

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-chimique

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Fondamentale



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme
MASTER

Thème

Évaluation du potentiel bioactif et des activités biologiques de quelques plantes médicinales traditionnelles : Une étude comparative.

Présenté par : SALHI Oualid & MATIDJI Sami

Soutenu le : 01/07/2024

Devant le jury composé de :

Mme. BEDJOU Fatiha

Pr.

Président

Mr. OTMANI Amar

MCB

Encadrant

Mr. BACHIR Seddik

MAA

Co-Encadrant

Mme. AKSAS Amal

MCB

Examineur

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

Remerciements

Pour commencer, parce qu'il existe toujours un début à tout, nous remercions Dieu, le Tout-Puissant, qui nous a donné la force, la patience, ainsi que le courage pour surmonter toutes les difficultés.

Nous tenons à remercier chaleureusement notre encadrant, Dr. OTMANI Amar, de sa disponibilité, son aide et son soutien.

Nous adressons nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à notre co-encadrant, Mr. BACHIR Seddik.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury, Pr. BEDJOU Fatiha, pour avoir accepté de présider ce jury, et Dr. AKSAS Amal pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier également Mme KERNOU Ourdia pour son aide et sa disponibilité.

Nous exprimons nos plus sincères remerciements aux ingénieures de laboratoire de Biochimie, Mme AOUANE Meriem et Mme BOUAOUD Lydia, ainsi qu'à toute l'équipe de laboratoire sans oublier personne.

Enfin, nous remercions tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents, ma mère et mon père, qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite et qui ont toujours été à mes côtés en toutes circonstances et à tout moment.

À ma grande sœur et mes chers frères, Khaled et Fouad.

À ma chère Cylia, qui m'a toujours encouragé.

À mes amis, avec qui j'ai vécu de beaux moments au cours de mon cursus à l'université.

À tous mes amis de la promotion de master en Biochimie Fondamentale.

Oualid.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie.

À mes chers frères pour leur appui et leur encouragement.

À mes chères et adorables sœurs pour leur encouragement permanent et leur soutien moral.

À tous mes amis et collègues.

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci à tous.

Sami.

Table des matières

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

Revue bibliographique

Chapitre I : Phytothérapie et plantes médicinales

I. 1. Phytothérapie.....2

I. 1. 1. Définition.....2

I. 1. 2. Types de phytothérapie.....2

A. Phytothérapie traditionnelle.....2

B. Phytothérapie clinique.....2

I. 2. Plantes médicinales.....3

I. 2. 1. Définition.....3

I. 2. 2. Origines des plantes médicinales.....3

A. Plantes sauvages.....3

B. Plantes cultivées.....3

I. 2. 3. Principes actifs des plants médicinales.....4

A. Flavonoïdes.....4

B. Acides phénoliques.....4

C. Tannins.....4

D. Huiles essentielles.....5

E. Alcaloïdes.....5

Chapitre II : Études antérieures sur *Urtica dioica* L, *Marrubium vulgar* et *Eucalyptus globulus*.

II. 1. *Urtica dioica* L.....6

II. 1. 1. Présentation d'*Urtica dioica* L.....6

II. 1. 2. Description botanique.....6

II. 1. 3. Propriétés bioactives et activités pharmacologiques.....	7
II. 1. 4. Principaux composés actifs identifiés.....	8
II. 2. <i>Marrubium vulgare</i>.....	8
II. 2. 1. Présentation de <i>Marrubium vulgare</i>	8
II. 2. 2. Description botanique.....	8
II. 2. 3. Effets pharmacologiques et propriétés thérapeutiques.....	9
II. 2. 4. Principaux composés actifs identifiés.....	10
II. 3. <i>Eucalyptus globulus</i>.....	10
II. 3. 1. Présentation d' <i>Eucalyptus globulus</i>	10
II. 3. 2. Description botanique.....	11
II. 3. 3. Propriétés bioactives et activités pharmacologiques.....	11
II. 3. 4. Principaux composés actifs identifiés.....	12

Partie pratique

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III. 1. Matériel végétal.....	13
III. 2. Méthodes.....	15
III. 2. 1. Couleur.....	15
III. 2. 2. Dosage des protéines.....	15
III. 2. 3. Extraction des composés phénoliques.....	15
III. 2. 4. Dosage des composés bioactifs.....	17
A. Dosage des phénols totaux.....	17
B. Dosage des flavonoïdes.....	17
C. Dosage des caroténoïdes.....	17
III. 2. 5. Activités biologiques.....	18
A. Activités antioxydantes.....	18
B. Activité Anti-hémolytique.....	19
C. Activités antibactériennes.....	19
III. 2. 6. Analyses statistiques.....	20

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV. 1. Couleur.....	21
IV. 2. Teneurs en protéines.....	22

IV. 3. Composés bioactifs.....	23
IV. 3. 1. Teneurs en composés phénoliques totaux.....	23
IV. 3. 2. Teneurs en flavonoïdes.....	24
IV. 3. 3. Teneurs en caroténoïdes.....	25
IV. 4. Activités antioxydantes.....	26
IV. 4. 1. Pouvoir anti-radicalaire par le DPPH.....	26
IV. 4. 2. Pouvoir anti-radicalaire par l'ABTS.....	27
IV. 4. 3. Pouvoir réducteur.....	28
IV. 5. Activité anti-hémolytique.....	29
IV. 6. Activités antibactériennes.....	30
IV. 6. 1. Test de sensibilité.....	30
IV. 6. 2. CMI.....	32
Conclusion.....	34
Références bibliographiques.....
Annexes	

Liste des figures

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Structure de base des flavonoïdes (Bruneton, 1999).	4
2	Structure des tannins (Kansole et al, 2009).	5
3	Photographie d' <i>Urtica dioica</i> L (Singh and Kali, 2019).	7
4	Photographie de <i>Marrubium vulgar.</i>	9
5	Photographie d' <i>Eucalyptus globulus</i> (Kesharwani et al., 2018).	11
6	Photographie des plantes médicinales étudiées (Originale).	13
7	Etapas de préparation des plantes.	14
8	Etapas d'extraction des composés phénoliques des échantillons de plantes.	16
9	Intensité de couleur des extraits de plantes étudiées.	21
10	Teneurs en protéines des extraits de plantes étudiées.	22
11	Teneurs en composés phénoliques des extraits de plantes étudiées.	23
12	Teneurs en flavonoïdes des extraits de plantes étudiées.	24
13	Teneurs en caroténoïdes des extraits de plantes étudiées.	26
14	Activité antiradicalaire DPPH des extraits de plantes étudiées.	27
15	Activité antiradicalaire ABTS des extraits de plantes étudiées.	28
16	Pouvoir réducteur des extraits de plantes étudiées.	29
17	Photographies des effets antibactériens des extraits de trois plantes sur les souches bactériennes testées.	31
18	Diamètres de zones d'inhibition des extraits de trois plantes contre <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i> .	31

Liste des tableaux

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Noms scientifiques, différents appellations et région de récolte des plantes étudiées.	13
II	Activités anti-hémolytique des extraits des plantes étudiées.	30
III	Résultats des CMI des extraits étudiés sur les souches testées.	33

Liste des abréviations

Liste des abréviations

ABTS : L'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique).

BSA : Bovine serum albumin.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DPPH : 1,1-Diphényl-2-PicrylHydrazyl.

EEAAB : L'échelle de l'estimation de l'activité antibactérienne.

EUS : *Eucalyptus globulus* sonication.

EUA : *Eucalyptus globulus* agitation.

E : Extrait.

HDL : Hight Density Lipoprotéines.

LDL: Low density lipoproteins.

MBA: *Marrubium vulgare* agitation.

MBS: *Marrubium vulgare* sonication.

OMS : Organisation mondiale de santé.

TPC : composé phénolique totaux.

URA : *Urtica dioica* agitation.

URS : *Urtica dioica* sonication.

Introduction

Introduction

Depuis des temps anciens, les plantes médicinales ont été utilisées dans le domaine de la santé. Les bienfaits de ces plantes ont été vérifiés par plusieurs études à l'échelle mondiale et certaines de leurs résultats ont conduit à la fabrication de médicaments à base des composés extraits de ces plantes **(Sofowora et al., 2013)**.

La phytothérapie est considérée comme la plus ancienne forme de soins de santé connue de l'humanité. Elle a été intégrée dans les systèmes médicaux de toutes les cultures à travers l'histoire **(Miraldi et Bainsi 2019)**. La phytothérapie repose sur l'utilisation de plantes pour traiter ou prévenir les maladies. Elle utilise des feuilles, des fleurs, des sommités fleuries (parties supérieures des plantes en fleurs), des racines ou même des plantes entières. Les plantes utilisées peuvent être celles qui poussent naturellement dans la nature (plantes spontanées) ou celles qui sont cultivées **(Létard et al., 2015)**.

