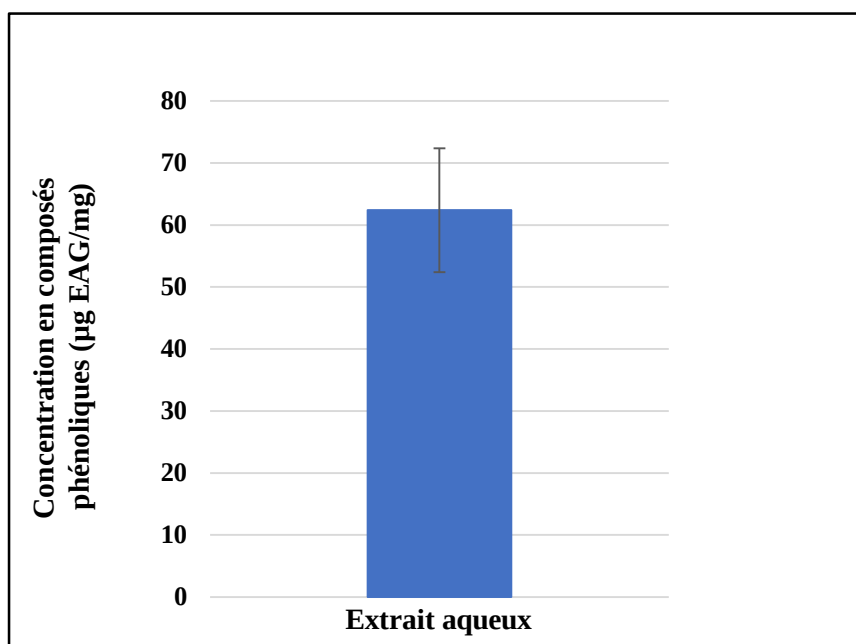


Figure 23 : Teneur des polyphénols de l'extrait aqueux des feuilles de la plante *E. citriodora*.

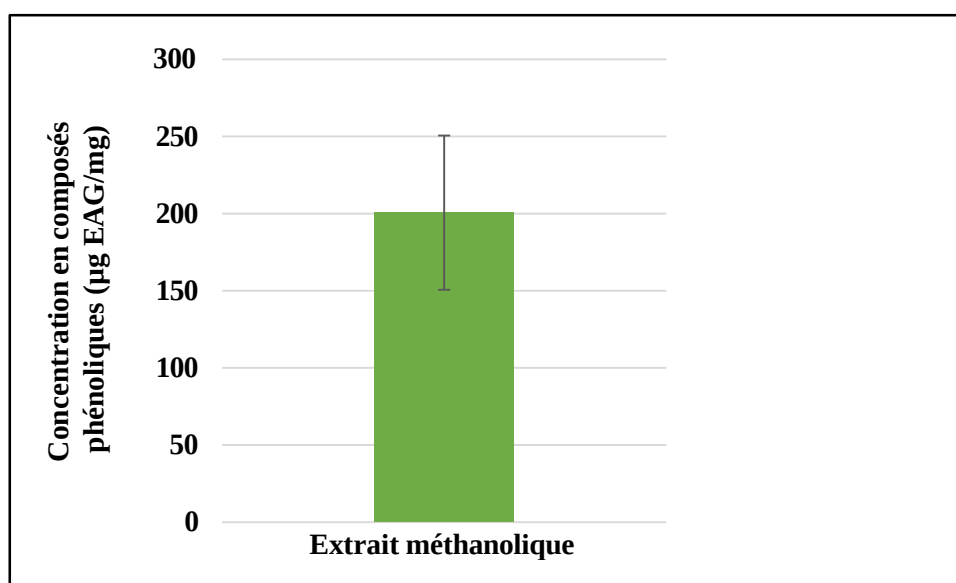


Figure 24 : Teneur des polyphénols de l'extrait méthanolique des feuilles de la plante *E. citriodora*.

La teneur la plus élevée en polyphénols totaux a été observée dans l'extrait méthanolique. Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Yelwa et al., (2021)**, qui ont également rapporté des teneurs en phénols totaux plus élevées dans l'extrait méthanolique (37,32 µg EAG/mg) que dans l'extrait au chloroforme (12,09 µg EAG/mg).

Nos résultats montrent que l'extrait méthanolique des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora* ($200,64 \pm 0,98$ µg EAG/mg) présente une teneur en polyphénols plus élevée que

celle rapportée pour des extraits hydro-éthanoliques de la même espèce par **Valdiviezo-Campos et al. (2024)**, qui était de 118,65 µg EAG/mg.

L'extrait aqueux ($62,38 \pm 1,92$ µg EAG/mg) présente une teneur légèrement inférieure à celle des infusions traditionnelles (68,31 µg EAG/mg) rapportée par **Valdiviezo-Campos et al. (2024)**.

III.4. Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant des extraits brutes (méthanolique et aqueux) a été évaluée à l'aide du test de piégeage du radical DPPH. Notant que les valeurs de la concentration inhibitrice (IC_{50}) exprimées en µg/ml, ont été déterminées graphiquement à partir de la droite de régression représentant le pourcentage d'inhibition ou l'absorbance en fonction de la concentration, pour chaque extrait ou standard testé.

Tableau 05 : IC_{50} de l'extrait méthanolique, aqueux et de l'acide ascorbique.