Le pouvoir médicinal des plantes traditionnelles repose sur leurs composants phytochimiques, qui exercent une action pharmacologique spécifique sur le corps humain. Selon leur rôle métabolique dans la plante, ces composants se divisent généralement en deux catégories : les constituants primaires, tels que les sucres, les acides aminés, la chlorophylle et les protéines, et les constituants secondaires, comprenant des alcaloïdes, des saponines, des tanins, des composés phénoliques **(Agidew, 2022)**.

L'*Urtica dioica*, communément appelée ortie, est une plante vivace des régions tempérées, facilement reconnaissable à ses feuilles dentelées et couvertes de poils urticants. Elle est prisée en phytothérapie pour ses vertus médicinales **(Grauso et al., 2020)**.

Le *Marrubium vulgare*, également connu sous le nom de marrube blanc, est une plante vivace de la famille des Lamiacées. Traditionnellement utilisée en phytothérapie, elle est réputée pour son efficacité dans le traitement de la toux, des bronchites et pour favoriser la digestion **(Miloudi et al., 2018)**.

L'*Eucalyptus globulus* est un grand arbre de la famille des Myrtacées, originaire d'Australie. Il est largement employé en phytothérapie en raison de ses propriétés médicinales variées **(Shala et Gururani, 2021)**.

Ce travail vise à explorer les composés bioactifs et les activités biologiques de trois plantes médicinales (*Eucalyptus globulus*, *Urtica dioica* L. et *Marrubium vulgare*), tout en examinant l'influence des méthodes d'extraction par agitation et sonication sur les taux des composés phénoliques et flavonoïdes, ainsi que les pouvoirs antioxydante, antihémolytique et antibactérienne de ces trois plantes.

Cette étude est structurée en deux sections principales : la première aborde les connaissances bibliographiques sur la phytothérapie et les plantes médicinales, tandis que la seconde se concentre sur le matériel d'étude, les méthodes analytiques, ainsi que la présentation et la discussion des résultats obtenus.

Revue bibliographique

Chapitre I

Phytothérapie et plantes médicinales

Chapitre I : Phytothérapie et plantes médicinales

I. 1. Phytothérapie

I. 1. 1. Définition

L'origine du terme "phytothérapie" réside dans deux racines grecques, "phyton" signifiant "plante" et "therapeia" signifiant "traitement" (Miraldi et Bains, 2019).

La phytothérapie englobe un ensemble de connaissances, compétences et pratiques héritées des théories, croyances et expériences culturelles, utilisées pour maintenir la santé humaine, prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques, mentales ou les déséquilibres sociaux. Elle repose sur une expérience pratique et des observations transmises de génération en génération, qu'elles soient orales ou écrites (Mansour, 2015).

I. 1. 2. Types de phytothérapie

La phytothérapie est subdivisée en deux types :

A. Phytothérapie traditionnelle

La phytothérapie traditionnelle appelée également classique, repose souvent sur l'utilisation empirique des plantes, parfois depuis des temps anciens. Les indications de cette forme de traitement sont généralement les premières à être envisagées, et relèvent souvent du conseil pharmaceutique. Elles couvrent un large éventail de troubles, des désordres psychosomatiques mineurs aux troubles digestifs ou dermatologiques, en passant par les troubles hépatobiliaires et les affections saisonnières (Edzard, 2001).

B. Phytothérapie clinique

La phytothérapie clinique, connue aussi sous le nom de phytothérapie moderne, c'est une approche médicale centrée sur le patient, où le patient est priorisé par rapport à la maladie. Elle nécessite une évaluation globale du patient et de son environnement, ainsi qu'un examen clinique complet pour déterminer le traitement. Son action est axée sur un traitement à long terme qui agit sur le système neurovégétatif (Edzard, 2001).

Les indications de cette forme de traitement sont souvent liées à une approche thérapeutique complémentaire visant à compléter ou renforcer l'efficacité d'un traitement médicamenteux classique pour des affections aiguës de gravité modérée, telles que les infections grippales. Elle vise principalement à atténuer les effets secondaires (**Edzard, 2001**).

I. 2. Plantes médicinales

I. 2. 1. Définition

Les plantes médicinales sont considérées comme des drogues végétales conformément à la Pharmacopée européenne, dès lors qu'au moins une partie d'entre elles présente des propriétés médicinales. Ces plantes peuvent également être utilisées à des fins alimentaires ou hygiéniques. En résumé, les plantes médicinales sont des végétaux employés en médecine traditionnelle et/ou moderne, contenant au moins une substance aux propriétés thérapeutiques (**Ouedraogo et al. 2021**).

I. 2. 2. Origines des plantes médicinales

Les plantes médicinales proviennent de deux sources principales :

A. Plantes sauvages

Les plantes sauvages, qui sont les plus anciennement utilisées et qui continuent de représenter une part significative du marché mondial, sont influencées par divers facteurs tels que le type de sol et surtout le climat. Leur distribution et leur développement sont étroitement liés à des variables telles que la température, la latitude, la composition du sol, etc., ce qui en fait des réservoirs naturels de diversité génétique (**Ouedraogo et al., 2021**).

B. Plantes cultivées

Les plantes cultivées, elles permettent d'obtenir des matières premières de qualité homogène en quantité suffisante grâce à des techniques de culture standardisées. En effet, leur culture suit les directives de l'OMS sur les bonnes pratiques agricoles et de récolte (BPAR) spécifiques aux plantes médicinales. Ces directives régissent la culture, la récolte et certaines étapes post-récolte. En plus de garantir la qualité, la culture des plantes médicinales permet de pallier la dispersion ou la disparité des peuplements naturels (**Chabrier, 2010 ; Ouedraogo et al., 2021**).

I. 2. 3. Principes actifs des plants médicinales

A. Flavonoïdes

Les flavonoïdes, appartenant à la famille des polyphénols, sont des composés largement présents chez les plantes et constituent leurs principaux métabolites secondaires. Ils partagent une structure de base commune, constituée de quinze atomes de carbone disposés en deux cycles C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 (figure 1). Cette structure est caractéristique de tous les flavonoïdes, dérivant d'une voie biosynthétique similaire (**Bruneton, 1999**).

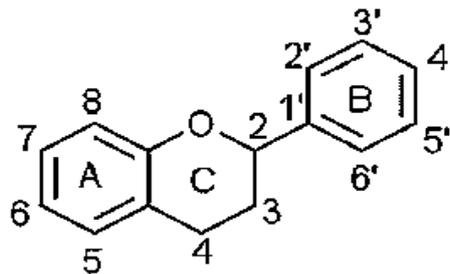


Figure 1: Structure de base des flavonoïdes (**Bruneton, 1999**).

B. Acides phénoliques

Les phénols forment une famille très vaste de composés organiques. Ils peuvent être classés en fonction du squelette carboné qui les compose, ou selon la voie de synthèse qui conduit au noyau benzénique, ou cycle aromatique (cyclogénèse). Ils sont très répandus dans le règne végétal et leur extraction fait l'objet de nombreux travaux de recherche (**Pandey et Rizvi, 2009**).

- **Acides hydroxy-cinnamiques :** C'est un composé aromatique dont la structure principale est (C6-C3) dérivée de l'acide cinnamique (**Bruneton, 2008**).
- **Acides hydroxy-benzoïques :** C'est un composé aromatique la structure de base (C6-C1) dérivé de l'acide benzoïque (**Bruneton, 2008**).

C. Tannins

Les tanins sont des substances organiques présentes dans presque tous les végétaux, et dans toutes leurs parties telles que l'écorce, les racines, les feuilles et les fruits. Ils se divisent en deux groupes principaux : les tanins condensés, constitués de proanthocyanidines, et les tanins hydrolysables (**Hemingway et al., 1992**).

Les tanins favorisent aussi la régénération des tissus, améliorent la circulation veineuse, et tonifient la peau en resserrant les pores et en renforçant son élasticité, contribuant ainsi à une apparence plus ferme et jeune. En résumé, les tanins offrent de nombreux bienfaits pour la santé **(Khanbabaee et Ree, 2001)**.

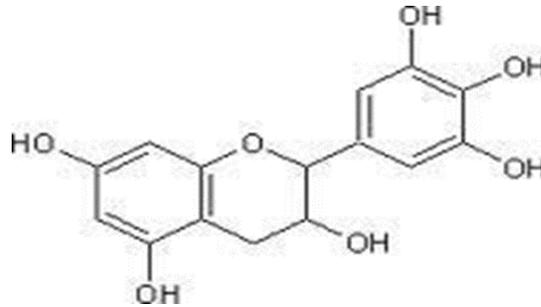


Figure 2 : Structure des tannins **(Khanbabaee et Ree, 2001)**.

D. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des extraits concentrés des composés aromatiques volatils que l'on trouve dans les plantes médicinales. Elles renferment les arômes caractéristiques de la plante d'origine et sont souvent utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques et leurs parfums agréables **(Baudoux et al., 2016)**.

Ces huiles sont obtenues par divers procédés d'extraction, notamment la pression mécanique, la distillation à sec ou la distillation par vapeur d'eau. Chaque méthode d'extraction peut influencer la composition chimique et les propriétés de l'huile essentielle obtenue **(Baudoux et al., 2016)**.

E. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques cycliques renfermant de l'azote avec un état d'oxydation négatif, dont la présence est limitée parmi les organismes vivants. La plupart des alcaloïdes présentent des propriétés basiques dues à la présence d'un azote tertiaire hétérocyclique, à l'exception de quelques-uns comme la colchicine, la caféine et le paclitaxel **(Verpoorte R., 2005)**.

Chimiquement, ils forment un groupe très diversifié mais partagent certaines propriétés physico-chimiques, et sont principalement trouvés dans les plantes. Leur structure la plus répandue dérive des acides aminés, bien que d'autres soient le résultat de modifications de différentes classes de molécules telles que les polyphénols, les terpènes ou les stéroïdes **(Shin et al, 2018)**.

Chapitre II

**Études antérieures sur *Urtica dioica*
L, *Marrubium vulgare* et *Eucalyptus globulus*.**

Chapitre II : Etudes antérieures sur *Urtica dioica* L, *Marrubium vulgare* et *Eucalyptus globulus*.

II. 1. *Urtica dioica* L

II. 1. 1. Présentation d'*Urtica dioica* L

Urtica dioica L. (Urticaceae), communément appelée ortie, est une plante herbacée vivace présente dans les régions tempérées d'Europe, d'Asie, d'Afrique du Nord et d'Amérique du Nord, jusqu'à 1800 mètres d'altitude. En raison de son utilisation répandue à travers le monde, elle est également connue sous divers noms tels que feuille d'ortie ou ortie commune, ainsi que par des noms régionaux. L'ortie forme souvent des fourrés denses, particulièrement dans les sols perturbés. Elle appartient au groupe des légumes phytochimiques, qui comprend des espèces sauvages comestibles utilisées autrefois en période de pénurie alimentaire (**Grauso et al., 2020**).

II. 1. 2. Description botanique

Urtica dioica L est une plante vivace de la famille des Urticacées et du genre *Urtica*. Sa tige verte et quadrangulaire, dotée de collenchyme lacunaire à chaque coin, contient entre 12 et 20 faisceaux fibrovasculaires. Elle peut atteindre environ 2 mètres de hauteur. Ses feuilles sont opposées, oblongues ou ovales, cordées à la base, finement dentées, vert foncé sur le dessus et plus pâles en dessous. Les trichomes urticants sur les tiges et les feuilles sécrètent un liquide riche en histamine, acétylcholine et sérotonine (**Bhusal et al., 2022**).

Les petites fleurs dioïques apparaissent en grappes à l'aisselle des feuilles supérieures, sont de couleur brun à verdâtre et fleurissent chaque année de mai à septembre, les inflorescences mâles et femelles étant séparées. Le fruit de l'ortie est rond et renferme de petites graines brun foncé ou presque noires. Son système racinaire comprend une racine pivotante avec de fines radicelles, facilitant son développement (**Bhusal et al., 2022**).

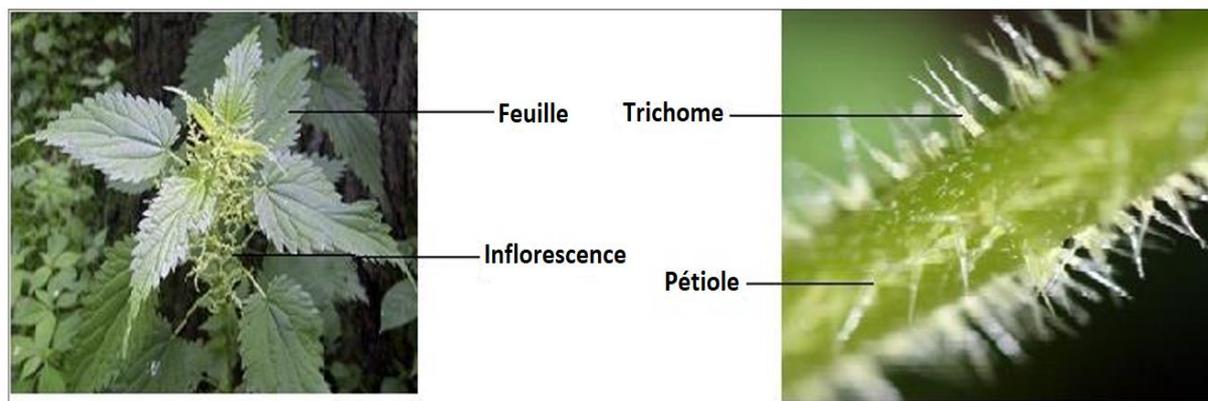


Figure 3 : Photographie d'*Urtica dioica* L (Singh and Kali, 2019).

II. 1. 3. Propriétés bioactives et activités pharmacologiques

Les extraits d'ortie présentent diverses activités thérapeutiques. Ils montrent une activité antiproliférative en inhibant la prolifération des cellules prostatiques cancéreuses et en réduisant la production d'œstrogènes et l'activité enzymatique des cellules prostatiques, comme le confirment des études *in vivo*, *in vitro* et des essais cliniques (Ait Haj Said et al., 2016). Les extraits d'ortie ont également une forte activité antioxydante, neutralisant les espèces réactives de l'oxygène et protégeant contre la peroxydation lipidique grâce à leurs composés phénoliques (Ait Haj Said et al., 2016).

En termes d'activité immunomodulatrice, les extraits d'ortie régulent significativement les enzymes du système immunitaire et modulent les enzymes dans différents organes chez des souris traitées avec un extrait éthanolique (Bnouham et al., 2003). Les propriétés analgésiques et anti-nociceptives de l'ortie sont attestées par des études chez les rats et les souris, montrant une augmentation de la tolérance à la douleur et une réduction de la réponse nociceptive, probablement attribuables aux flavonoïdes et acides présents (Ait Haj Said et al., 2016).

L'ortie a également des propriétés antiulcéreuses, protégeant contre l'ulcère gastrique de manière dose-dépendante et montrant une activité analgésique contre la dilatation gastrique (Gulcin et al., 2003). Les extraits d'ortie ont un effet antidiabétique, réduisant le taux de sucre chez les rats diabétiques en inhibant l'absorption intestinale du glucose et en stimulant la sécrétion d'insuline (Bnouham et al., 2003).

De plus, l'extrait aqueux des parties aériennes de l'ortie montre une activité antihypertensive, réduisant la pression artérielle de manière dose-dépendante et augmentant la diurèse et la natriurèse. Les extraits des racines induisent une vasodilatation par libération d'oxyde d'azote endothélial (Tahri et al., 2000).

En ce qui concerne l'agrégation plaquettaire, les extraits d'ortie ont un fort pouvoir inhibiteur, en particulier contre l'agrégation induite par la thrombine, grâce aux flavonoïdes (**El Houari et al., 2006 ; Daher et al., 2006**).

Les extraits d'ortie ont également des effets bénéfiques sur l'hyperlipidémie et l'athérosclérose, réduisant significativement le cholestérol et le ratio LDL/HDL chez les rats (**Nassiri-Asl et al., 2009**). Ils possèdent également des propriétés antiallergiques, bloquant les récepteurs histaminiques H1 et inhibant la tryptase, ce qui améliore les symptômes de la rhinite allergique (**Ait Haj Said et al., 2016**).

II. 1. 4. Principaux composés actifs identifiés

L'*Urtica dioica* comprennent une gamme variée de composés naturels. Parmi ceux-ci figurent les flavonoïdes, les tanins, les composés volatils, les acides gras, les polysaccharides, les isolectines, les stérols, les terpènes, ainsi que les protéines, les vitamines et les minéraux. Ces composants, présents dans différentes parties de la plante d'ortie, contribuent à ses propriétés médicinales et thérapeutiques (**Bhusal et al., 2022**).

II. 2. *Marrubium vulgare*

II. 2. 1. Présentation de *Marrubium vulgare*

Le genre *Marrubium* comprend environ quarante espèces, principalement réparties autour de la mer Méditerranée, dans les zones tempérées de l'Eurasie et dans certains pays d'Amérique latine. Le marrube blanc, ou *Marrubium vulgare*, est une plante vivace caractérisée par une tige quadrangulaire, des feuilles dentées et duveteuses, ainsi que des fleurs blanches bilabiées, atteignant jusqu'à 50 cm de hauteur. Elle pousse surtout dans les friches et ses feuilles sont récoltées au printemps. Les parties aériennes de *Marrubium vulgare* sont reconnues pour leurs principes amers dans certaines pharmacopées européennes. En Algérie, six espèces différentes du genre *Marrubium* ont été identifiées. Localement, la plante est connue sous le nom de Marriouth en Algérie, Merrîwt au Maroc et Marroubia en Tunisie (**Miloudi et al., 2018**).

II. 2. 2. Description botanique

Marrubium vulgare est une plante herbacée annuelle ou vivace. Elle se caractérise par une racine robuste, soit pivotante et ligneuse, soit avec plusieurs racines latérales fibreuses. Ses tiges nombreuses, dressées et quadrangulaires, peuvent mesurer de 20 à 100 cm de haut et sont revêtues d'un dense duvet.