Standard / Extrait	IC_{50} (µg/ml)
Acide ascorbique	16.39 ± 12.38
Méthanolique	24.47 ± 16.15
Aqueux	57.08 ± 16.72

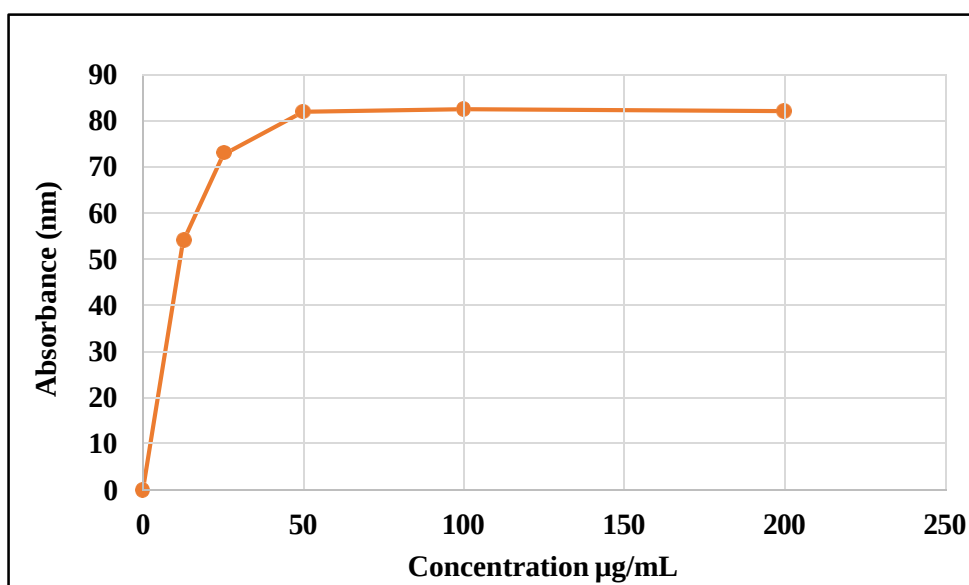


Figure 25 : Test de DPPH de l'acide ascorbique.

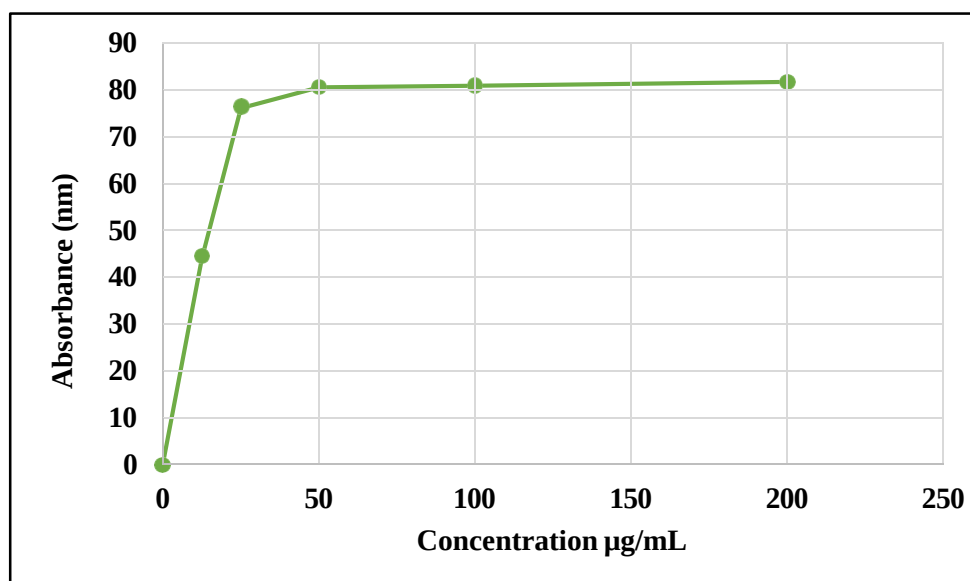


Figure 26 : Test de DPPH de l'extrait méthanolique.

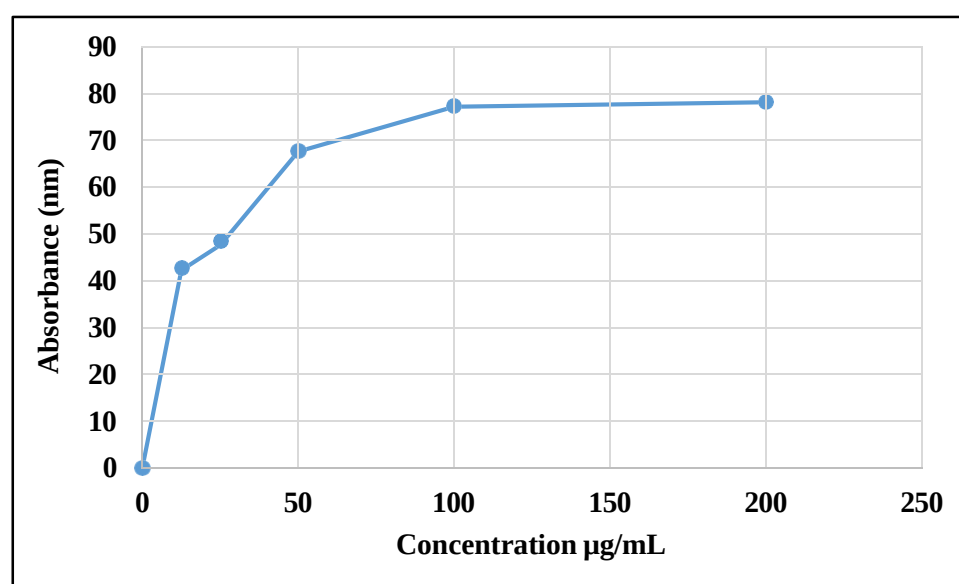


Figure 27 : Test de DPPH de l'extrait aqueux.

D'après le tableau 05, les deux extraits ont montré une activité antiradicalaire relativement faible par rapport à celle du standard (acide ascorbique). L'extrait méthanolique a présenté la meilleure activité, avec une IC_{50} de $24,47 \pm 16,15$, tandis que l'extrait aqueux affiche une IC_{50} de $57,08 \pm 16,72$. Il est important de noter que l'extrait méthanolique présente une teneur élevée en polyphénols, ce qui pourrait expliquer son efficacité antioxydante par rapport à l'extrait aqueux.

L'extrait méthanolique présente une efficacité antioxydante avec une IC_{50} de $24,47 \mu\text{g/ml}$, soit une activité supérieure à celle rapportée par **Lenny et al., (2024)** qui ont obtenu une

IC₅₀ de 65,13 µg/ml. Cette différence significative peut s'expliquer par l'optimisation des conditions d'extraction ou la qualité du matériel végétal utilisé.

Bien que l'extrait aqueux présente une activité antioxydante inférieure à celle de l'extrait méthanolique, ces résultats confirment le potentiel antioxydant de cette espèce végétale et suggèrent que le choix du solvant d'extraction influence considérablement l'efficacité de l'activité antioxydante, le méthanol permettant une meilleure extraction des composés phénoliques et flavonoïdes responsables de cette bioactivité.

III.5. Activité antibactérienne

Nous avons évalué l'activité antibactérienne de deux extraits bruts des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora* en utilisant la méthode de diffusion sur disque sur milieu gélosé Mueller-Hinton. Cette technique est très courante et facile à réaliser : elle consiste à déposer des disques imbibés d'extrait sur une gélose contenant des bactéries, puis à observer si une zone d'inhibition se forme autour des disques. Plus cette zone est grande, plus l'extrait est efficace contre les bactéries. Cette méthode est largement utilisée pour tester l'efficacité antibactérienne des substances naturelles, notamment des extraits végétaux.

Les valeurs des zones d'inhibition sont données dans, les tableaux 06 et 07 et leurs aspects sont montrés dans la figure 28.

Tableau 06 : Activité antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora*.

	Φ (mm)			
	Extrait Aqueux			
Concentration (mg/ ml) Souches	400	200	100	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22,71±3.23	16.62±2.17	10.51±0.72	9,35±0.49
<i>Staphylococcus aureus</i>	11.18±0.25	8.85±0.20	8.39±0.55	8.06±0.79
<i>Bacillus subtilis</i>	19,45±1.93	14,24±1.07	11,74±2.42	9,88±0.75
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-

Tableau 07 : Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora*.

Concentration (mg/ ml) Souches	Φ (mm)			
	Extrait méthanolique			
	400	200	100	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23.41±4.73	21.22±2.43	16.80±2.05	11.01±0.53
<i>Staphylococcus aureus</i>	11.28±2.16	9.55±154	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	22.07±1.06	15.97±5.75	15.54±0.06	12.66±2.72
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-

- Φ zone d'inhibition.

- Les valeurs indiquées sont des moyennes de deux mesures (Moyenne ± écart type).

- (-) pas d'activité.

L'étude de l'activité antibactérienne des extraits sur différentes bactéries, à Gram positif et à Gram négatif, montre que les diamètres des zones d'inhibition varient selon la souche testée.

D'après les tableaux 06 et 07 on remarque que les deux extraits ne présentent aucune activité contre *E. coli*, aucune zone d'inhibition n'étant visible autour des disques. Cependant *P. aeruginosa* représente la bactérie la plus sensible aux extraits suivis par *B. subtilis* et *S. aureus*.

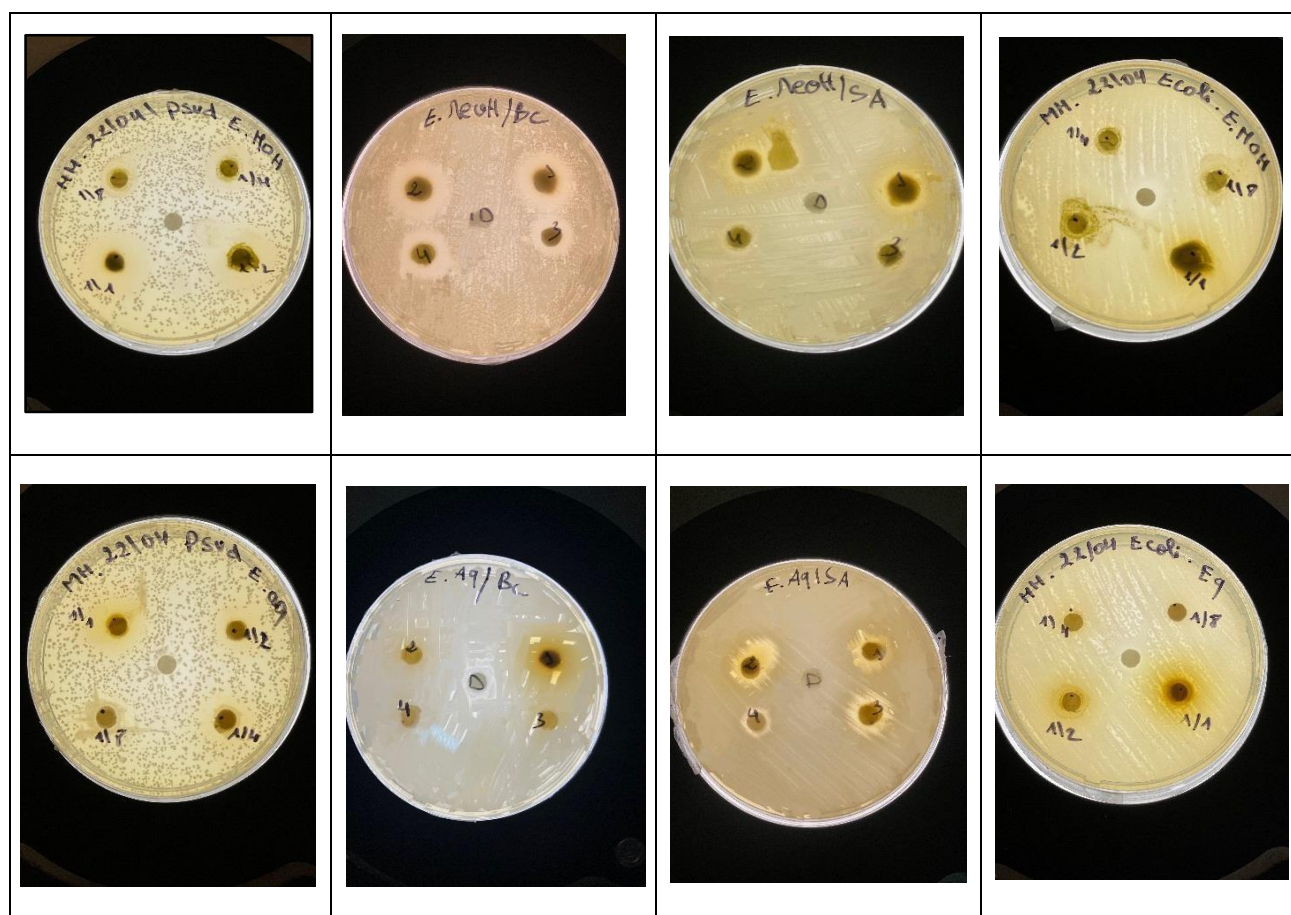
L'extrait méthanolique présente l'effet inhibiteur le plus puissant contre les souches sensibles. Pour chacune des souches le diamètre des zones d'inhibition augmente relativement avec l'augmentation de la concentration de l'extrait utilisé, dont les diamètres d'inhibition varient entre (23-9 mm) pour *P. aeruginosa*, (22-9 mm) pour *B. subtilis*, (11-8) pour *S. aureus* (tableau 06 et 07).