Les feuilles, disposées en paires opposées le long de la tige, sont généralement rondes à ovales, dentées, avec un pétiole, des nervures prononcées et une texture velue sur leur face supérieure (Aćimović et al., 2020).

Les inflorescences de *Marrubium vulgare* se développent à l'aisselle des feuilles supérieures, formant des verticilles axillaires serrés de fleurs blanches. Le calice présente dix dents munies de petites épines ou soies crochues. La corolle, allant du blanc au lavande pâle, est tubulaire et à deux lèvres, avec une lèvre supérieure à deux lobes dressés et une lèvre inférieure à trois lobes, le lobe central étant plus grand. Les fleurs de *Marrubium vulgare* fleurissent habituellement au début du printemps et attirent souvent les abeilles butineuses. Les graines se trouvent à la base du calice (Aćimović et al., 2020).



Figure 4 : Photographie de *Marrubium vulgare*.

II. 2. 3. Effets pharmacologiques et propriétés thérapeutiques

L'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare* a été étudié pour son efficacité anti-inflammatoire, réduisant l'inflammation dans un modèle d'œdème de la patte chez les rats provoqué par la carragénine et dans un modèle d'infarctus du myocarde chez les rats induit par l'isoprotérénol. De plus, la marrubiine, un composé spécifique de cette plante, a montré des effets analgésiques significatifs chez les souris, tandis que l'extrait hydroalcoolique de la plante a également présenté une activité analgésique notable dans différents modèles de douleur chez la souris, probablement grâce à la présence de stéroïdes et de terpènes (Al-Snafi et al., 2021).

Le pouvoir antioxydant de *Marrubium vulgare* a été évalué à travers différents extraits et composés, montrant une activité modérée à forte dans plusieurs tests. Ces extraits ont présenté une forte capacité à piéger les radicaux, soutenue par divers composés isolés de la plante, offrant ainsi une importante activité antioxydante (Mssillou et al., 2021).

Les propriétés antibactériennes et antifongiques de *Marrubium vulgare* ont été évaluées à travers divers extraits. L'extrait méthanolique a démontré une activité antimicrobienne notable contre plusieurs souches bactériennes et fongiques, tout comme les flavonoïdes extraits des feuilles, qui ont même surpassé certains antifongiques commerciaux. L'huile essentielle de la plante a également montré des effets significatifs, en particulier sur les bactéries Gram+, bien que les bactéries Gram- aient montré plus de résistance (Aćimović et al., 2020).

L'extrait alcoolique de *Marrubium vulgare* ainsi que certains flavonoïdes isolés ont démontré leur capacité à inhiber la croissance des cellules cancéreuses *in vitro*. Ces effets ont été observés sur plusieurs types de cellules tumorales, avec une activité dose-dépendante, suggérant ainsi un potentiel anticancéreux de *Marrubium vulgare* (Al-Snafi et al., 2021).

II. 2. 4. Principaux composés actifs identifiés

Marrubium vulgare est une plante riche en principes actifs aux propriétés pharmacologiques diverses. Parmi eux, les diterpènes, les sesquiterpènes et les flavonoïdes sont des composés clés présents dans différentes parties de la plante. La marrubiine, un diterpénoïde important, se distingue par ses activités biologiques remarquables et est souvent isolée pour ses propriétés thérapeutiques. Les sesquiterpènes, abondants dans l'huile essentielle de la plante, confèrent à celle-ci une diversité de composés bioactifs. De plus, les flavonoïdes, tels que la quercétine et l'apigénine, apportent des propriétés médicinales supplémentaires à *Marrubium vulgare*. En outre, d'autres substances bioactives comme les glycosides phénylpropanoïdes et les acides phénoliques ont été identifiées dans la plante, enrichissant ainsi son profil pharmacologique (Lodhi et al., 2017).

II. 3. *Eucalyptus globulus*

II. 3. 1. Présentation d'*Eucalyptus globulus*

L'eucalyptus, un grand arbre à feuilles persistantes originaire d'Australie, était principalement limité à sa région natale. À présent, il s'est répandu à travers le monde, s'épanouissant dans une variété de climats tropicaux et subtropicaux, et étant cultivé dans de nombreuses autres régions (Shala et Gururani, 2021).

II. 3. 2. Description botanique

Eucalyptus globulus est un arbre imposant qui peut atteindre entre 30 et 60 mètres de hauteur, parfois jusqu'à 100 mètres. Son tronc lisse présente une gamme de couleurs allant du blanc au gris, avec une écorce qui se détache en longues bandes. Les jeunes feuilles sont ovales, cireuses, et claires, disposées de manière opposée et sans pédoncule, mais ce sont les feuilles des branches matures qui sont d'intérêt médicinal, car elles sont les seules à posséder des poches d'huiles essentielles sur leur face inférieure. Ces feuilles peuvent mesurer jusqu'à 25 centimètres de long, sont courbées en forme de faucille, alternes, avec un pédoncule, et de couleur gris-vert, avec une nervure centrale prononcée (Lobstein et al., 2018).

Une caractéristique distinctive de la plante coupée est la présence de nombreuses poches sécrétrices sur la face inférieure des feuilles. Les fleurs, visibles au printemps, apparaissent à l'aisselle des feuilles. Le calice ressemble à une toupie bosselée, recouvert par un opercule qui se détache au moment de la floraison pour révéler de nombreuses étamines. Le fruit, une capsule anguleuse issue du calice, renferme deux types de graines (Lobstein et al., 2018).

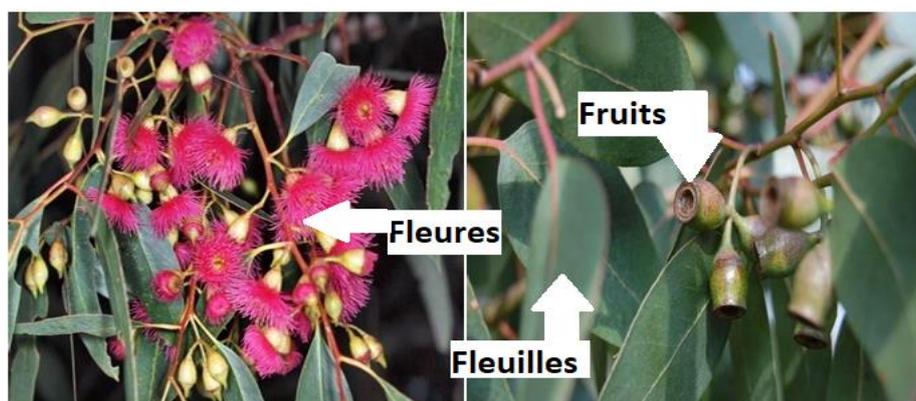


Figure 5 : Photographie d'*Eucalyptus globulus* (Kesharwani et al., 2018).

II. 3. 3. Propriétés bioactives et activités pharmacologiques

Les extraits hexaniques de feuilles et éthanoliques de fruits et feuilles d'*Eucalyptus globulus* inhibent la libération d'histamine par les cellules RBL-2H3, montrant des effets anti-inflammatoires et anti-asthmatiques. Le 1,8-cinéole, principal composant de l'huile volatile, agit comme un puissant inhibiteur de cytokines, suggérant son potentiel pour traiter à long terme les inflammations des voies respiratoires et l'asthme bronchique. L'huile a également un effet anti-inflammatoire sur la bronchite chronique et inhibe l'hypersécrétion de mucines (Lodhi et al., 2023).

L'*Eucalyptus globulus* est utilisé traditionnellement pour traiter le diabète. Son ajout à l'alimentation et à l'eau potable réduit l'hyperglycémie et la perte de poids chez les souris diabétiques. Un extrait aqueux améliore significativement le transport et l'oxydation du glucose, ainsi que son incorporation dans le glycogène, suggérant son potentiel comme complément alimentaire contre l'hyperglycémie (Lodhi et al., 2023).

Les extraits de feuilles d'*E. globulus* présentent une puissante activité antioxydante, principalement due à la globulusine A et à l'eucaglobuline, surpassant même l'acide ascorbique en termes d'activité inhibitrice des radicaux libres (Surbhi et al., 2023).

L'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* montre une activité antifongique notable, inhibant complètement la croissance de plusieurs isolats de *Fusarium*, responsables de maladies des plantes, à une concentration de 7 à 8 µl/ml (Salehi et al., 2019).

L'huile d'eucalyptus possède des propriétés anticancéreuses grâce à des composés tels que le terpinène-4-ol, l'α-pinène et le γ-terpinène. Elle réduit la croissance de plusieurs cancers, y compris ceux du côlon, du pancréas, de l'estomac et de la prostate, et induit la nécrose ou l'apoptose des cellules de mélanome. Elle montre également une toxicité contre les cellules leucémiques et les tumeurs des macrophages murins (Surbhi et al., 2023).