Le DMSO a été utilisé comme solvant (contrôle négatif), et les résultats indiquent qu'il est approprié, n'ayant aucun effet sur la croissance normale des différentes souches microbiennes.

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Okhale et ses collègues., (2022)**, qui ont également observé une sensibilité marquée de *Bacillus subtilis* à l'extrait méthanolique.

D'autre part, nos résultats sont en accord avec ceux de **Pathmanathan et al., (2010)**, qui ont montré que *Pseudomonas aeruginosa* est sensible aux extraits méthanolique et aqueux des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora*. Les résultats obtenus par **Perry et Wangchuk., (2023)**, portant sur les extraits bruts méthanoliques et aqueux des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora*, ont également démontré une activité antibactérienne modérée contre plusieurs bactéries Gram-positives et Gram-négatives, notamment *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*, ce qui est en accord avec nos propres résultats.

D'après les résultats obtenus, il a été constaté qu'*Escherichia coli* développe une résistance aux deux extraits. Nos observations sont en accord avec celles de **Koudoro et al., (2014)**, qui ont également rapporté la résistance de cette souche à l'extrait hydroéthanolique des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora*. Cette résistance pourrait être liée à la nature de la membrane bactérienne, probablement imperméable aux principes actifs contenus dans l'extrait (**Koudoro et al 2014**).



E.MeOh : extrait éthanolique ; **EAq**: extrait aqueux ; 1: 400mg/ml ; 2: 200mg/ml ; 3:100mg/ml 4:50mg/ml ; T: témoin négatif.

Figure 28 : Photos représentatives des zones d'inhibition obtenues vis-à-vis les souches testées (photos originales).

Conclusion

Dans le présent travail, la plante *Eucalyptus citriodora* a été étudié afin de déterminer la composition chimique et l'activité biologique des extraits bruts (aqueux et méthanoliques) de ses feuilles.

Les tests phytochimiques ont révélé la présence de divers composés bioactifs notamment, les phénols, les flavonoïdes, les tanins, les terpénoïdes, les glucides, les quinones, les saponines, les stéroïdes et les protéines.

L'étude quantitative a montré que l'extrait méthanolique présente un meilleur rendement d'extraction par rapport à l'extrait aqueux. L'analyse des teneurs en polyphénols a révélé une concentration nettement plus élevée dans l'extrait méthanolique que dans l'extrait aqueux.

L'évaluation de l'activité antioxydante in vitro a montré que les deux extraits bruts possèdent une capacité remarquable à piéger les radicaux libres DPPH. La meilleure activité est obtenue dans l'extrait méthanolique.

L'étude de l'activité antibactérienne a révélé que l'extrait méthanolique présente l'effet le plus marqué. *Pseudomonas aeruginosa* est la souche la plus sensible vis-à-vis les deux extraits, suivi de *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*. Alors qu'*Escherichia coli* est résistante à la fois à l'extrait aqueux et à l'extrait méthanolique.

Les résultats obtenus confirment l'intérêt pharmacologique des feuilles de la plante *Eucalyptus citriodora* en tant que source de composés naturels bioactifs, susceptibles d'être valorisés à des fins thérapeutiques.

En perspective, il serait pertinent de poursuivre les investigations en explorant les axes suivants :

- Fractionner et isoler les molécules responsables des différentes activités biologiques, afin d'identifier les principes actifs majeurs.
- Réaliser les tests de toxicité, aussi bien in vitro qu'in vivo, pour évaluer la sécurité d'utilisation des extraits dans un cadre thérapeutique.
- Approfondir l'évaluation biologique, dans le but d'explorer d'autres activités pharmacologiques potentielles, telles que les effets anticancéreux, anti-inflammatoires, ou encore d'autres propriétés d'intérêt.

Références bibliographiques

A

- **Abdelkhalek A., Salem M Z., Ali H M., Kordy A M., Salem A Z & Behiry S I. (2020).** Antiviral, antifungal, and insecticidal activities of Eucalyptus bark extract: HPLC analysis of polyphenolic compounds. *Microbial Pathogenesis*, 104383.
- **Abudunia A M., Marmouzi I., Faouzi M E A., Ramli Y., Taoufik J., El Madani N & Ibrahimi A. (2017).** Anticandidal, antibacterial, cytotoxic and antioxidant activities of *Calendula arvensis* flowers. *Journal de mycologie medicale*, 27(1), Pp.90-97.
- **Aguilera-Carbo A., Augur C., Prado-Barragan L A., Favela-Torres E., Aguilar C N. (2008).** Production microbienne d'acide ellagique et biodégradation des ellagitannins . *Applied Microbiologie appliquée et biotechnologie*, Volume 78, pages 189–199.
- **Akl E M., Younos M A. (2024).** A Comparative Study on Bioactive Compounds and Biological Activities of ethanolic extracts of *Saussurea costus* and *Withania somnifera* The egyptian journal of botany (ejbo). doi: 10.21608.
- **Ali M B., Hahn E J & Paek K Y. (2007).** Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in *Panax ginseng* bioreactor root suspension cultures. *Molecules*, 12(3), Pp.607-621.
- **Ali B., Mohamed H., Rafik B., Imen L., Yosra Triki-Ellouz., Moncef N.(2009).** Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases *Food Chemistry* ,Volume 114, Issue 4, Pages 1198-1205.
- **Al Mamari H H. (2021).** Phenolic compounds: Classification, chemistry, and updated techniques of analysis and synthesis: *Phenolic Compounds - Chemistry, Synthesis, Diversity, Non-Conventional Industrial, Pharmaceutical and Therapeutic Applications*. F. A. Badria (Ed.). doi: 10.5772/intechopen.98958.
- **Álvarez X., Cancela Á., Merchán Y., Sánchez Á. (2021).** Anthocyanins, Phenolic Compounds, and Antioxidants from Extractions of Six *Eucalyptus* Species. doi:10.3390.
- **Amira A, Bounamous A, Kouba Y, Kadjoudj N, Zeroual S, Boubendir A, Boularouk Y. (2022).** Sand Flies (Diptera : Psychodidae): Fauna and Ecology in the Northeast of Algeria. *Journal of Medical Entomology*, 59(3), 855–864. <https://doi.org/10.1093/jme/tjac030>.

- **Anjali S M S. (2022).** Métabolites secondaires : définition, classes et fonctions (partie 1). Plant Cell Technology.
- **Ansari P., Flatt P R., Harriott P., Abdel-Wahab Y H A. (2021).** Insulinotropic and Antidiabetic Properties of Eucalyptus citriodora Leaves and Isolation of Bioactive Phytomolecules. J. Pharm. Pharmacol. 73, 1049–1061.
- **Ansari P., Choudhury S T., Abdel-Wahab Y H A. (2022).** Insulin Secretory Actions of Ethanol Extract of Eucalyptus citriodora Leaf, Including Plasma DPP-IV and GLP-1 Levels in High-Fat-Fed Rats, asWell as Characterization of Biologically Effective Phytoconstituents. Metabolites, 12, 757.
- **Arjun P., Shivesh J., Alakh N S. (2009).** Antidiabetic Activity of Aqueous Extract of Eucalyptus citriodora Hook. in Alloxan Induced Diabetic Rats. Pharmacogn. Mag. 5, 51–54.

B

- **Badiaga M. (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Autre Université Blaise Pascal - ClermontFerrand II, Français. ffNNT : 2011CLF22187.
- **Bailly C. (2020).** Molecular and cellular basis of the anticancer activity of the prenylated flavonoid icaritin in hepatocellular carcinoma. Chemico-Biological Interactions, 109124.
- **Batista D., Falé P L., Serralheiro M L., Araújo M E., Madeira P J., Borges C & Rauter A P. (2015).** New In Vitro Studies on the Bioprofile of Genista tenera Antihyperglycemic Extract. Natural products and bioprospecting, 5(6), Pp.277-285.
- **Batra P., Sharma A K. (2013).** Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives Biotech , doi: 10.1007/s13205-013-0117-5.
- **Behbahani B A., Yazdi F T., Mortazavi A., Zendeboodi F., Gholian M M., Vasiee A. (2013).** Effect of aqueous and ethanolic extract of *Eucalyptus camaldulensis* L. on food infection and intoxication microorganisms “in vitro”. Journal of Paramedical Sciences (JPS). Vol.4, No.3 ISSN 2008-4978.
- **Bendahou M., Nenyoussef M., benkhada D et Elissacosta J. (2007).** Influence of the processes extraction on essentialoli of *origanumgl and ulosum* J. of applied sciences. 8: 1152-1157.
- **Bennick A. (2002).** Interaction des polyphénols végétaux avec les protéines salivaires. PMID :12097360. doi : 10.1177/154411130201300208.

- **Bhuyan D J., Vuong Q V., Bond D R., Chalmers A C., van Altena I A., Bowyer M C., Scarlett C J. (2017).** Exploring the Least Studied Australian Eucalypt Genera: Corymbia and Angophora for Phytochemicals with Anticancer Activity Against Pancreatic Malignancies. *Chem. Biodivers.* 14, e1600291.
- **Bolat E., Saritas S., Duman H., Eker F., Akdasci E., Karav S., Witkowska A M. (2024).** Polyphenols: Secondary Metabolites with a Biological Impression. *Nutrients.* 16, 2550. doi:10.3390.
- **Bossu C M., Ferreira E C., Chaves F S., Menezes E A. (2006).** Flow injection system for hydrolysable tannin determination. *Microchemical Journal* Volume 84, Issues 1–2. doi:10.1016.
- **Bruneton J., (1999).** pharmacognosy Phytochemistry medical plants lavoisiepublishing nUSA, New York 2: aupplagan sp.
- **Bubonja-Šonje M., Knežević S and Abram M. (2020).** Challenges to antimicrobial susceptibility testing of plant- derived polyphenolic compounds. *Arh Hig Rada Toksikol* doi:10.2478.

C

- **Chijioke S C., Onuoha C H and Chukwudoruo C S. (2024).** Bioactive compositions and identification of functional groups of selected medicinal plants. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, doi:10.30574.
- **Chira K., suh J-H et teissède P-L. (2008).** Les polyphénols de raisin. *phytothérapie*, 6, pp: 75-82.
- **Cosme P., Rodríguez A B., Espino J., and Garrido M. (2020).** Plant Phenolics: Bioavailability as a Key Determinant of Their Potential Health-Promoting Applications. *Antioxidants*, 9, 1263; doi:10.3390.