II. 3. 4. Principaux composés actifs identifiés

Eucalyptus globulus est une espèce d'eucalyptus significative, et sa composition en huile essentielle ainsi que les composés spécifiques présents dans les extraits de différentes parties de la plante varient selon divers facteurs tels que l'origine de l'arbre et l'âge des feuilles. L'huile essentielle extraite des feuilles est fréquemment utilisée à des fins médicinales, avec des concentrations variantes généralement entre moins de 1,5 % et plus de 3,5 %. Cette huile est principalement composée de 1,8-cinéole (eucalyptol) à hauteur de 70 à 95 % (Aggarwal et al., 2015).

L'*Eucalyptus globulus* renferme du 1,8-cinéol, un composant associé à des effets tels que la somnolence, l'ataxie, les convulsions, les nausées, les vomissements et le coma. La valeur pharmacologique de l'eucalyptus est attribuée à la présence de divers métabolites secondaires, notamment des huiles essentielles, des tanins, des flavonoïdes, des stérols, des caroténoïdes, des saponines, des alcools tri terpéniques et des polysaccharides (Lobstein et al., 2018).

Partie pratique

Chapitre III

Matériel et Méthodes

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III. 1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est issu des feuilles des trois plantes médicinales : *Urtica dioica*, *Marrubium vulgare* et *Eucalyptus globulus*. Cette sélection n'est pas aléatoire, mais plutôt fondée sur l'utilisation traditionnelle de ces plantes dans la médecine. Le tableau I regroupe les noms scientifiques, les noms vernaculaires, les dates et les régions de récolte des plantes sélectionnées. La figure 6 représente les photographies de ces plantes.

Tableau I : Noms scientifiques, différents appellations et région de récolte des plantes étudiées.

Espèce	Nom commune	Nom vernaculaire	Date de récolte	Région de récolte
<i>Urtica dioica</i>	Ortie	Azegduf	04/2024	Chorfa (Bouira)
<i>Marrubium vulgare</i>	Marrube blanc	Mernuyet	04/2024	Bouandas (Sétif)
<i>Eucalyptus globulus</i>	Eucalyptus	Kalitus	04/2024	Targa ouzemour (Bejaia)



Figure 6 : Photographie des plantes médicinales étudiées (Originale).

Une fois que les plantes sont récoltées et identifiées, les feuilles sont séparées et nettoyées avec de l'eau afin de se débarrasser de toute poussière et d'autres contaminants. Les échantillons sont séchés à l'air libre, puis placés dans l'étuve à une température de 40 °C pendant une période de 8 jours jusqu'à la stabilisation de leur poids. Les produits obtenus sont ensuite réduits en poudre de couleur vert à l'aide d'un broyeur électrique (figure 7).

Les particules ainsi obtenues après le broyage sont tamisées à l'aide de tamis de diamètres compris entre 250 et 450 μm pour avoir une poudre homogène. Cette poudre est ensuite stockée dans des bouteilles en verre propres, à l'abri de la lumière et de l'humidité.

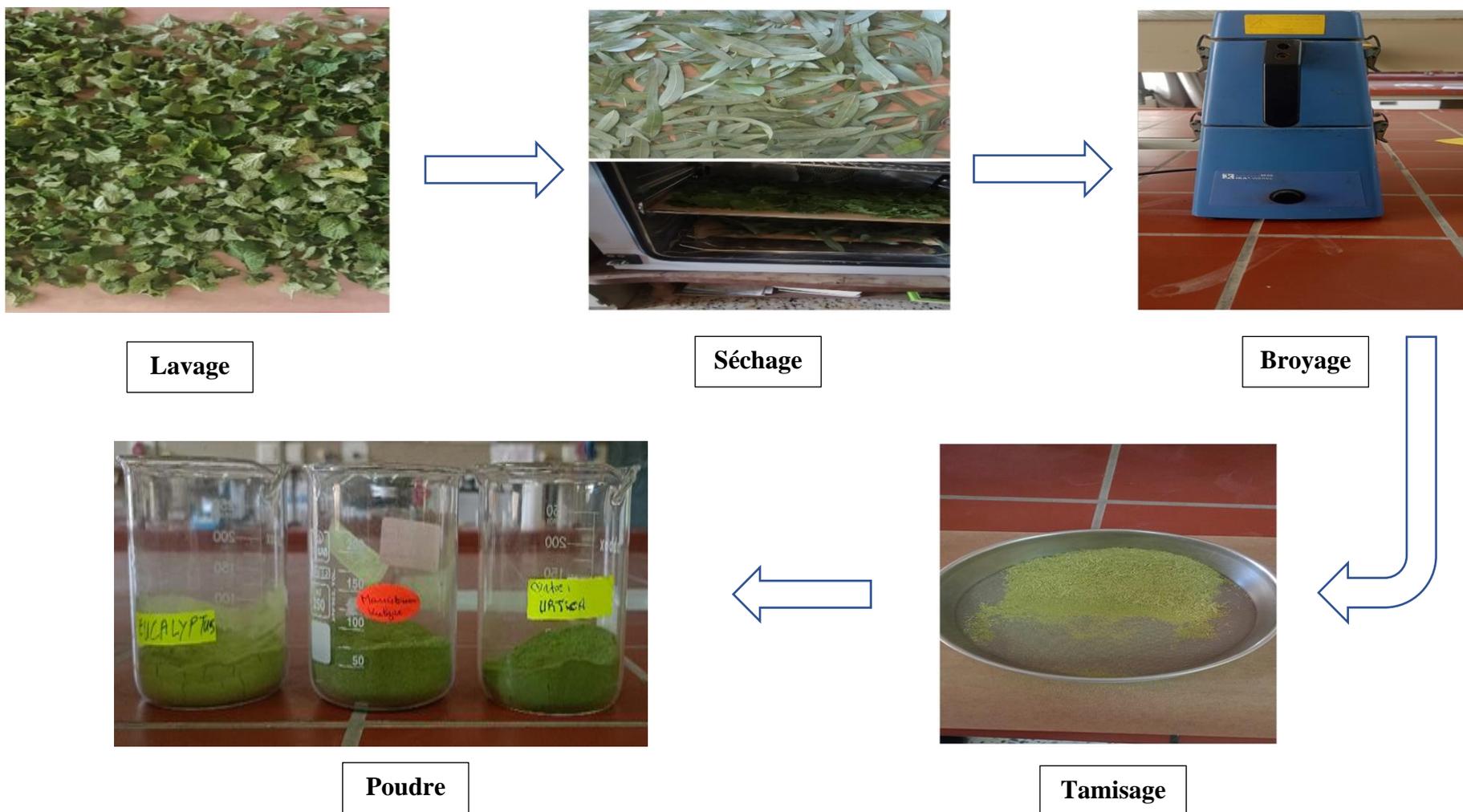


Figure 7 : Etapes de préparation des plantes.

III. 2. Méthodes

III. 2. 1. Couleur

Les intensités de couleur des échantillons de plantes sont déterminées par la méthode de **Bath et Singh (1999)**. Une quantité de 0,014 g de la poudre est dissoute dans 2 ml d'éthanol. Après homogénéisation et filtration avec de papier filtre, la densité optique du filtrat est mesurée par un spectrophotomètre à 450 nm.

III. 2. 2. Dosage des protéines

Les extraits de plantes sont préparés par la dissolution de 0,5 g de poudre dans 70 ml d'éthanol. Après homogénéisation pendant 2 h sur une plaque agitatrice, le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre whatman N°4.

Les concentrations en protéines dans les extraits de plantes sont déterminées par la méthode d'**Azeredo et al. (2003)**. Un volume de 0,1 ml de la solution éthanolique de plante est mélangé avec 5 ml de réactif de Bradford. Après 2 min d'incubation, l'absorbance est lue à 595 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'albumine de sérum bovin (BSA) par g de plante en référence à la courbe d'étalonnage de la BSA ($y = 0,4515x - 0,0496$; $R^2 = 0,994$).

III. 2. 3. Extraction des composés phénoliques

L'extraction effectuée dans cette étude est de type solide-liquides. Les composés phénoliques sont extraits par deux méthodes (par agitation et par sonication) et les différentes étapes sont représentées dans la figure 8. Pour chaque plante, l'extraction est réalisée à température ambiante et à l'abri de la lumière, afin d'éviter les phénomènes d'oxydation.