D

- **Daroui-Mokaddem Habiba. (2012).** Etude phytochimique et biologique des especes eucalyptus globulus (myrtaceae), smyrniumolusatrum (apiaceae), asteriscusmaritimus eT chrysanthemumtrifurcatum (asterarceae).
- **Djahra A B., Bordjiba O., & Benkherara S., (2013).** Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). *Phytothérapie*, 11(6), Pp.348-352.

E

- **El-Saadony M T., Saad A M., Mohammed D M., Korma S A., Alshahrani M., Ahmed A E., Ibrahim E H., Salem H M., Alkafaas S S., Saif A M., Elkafas S S., Fahmy M A., Abd El-Mageed T A., Abady MM., Assal HY., El-Tarabily M K., Mathew B T., AbuQamar S F., El-Tarabily K A and Ibrahim S A. (2025).** Medicinal plants:bioactive compounds, biological activities, combating multidrug-resistant microorganisms, and human health benefits - a comprehensive review. Front Immunol. doi:10.3389.
- **Erb M A and Kliebensteinb D J. (2020).** Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy; Plant Physiology, Vol. 184, pp. 39–52, American Society of Plant Biologists. All Rights Reserved 39.
- **Ewansiha J U., Adeleke A J., Orji L S., Kolawole I D. (2022).** Therapeutic potency of lemon-scented gum (*eucalyptus citriodora*) leaf extract for the development of antibacterial drug. Pol. J. Natur. Sc. Vol 37(3): 311–344. doi:10.31648.
- **Erau P., (2019).** L'eucalyptus : botanique, composition chimique, utilisation thérapeutique et conseil à l'officine. Thèse de doctorat, Université de Limoges. P 226.

F

- **Fogliani B. (2002).** De la connaissance physiologique des Cunoniaceae endémiques de la nouvelle-Calédonie, à la recherche des caractéristiques physico-chimiques et biologiques de leurs substances bioactives d'intérêt. Thèse de Doctorat en physiologie végétale et phytochimie, pp 42-52.
- **Freddy Pessel. (2013).** Synthèse éco-compatible de flavonoïdes fonctionnalisés par le glucose comme antioxydants potentiels. Autre. Université Paris Sud - Paris XI. Français.ffNNT: 2013PA112235.

G

- **GBIF. (2020).** (Global Biodiversity Information Facility). *Eucalyptus citriodora*. Hook, 1848.Publié dans: T. L. Mitchell, J. exped. Trop. Australia 235 1848. Source: Catalogue of Life.

H

- **Hamed Z and Mojtaba A B. (2023).** Secondary Metabolites: Alkaloids and Flavonoids in Medicinal Plants DOI: 10.5772/intechopen.108030.
- **Hassan A., Abu Hafsa S H., Elghandour M M Y., Ravi Kanth R P., Salem M M Z., Anele U Y., Pandu R R., Salem A Z M. (2020).** Influence of *Corymbia citriodora* leaf extract on growth performance, ruminal fermentation, nutrient digestibility, plasma antioxidant activity and faecal bacteria in young calves. *Jornal of Animal Feed Science and Technology*.volume 262.doi:10.1016.
- **Hazem S E., Ippolito C., and Amira A M. (2023).** A Comprehensive Review on the Biological, Agricultural and Pharmaceutical Properties of Secondary Metabolites Based-Plant Origin.
- **Hlatshwayo S., Thembane N., Krishna S B N., Gqaleni N., Ngcobo M. (2025).** Extraction and Processing of Bioactive Phytoconstituents from Widely Used South African Medicinal Plants for the Preparation of Effective Traditional Herbal Medicine Products: A Narrative Review. *Plants* doi: 10.3390.
- **Hussein R A and El-Anssary A A. (2018).** Plants Secondary Metabolites: The Key Drivers of the Pharmacological Actions of Medicinal Plants; Provisional chapter. doi: 10.5772.

I

- **Ibrahim j A., Mustapha B., Ogah J I., Egharevba H O. (2018).** Comparative Pharmacognostic and Chemical analyses of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh and *Eucalyptus citriodora* (Hook). *J. Chem Soc. Nigeria*, Vol. 43, No. 3, pp 560 -568.

J

- **Javed F., Jabeen Q., Aslam N., & Awan A M. (2020).** Pharmacological evaluation of analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of ethanolic extract of *Indigofera argentea* burm. F. *Journal of Ethnopharmacology*, 112966.
- **Javed S., Shoaib A., Mahmood Z., Mushtaq S., Iftikhar S. (2013).** Analysis of phytochemical constituents of *Eucalyptus citriodora* L. responsible for antifungal

activity against post-harvest fungi; Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters, 26:18, 1732-1736; doi.org/10.1080/14786419.2011.607451.

- **Javed S., Shoaib A., Mahmood Z., Mushtag S and Iftikhar S. (2011).** Analysis of phytochemical constituents of *Eucalyptus citriodora* L. responsible for antifungal activity against post-harvest fungi. Formerly Natural Product Letters Volume 26, Issue 18 .doi :10.1080.

K

- **Kaur S., Dr Gupta S., Gautam P B. (2018).** Phytochemical analysis of Eucalyptus leaves extract. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry; 8(1): 2442-2446.
- **Koziol N. (2015)** Huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, d'Eucalyptus radiata et de Corymbia citriodora : qualité, efficacité et toxicité. Thèse pour obtenir le Diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Université de Lorraine, France.
- **Koudoro Y A., Cokou P A D., Boniface B., Yèhouénou., Fidèle P T., Guy A A, Felicien A., Dominique C K., Sohounhloué. (2014).** phytochemistry, antimicrobial and antiradical activities evaluation of essential oils, ethanolic and hydroethanolic extracts of the leaves of eucalyptus citriodora hook from benin. Scientific Study & Research. Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry.ISSN 1582-540X. 15 (1), pp. 059 – 073.
- **Kumar S A., Singh S., Kumari P., Rasane P. (2021).** Eucalyptus: phytochemical composition, extraction methods and food and medicinal applications.Advances in Traditional Medicine. doi :10.1007.