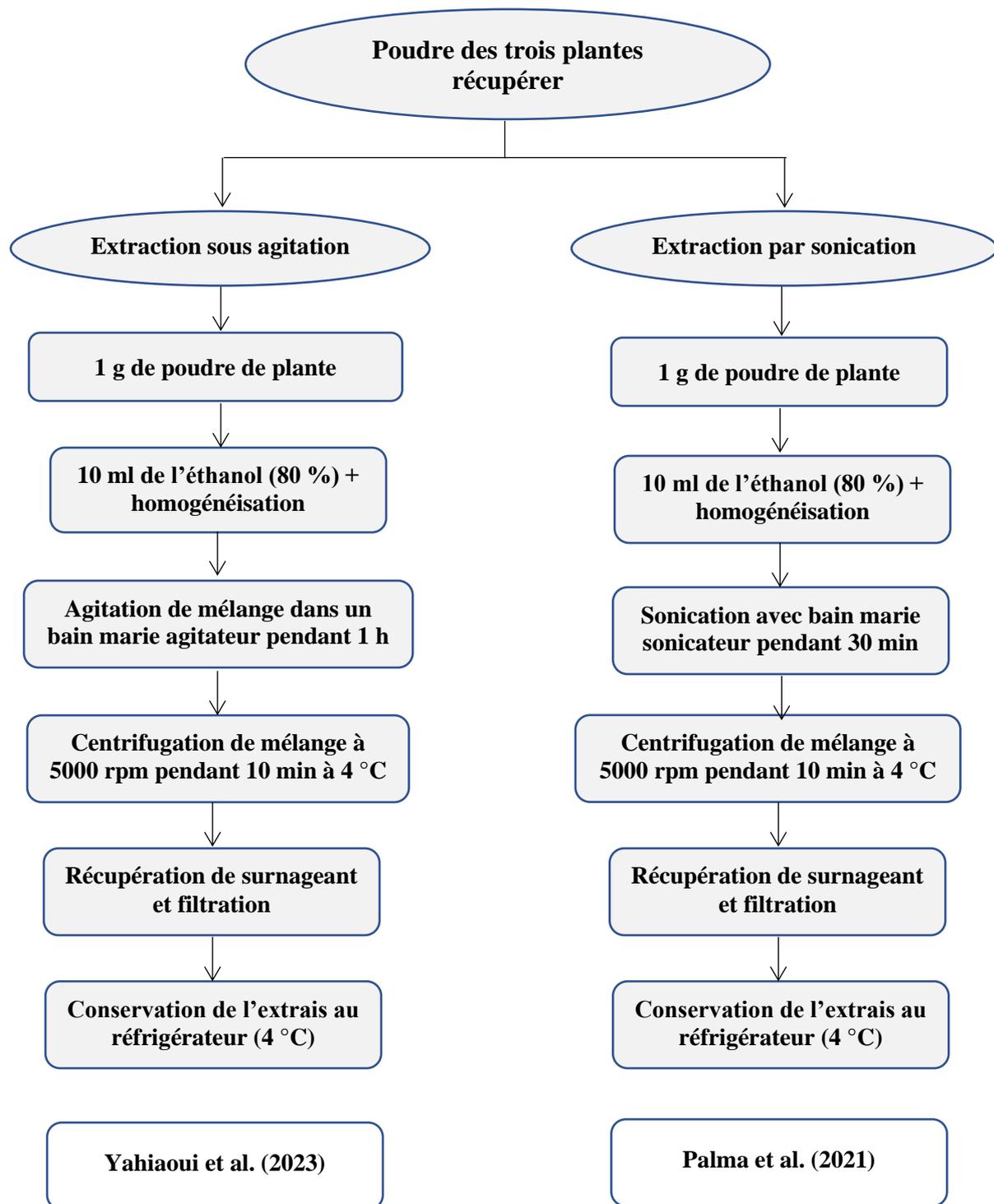


Figure 8 : Etapes d'extraction des composés phénoliques des échantillons de plantes par agitation (Yahiaoui et al., 2023) et sonication (Palma et al., 2021).

III. 2. 4. Dosage des composés bioactifs

A. Dosage des phénols totaux

L'estimation des teneurs en composés phénoliques des extraits de plantes est réalisée en utilisant le protocole décrit par **Naithani et al. (2006)**. Pour ce faire, un volume de 0,1 ml de l'extrait de plante est mélangé avec 0,1 ml de réactif Folin-Ciocalteu (50 % ; v/v) et 2 ml de carbonate de sodium (2 %). Après 30 min d'incubation, la lecture d'absorbance est faite à 750 nm. Les résultats des teneurs en composés phénoliques des trois plantes sont exprimés en mg équivalent acide gallique par g de poudre, en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ($y=5,6376x+0,121$; $R^2=0,9989$).

B. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes contenues dans les extraits de plantes sont déterminées par la méthode de **Al et al. (2009)**. Un volume de 1 ml de l'extrait de plante est mélangé avec 0,3 ml de nitrite de sodium (5 % ; p/v). Après 5 min, un volume de 0,3 ml de chlorure d'aluminium (10 % ; p/v) est ajouté. Six minutes plus tard, 2 ml d'hydroxyde de sodium (4 % ; p/v) sont additionnés au mélange. Les absorbances sont mesurées à 510 nm et les résultats de concentration en flavonoïdes sont exprimés en mg équivalent quercétine par un g de poudre, en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine ($y=1,391x+0,0313$; $R^2=0,995$).

C. Dosage des caroténoïdes

La détermination des taux des caroténoïdes dans les l'extraits de plantes est effectuée selon la méthode décrite par **Sass-Kiss et al. (2005)**. Une quantité de 0,8 g de poudre est ajoutée à 10 ml de mélange de solvants (hexane/acétone/éthanol) avec un rapport de 2/1/1. Après 30 min d'agitation dans l'obscurité, la phase hexane est récupérée et l'absorbance est mesurée à 450 nm. Les résultats sont déterminés en utilisant une courbe d'étalonnage de β -carotène ($y=51,575x-0,019$; $R^2=0,9985$) et les teneurs en caroténoïdes sont exprimée en mg équivalent β -carotène par g de poudre.

III. 2. 5. Activités biologiques

A. Activités antioxydantes

➤ Test de piégeage des radicaux DPPH

Le test antiradicalaire DPPH est réalisé en suivant le protocole décrit par **Meda et al. (2005)**. L'extrait de plante (0,5 ml) est mélangé avec 1 ml de solution méthanolique de DPPH à 0,06 mM. Après une incubation de 15 min, l'absorbance de la solution est mesurée à 517 nm, et le pourcentage d'inhibition est calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{[AC-AE]}{AC} \times 100$$

Où : AC : Absorbance de contrôle ; AE : Absorbance de l'échantillons.

➤ Test de piégeage des radicaux ABTS

Le pouvoir scavenger du radical ABTS est mesuré conformément au protocole décrit par **Re et al. (1999)**. Pour 0,1 ml d'extrait éthanolique de plante, un volume de 1 ml de la solution méthanolique d'ABTS (7 mM) est ajouté. Après 7 min d'incubation, l'absorbance a est mesurée à 734 nm et le pourcentage d'inhibition est calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{[AC-AE]}{AC} \times 100$$

Où : AC : Absorbance de contrôle ; AE : Absorbance de l'échantillons.

➤ Pouvoir réducteur

L'évaluation du pouvoir réducteur des plantes est effectuée selon la méthode décrite par **Lin et Li (2010)**. Un volume de 0,5 ml d'extrait de plante est mélangé avec 0,5 ml de tampon phosphate (0,2 M ; pH 6,6) et 0,5 ml d'hexacyanoferrate de potassium (1 %). Après une incubation de 20 min dans un bain-marie (50 °C), 0,5 ml de trichloroacétate (10 %) sont ajoutés au mélange, puis dilués dans 0,8 ml d'eau distillée. Ensuite, 0,1 ml de chlorure ferrique (0,1 %) sont ajoutés et l'absorbance est mesurée à 700 nm après 10 min d'incubation. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique antioxydant (A) par 100 g de plante, en utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ($y = 11,981 x + 0,0684$; $R^2 = 0,966$).

B. Activité Anti-hémolytique

Quatre échantillons de sang sont utilisés pour préparer la solution de globules rouges. Le sang est obtenu auprès de quatre volontaires en bonne santé qui ne fumaient pas et ne prenaient aucun médicament ou complément alimentaire. Les échantillons sont prélevés dans des tubes héparinés. Ensuite, le sang est centrifugé à 4 000 rpm pendant 15 min, et le culot est collecté et lavé trois fois avec une solution tampon phosphate salin (PBS) iso-salin (10 mM, NaCl 154 mM, pH 7,4). La suspension érythrocytaire est préparée à 10 % dans du PBS iso-salin (Rani et al., 2014).

L'activité anti-hémolytique des extraits de plantes est évaluée selon la méthode décrite par Shinde et al. (1999). Dans chaque tube, 5 ml d'extrait sont mélangés avec 1 ml de suspension érythrocytaire (10 %) et 5 ml de solution hypotonique. Un contrôle est préparé en mélangeant 5 ml d'eau distillée, 1 ml de suspension érythrocytaire et 5 ml de solution hypotonique. Après une incubation de 10 minutes et une centrifugation à 3000 rpm pendant 10 min, la concentration en hémoglobine du surnageant est mesurée à 540 nm avec un spectrophotomètre. Les pourcentages d'inhibition de l'hémolyse sont calculés comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = \left(\frac{DO_{\text{Contrôle}} - DO_{\text{Echantillon}}}{DO_{\text{Contrôle}}} \right) \times 100$$

Où : Do contrôle (-) : Densité optique de contrôle positif ; Do échantillon : Densité optique de l'échantillon.

C. Activités antibactériennes

Deux souches bactériennes de référence sont utilisées pour évaluer l'effet antibactérien des extraits de plantes : une souche Gram positive (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) et une souche Gram négative (*Escherichia coli* ATCC 25922).

➤ Test de sensibilité

La méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton, décrite par le **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015)**, est utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits de plantes. Les souches bactériennes sont ensemencées sur la surface de la gélose avec un inoculum de turbidité 0,5 McFarland (10^8 UFC/ml). Après séchage des boîtes, des puits sont réalisés dans la gélose à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur, et une goutte de GN est déposée au fond de chaque puits pour empêcher la fuite des extraits au fond

des boîtes de Petri. Un volume de 50 µl de chaque extrait est ensuite ajouté dans chaque puits. Après 2 h au réfrigérateur, les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24 heures. Les extraits de plantes sont classés selon l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne (**Ponce et al., 2003**) : non sensible (<8 mm), sensible (8 à 14 mm), très sensible (15 à 19 mm) et extrêmement sensible (>20 mm).

➤ Concentrations minimales inhibitrices

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont déterminées selon le protocole décrit par **Patton et al. (2006)**. Sept dilutions de 100 µl de chaque extrait végétal sont placées dans les puits d'une microplaque stérile (96 puits), et 100 µl de suspension bactérienne (10⁵ UFC/ml) sont ajoutés dans chaque puits. A titre de contrôle, 100 µl de suspension bactérienne sont inoculés dans 100 µl de DMSO. La densité optique est mesurée dans un lecteur de microplaques à 620 nm avant l'incubation (T0). La plaque est ensuite incubée pendant 24 h à 37 °C. Après incubation, les densités optiques sont à nouveau mesurées à T24. Le pourcentage d'inhibition est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = 1 - (\text{AT} / \text{AC}) \times 100$$

Où : AT : Absorbance T24 - Absorbance T0 de l'échantillon ; AC : Absorbance T24 - Absorbance T0 de contrôle.

III. 2. 6. Analyses statistiques

Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de moyenne ± écart type. Le logiciel STATISTICA 7.1 est utilisé pour effectuer l'analyse de la variance à un facteur (ANOVA) entre les différentes plantes. Les tests de Kolmogorov-Smirnov et de Levene sont appliqués pour vérifier respectivement la normalité et l'homogénéité des variances. Le test post-hoc HSD de Tukey est utilisé pour la comparaison des moyennes. Toutefois, l'ANOVA de Kruskal-Wallis est réalisée pour les variables avec des variances non homogènes.

Les résultats sont classés par ordre croissant : a > b > c > d > e > f. Les valeurs partagées par la même lettre n'indiquent pas de différence statistique significative, et les barres verticales représentent les écarts types.

Chapitre IV

Résultats et discussion

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV. 1. Couleur

Les résultats de l'intensité de couleur des extraits de trois plantes médicinales illustrés dans la figure 9, montrent des différences notables qui peuvent refléter la concentration et la diversité des composés bioactifs présents. *Eucalyptus globulus* (EU) présente la plus haute intensité de couleur à 0,545 DO, suggérant une concentration élevée de pigments et de composés phénoliques ou flavonoïdes, souvent liés à des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. *Urtica dioica* (UR), avec une intensité de couleur de 0,209 DO, indique une concentration plus faible de ces composés, ce qui pourrait se traduire par une faible activité bioactive.

Marrubium vulgare (MR) montre une intensité de couleur intermédiaire de 0,349 DO, suggérant une composition modérée en termes de composés bioactifs. Ces variations d'intensité de couleur peuvent refléter les différences dans la composition chimique et les potentiels bioactifs de chaque plante.

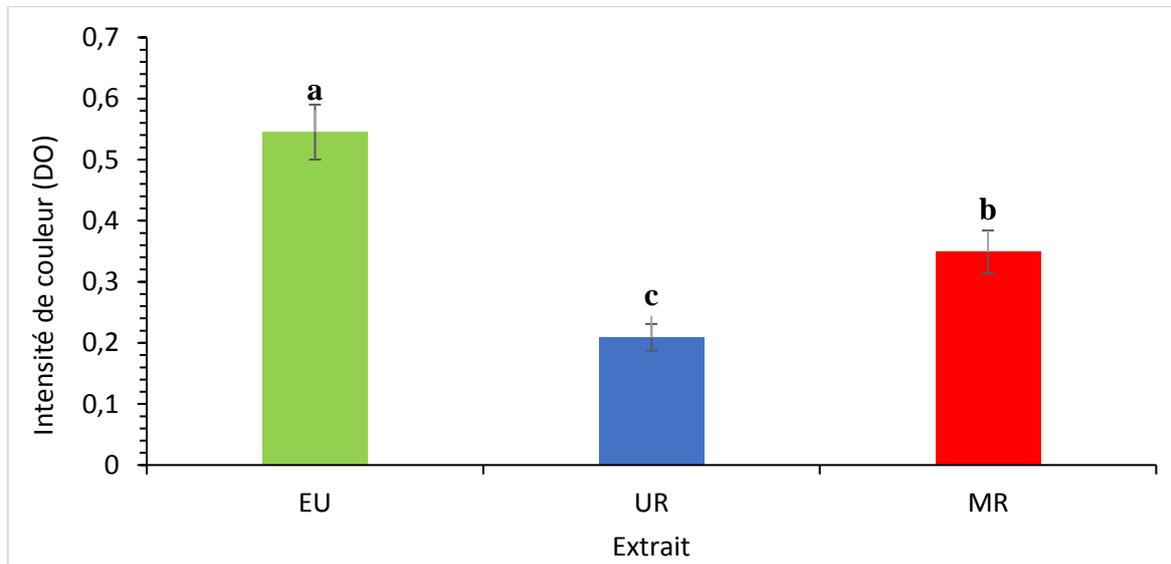


Figure 9 : Intensité de couleur des extraits de plantes étudiées.

L'analyse de la variance pour la couleur ne montre aucun groupe homogène donc tous les échantillons sont significativement différents à $p < 0,05$.

IV. 2. Teneurs en protéines

Les résultats des teneurs en protéines des extraits de trois plantes sont donnés dans la figure 10. *Marrubium vulgare* présente la plus haute teneur en protéines avec 109,36 mg EBSA/g, indiquant une concentration significative de composés protéiques, ce qui pourrait en faire une plante particulièrement intéressante pour ses valeurs nutritionnelles. *Urtica dioica* suit avec une teneur en protéines de 96,88 mg EBSA/g, reflétant également une richesse en composés protéiques, souvent associés à ses propriétés nutritives. *Eucalyptus globulus*, avec une teneur en protéines de 72,78 mg EBSA/g, présente la plus faible concentration de protéines parmi les trois plantes étudiées.

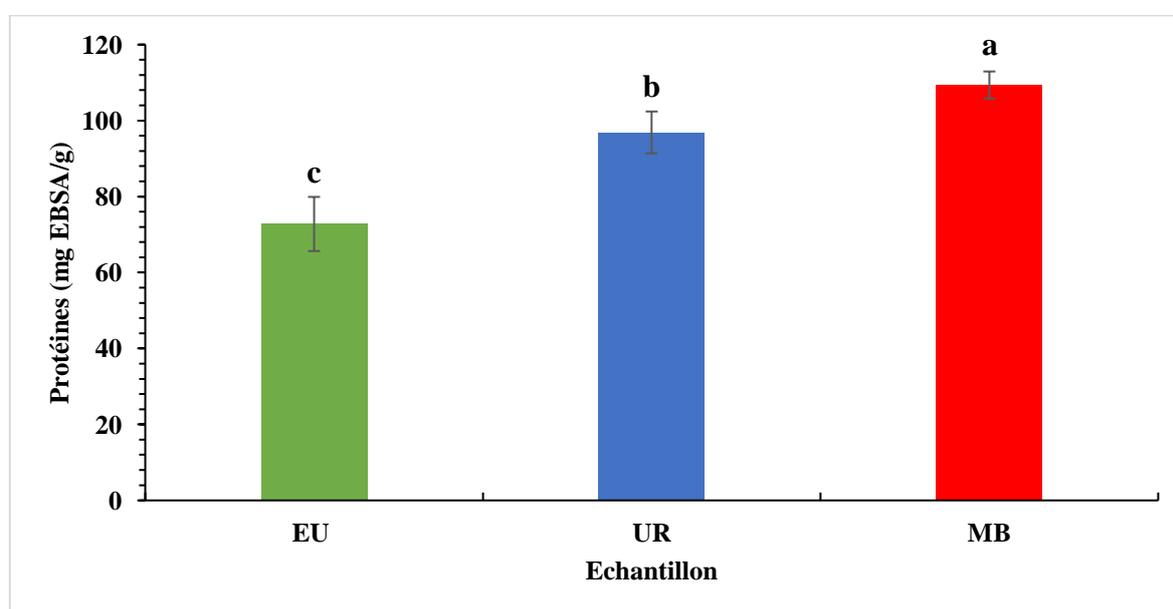


Figure 10 : Teneurs en protéines des extraits de plantes étudiées.