L

- **Lee J E., Jayakody J T M., Kim J I., Jeong J W., Choi K M., Kim T S., Seo C., Azimi I, Hyun J., Ryu B. (2024).** The Influence of Solvent Choice on the Extraction of Bioactive Compounds from Asteraceae: A Comparative Review Foods.doi:10.3390.
- **Lenny S., Sembiring H B., Sinaga M Z E. (2024).** In Vitro and in Silico Antioxidant Activity of Lemon-scented Gum (*Eucalyptus citriodora* Hook.) Cultivated in North Sumatra. Trop J Nat Prod Res. 8(8): 8101 – 8105 doi: 10.26538.
- **Luo X., Cui J., Zhang H., Duan Y., Zhang D., Cai M & Chen G. (2018).** Ultrasound assisted extraction of polyphenolic compounds from red sorghum (*Sorghum bicolor* L.) bran and their biological activities and polyphenolic compositions. Industrial Crops and Products, 112, Pp.296-304.

M

- **Maisuthisakul P., Pasuk S and Ritthiruangdej P. (2008).** Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis* ,21, pp:229-240.
- **Miguel M G., Custódia G., Maria D A., Soraia L., Maria L F., Cristina M., Isabel C G., Javier V and Ana C F. (2018).** Antibacterial, Antioxidant, and Antiproliferative Activities of *Corymbia citriodora* and the Essential Oils of Eight *Eucalyptus* Species. *Medicines*, doi:10.3390.
- **Moges G W., Manahelohe G M and Asegie M A. (2024).** Phenolic, Flavonoid Contents, Antioxidant, and Antibacterial Activity of Selected *Eucalyptus* Species. *Preprints.org* (www.preprints.org). doi:10.20944/preprints202403.1427.v1.
- **Mwakalukwa R., Ashour A., Amen Y., Niwa Y., Tamrakar S., Miyamoto T., & Shimizu K. (2019).** Anti-allergic activity of polyphenolic compounds isolated from olive mill wastes. *Journal of Functional Foods*, 58, Pp.207-217.

N

- **Nacz M and Shahidi F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, pp : 95–111.
- **Nait achour k. (2012).** Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'*eucalyptus* poussant dans la région de Tizi Ouzou (ressource textuelle, sauf manuscrits) thèse algérienne.
- **Nair G., Raja S S S., Vijayakumar R. (2022).** Introductory chapter: Secondary metabolites – An overview. *Trends and Reviews*. doi:10.5772.
- **Nawrot-Chorabik K., ORCID Sulkowska M., Gumulak N. (2022).** Métabolites secondaires produits par les arbres et les champignons : réalisations à ce jour et défis restants. *Forêts*. doi :10.3390.
- **Nortjie E., Basitere M., Moyo D., Nyamukamba P. (2024).** Assessing the Efficiency of Antimicrobial Plant Extracts from *Artemisia afra* and *Eucalyptus globulus* as Coatings for Textiles. *Plants*, 13, 514. doi:10.3390.
- **Nicolas JP., (2012).** Plantes médicinales du Nord de Madagascar Ethnobotanique antakarana et informations scientifiques. *Association Jardins du Monde*, p116.

O

- **Okhale S F., Peters O Oladosu., Mercy I Aboh., Chinyere I., Josiah James Gana. (2022).** in-vitro evaluation of eucalyptus citriodora leaf essential oil and extracts on selected pathogens implicated in respiratory tract infections, IJP Vol. 9, Issue 12. E-ISSN: 2348-3962, P-ISSN: 2394-5583.

P

- **Pagare S., Bhatia M., Tripathi N., Pagare S and Bansal Y K. (2015).** Secondary Metabolites of Plants and their Role: Overview; Current Trends in Biotechnology and Pharmacy Vol. 9 (3) 293-304 July 2015, ISSN 0973-8916 (Print), 2230-7303 (Online).
- **Park J Y., Kim J Y., Son Y G., Kang S D., Lee S W., Kim K D., Kim J Y. (2023).** Characterization of Chemical Composition and Antioxidant Activity of Eucalyptus globulus Leaves under Different Extraction Conditions. Appl. Sci. 13, 9984.
- **Pathmanathan M K., Uthayarasa K., Jeyadevan J P., Jeyaseelan E C. (2010).** In Vitro Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of Some Selected Medicinal Plants. Journal of Pharmaceutical & Biological Archives 2010; 1(3):291 – 29.
- **Peronny S. (2005).** La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (Lemur catta), Thèse de doctorat en Éco-Ethologie, 151 p.
- **Perry M J., Wangchuk P. (2023).** The Ethnopharmacology Phytochemistry and Bioactivities of the Corymbia Genus (Myrtaceae). Plants, 12, 3686. <https://doi.org/10.3390/plants12213686>.
- **Ponce A G., Fritz R., Delvalle C., Roura S I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard Lebensmittel Wissenschaft and Technologic 36:679-684.
- **Pryor L D. (1981).** *Eucalypts for planting* (2e éd.). Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO).

R

- **Rahim A A., Rocca E., Steinmetz J., Kassim M J., Ibrahim M S and Osman H. (2008).** Antioxidant activities of mangrove Rhizophora apiculata bark extracts. Food Chemistry, 107, pp: 200-207.

- **Ramadan MF. (2010).** Rapid antiradical method for screening deep fried oils. *Journal of consumer protection and food safety*, 5:47-50.
- **Ramu N., Ramaiah M K., Cyriac K S. (2025).** Evaluation of Antioxidant Activity and Phytochemical Screening of Diverse Polar Extracts from *Eucalyptus citriodora*. *Journal of Neonatal Surgery*, 14 (6s), 1-11.
- **Rashmi H B, Negi P S. (2020).** Phenolic acids from vegetables: A review on processing stability and health benefits. *Food Research International* 136 .109298.
- **Rasul M G. (2018).** Conventional Extraction Methods Use in Medicinal Plants, their Advantages and Disadvantages. *International Journal of Basic Sciences and Applied Computing (IJBASAC)* ISSN: 2394-367X, Volume-2 Issue-6.
- **Ren M., Xu W., Zhang Y., Ni L., Lin Y., Zhang X., & Huang M. (2020).** Qualitative and quantitative analysis of phenolic compounds by UPLC-MS/MS and biological activities of *Pholidota chinensis* Lindl. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 113350.
- **Roy A. (2017).** A Review on the Alkaloids an Important Therapeutic Compound from Plants; *International Journal of Plant Biotechnology* ; eISSN: 2456-0162 .Vol. 3: Issue 2 .

S

- **Sahi N M. (2016).** Evaluation of Insecticidal Activity of Bioactive Compounds from *Eucalyptus citriodora* Against *Tribolium castaneum*. *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res.* 8, 1256–1270.
- **Saeed M H., Zahra N., Sarwar A., Ullah N., Aziz T., Ur rahman S., Ihsan T., Alharbi M., Abdulrahman A and Abdullah F A. (2023).** oxygen reactive species effectively scavenged by various extracts of leaves and bark of *eucalyptus globulus* J. Chil. Chem. Soc., 68, N°3.
- **Şahin B., Çakır C., Sıcak Y., Öztürk M. (2024).** Chemical composition and biological activities of essential oils and extract of *Eucalyptus citriodora* Hook. *Int. J. Sec. Metabolite*, Vol. 11, No. 2, pp. 394-407.
- **Singh R K., Dhiman R C., Mittal P K. (2007).** Studies on Mosquito Larvicidal Properties of *Eucalyptus citriodora* Hook (Family-Myrtaceae). *J. Commun. Dis.* 39, 233–236.

- **Soumare A. (2018).** Les plantations d'Eucalyptus au Sahel : Distribution, importance socio- économique et inquiétude écologique. International Journal of Biological and Chemical Sciences.

T

- **Takahashi T., Kokubo R and Sakaino M. (2004).** Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from Eucalyptus maculata. The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology, 39, 60–64.doi :10.1111.

U

- **Ulomskiy E N., Ivanova A V., Gorbunov E B., Esaulkova I L., Slita A V., Sinegubova E O & Gerasimova E L. (2020).** Synthesis and biological evaluation of 6-nitro-1, 2, 4-triazoloazines containing polyphenol fragments possessing antioxidant and antiviral activity. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 127216.

V

- **Valdiviezo-Campos J E., Olascuaga-Castillo K A., Ruiz-Reyes S G. (2024).** Ethnobotany, total phenolic and flavonoid content in the species Corymbia citriodora (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson. Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 14(07), pp 082-089. DOI: 10.7324/JAPS.2024.172838.
- **Vastrad J V., Goudar G., Byadgi S A. (2016).** Characterization of phenolic compounds in Eucalyptus globulus and cymbopogan citratus leaf Extracts. The bioscan, 11(4): 2153-2156.
- **Velickovic M., Velickovic Z et Dunckley H. (2006).** Diversity of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in Pacific Islands populations. Immunogenetics. 58:523–532.
- **Vil V A., Terent'ev A O., Savidov N., Gloriozova T A., Poroikov V V., Pounina T A & Dembitsky V M. (2019).** Hydroperoxy steroids and triterpenoids derived from plantand fungi: Origin, structures and biological activities. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology, 190, Pp.76-87.
- **Vyas G K., Sharma H., Vyas B. (2024).** Determination of Activities of Eucalyptus Leaves Oil and Multiple Extracts on Growth Inhibition of Gram Negative (*P. Aeruginosa*, *E. Coli*, and *K. Klebsiella Pneumonia*), Gram Positive (*B. Subtilis* & *S. Aureus*), and Fungi (*A. Parasiticus* & *M. Ramamnianus*)

Microbes. *Advances in Zoology and Botany* 12(1): 13-25, 2024
<http://www.hrpub.org> DOI: 10.13189/azb.2024.120102.

W

- **Wollgast J., Anklam E. (2000).** Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification, *Food Research International*, 33, 423-447.

Y

- **Yang Q Q., Farha A K., Cheng L Z., Kim G., Zhang T., & Corke H. (2020).** Phenolic content and in vitro antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) are not directly related to anti-proliferative activity. *Food Bioscience*, 100662.
- **Yelwa A., Idris M., Aminu M. (2021).** Phytochemical Screening, Cytotoxicity and Antioxidant Activities of Leaves Extracts from *Eucalyptus citriodora*. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*.

Annexe

Annexe I : Préparation des solutions pour l'analyse biochimique

➤ Eau physiologique

Chlorure de sodium.....9g
Eau distillée..... 1000ml
Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

➤ Folin Ciocalteu

Folin Ciocalteu.....1ml
Eau distillée.....9ml

➤ Carbonate de sodium à 7,5 %

Carbonate de sodium.....7,5g
Eau distillée.....100ml

➤ Chlorure d'aluminium à 2%

Chlorure d'aluminium2g
Méthanol100ml

➤ Chlorure ferrique

Chlorure ferrique.....1g
Eau distillée.....100ml

➤ Solution méthanolique de DPPH

Réactif de DPPH5,9mg
Méthanol100ml

Annexe II : Composition des milieux de culture.

➤ Bouillon nutritif (pH 7,2)

Peptone.....5 g
Extrait de viande.....1g
Eau distillée..... 500ml
Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min