L'analyse statistique ne montre aucun groupe homogène et tous les échantillons sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

La concentration en protéines de UR dans cette étude est inférieure à celles rapportées par **Rafajlovska et al. (2013)** avec un intervalle de 160 à 269 mg EBSA/g. Le taux de protéines d'*Eucalyptus globulus* est inclus dans l'intervalle rapporté par **Bagavathy et Xavier (2007)** avec des valeurs qui oscillent de 45 à 105 mg EBSA/g.

IV. 3. Composés bioactifs

IV. 3. 1. Teneurs en composés phénoliques totaux

Les résultats de diagramme en bâtons de la figure 11, montrent que la teneur en composés phénoliques varie selon la méthode d'extraction et la plante étudiée. Pour *Eucalyptus globulus*, les méthodes d'agitation (265,54 mg EAG/g) et de sonication (252,77 mg EAG/g) sont presque équivalentes, avec une légère supériorité pour l'agitation. *Urtica dioica* présente des teneurs beaucoup plus faibles, avec 38,31 mg EAG/g pour l'agitation et 34,06 mg EAG/g pour la sonication, indiquant une faible concentration en polyphénols pour cette dernière. *Marrubium vulgare* montre des différences plus marquées entre les méthodes, l'agitation (91,53 mg EAG/g) étant nettement plus efficace que la sonication (74,50 mg EAG/g). Globalement, l'agitation semble être une méthode d'extraction des phénols totaux plus efficace, surtout pour *Marrubium vulgare* et *Urtica dioica*, tandis que pour *Eucalyptus globulus*, les deux méthodes sont comparables.

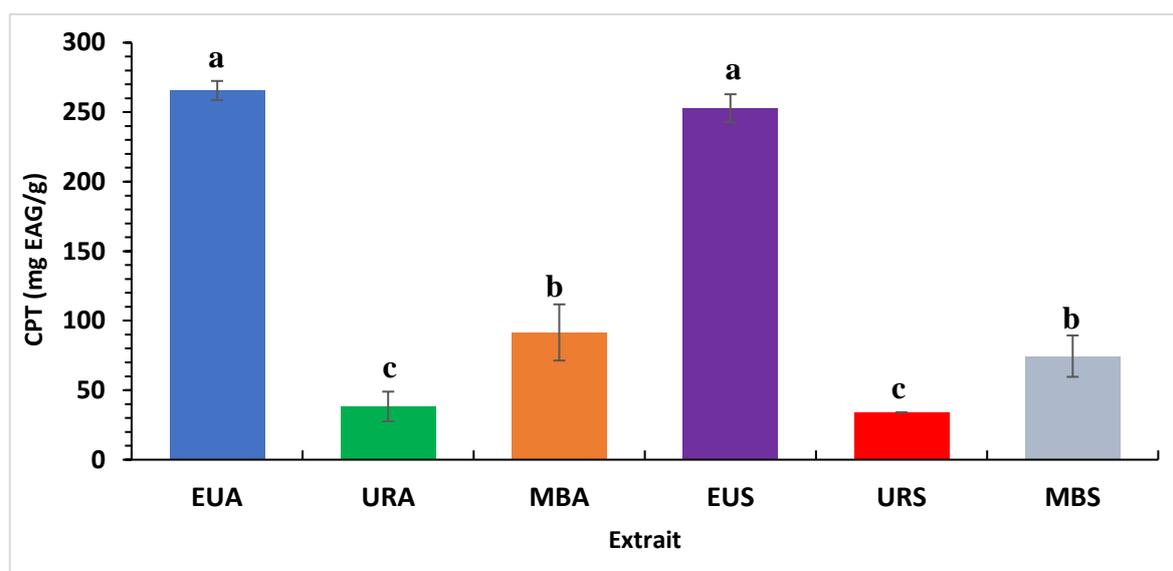


Figure 11 : Teneurs en composés phénoliques des extraits de plantes étudiées.

L'analyse de la variance des teneurs en composés phénoliques montre trois groupes homogènes (EUA et EUS), (MBA et MBS) et (URA et URS) qui ne présentent pas de différence significative. Cependant, les autres échantillons sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

Les teneurs en composés phénoliques de EU sont similaires à celles rapportées par **Vastrad et al. (2016)** dans un extrait éthanolique, avec une valeur de 300 mg EAG/g. Pour MB, les concentrations sont proches de celles rapportées par **Aćimović et al. (2020)** dans un extrait éthanolique, avec un taux de 93,42 mg EAG/g.

Cependant, ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par **Amessis-Ouchemoukh et al. (2014)** avec un taux de 40 mg EAG/g. En ce qui concerne UR, les concentrations sont supérieures à celles rapportées par **Sidaoui et al. (2015)** dans une extraction par macération, avec une valeur de 11,62 mg EAG/g.

Les résultats obtenus révèlent des différences notables dans les teneurs en composés phénoliques des plantes étudiées. Ces variations sont attribuées aux différences spécifiques des espèces analysées, qui se distinguent par leur composition chimique. Selon **Katalinic et al. (2006)**, la composition en polyphénols des feuilles est très variable et ces composés réagissent différemment selon la méthode d'extraction.

IV. 3. 2. Teneurs en flavonoïdes

Les résultats du dosage des flavonoïdes à partir des différents extraits de plantes sont donnés dans la figure 12. Pour *Eucalyptus globulus*, l'agitation produit une teneur en flavonoïdes de 47,88 mg EQ/g, tandis que la sonication donne une concentration inférieure (33,19 mg EQ/g). En revanche, pour *Urtica dioica*, la sonication est beaucoup plus efficace avec une teneur de 86,49 mg EQ/g contre 49,54 mg EQ/g pour l'agitation. Pour *Marrubium vulgare*, la sonication (62,91 mg EQ/g) surpasse largement l'agitation (9,27 mg EQ/g). Ainsi, la sonication s'avère plus efficace pour extraire les flavonoïdes de *Urtica dioica* et *Marrubium vulgare*, alors que pour *Eucalyptus globulus*, l'agitation donne de meilleurs résultats. Ces variations peuvent être attribuées aux différences chimiques intrinsèques des plantes et à leurs réponses spécifiques aux méthodes d'extraction.

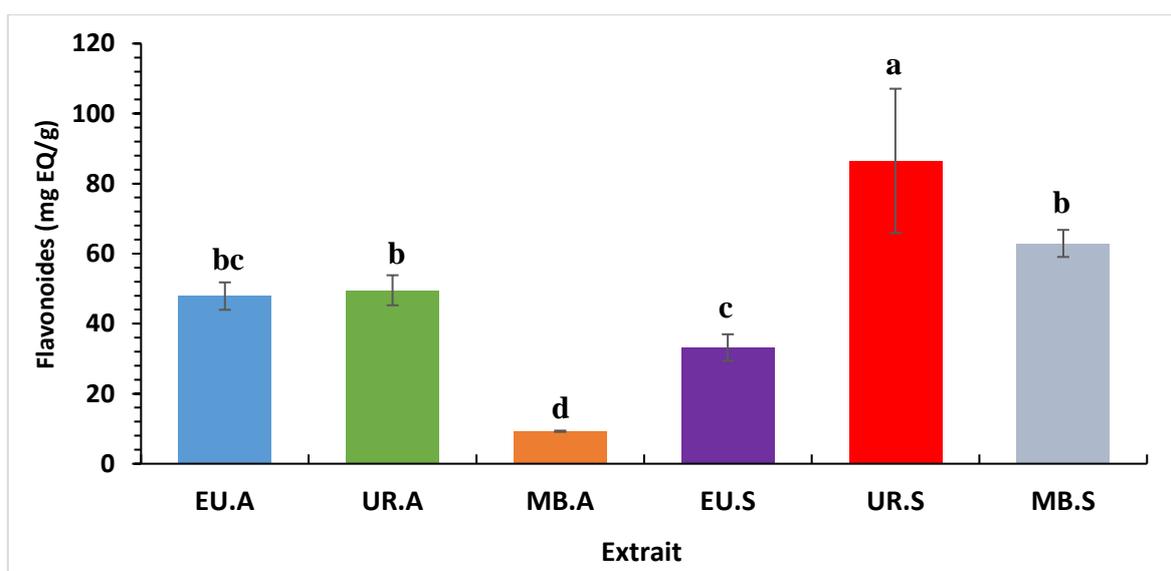


Figure 12 : Teneurs en flavonoïdes des extraits de plantes étudiées.

L'analyse de la variance des teneurs en flavonoïdes montre un groupe homogène (URA et MBS) qui ne présentent pas de différence significative et les autres échantillons sont statistiquement différent à $p < 0,05$.

Les teneurs en flavonoïdes de UR analysée sont supérieures à celles rapportées par **Sidaoui et al. (2015)**, qui était de 7,10 mg EQ/g. Les concentrations pour MB sont également supérieures à celles rapportées par **Bouterfas et al. (2014)** dans un extrait éthanolique, avec une valeur de 38,42 mg EQ/g. De même, les concentrations pour EU sont plus élevées que celles rapportées par **Vastrad et al. (2016)** dans un extrait éthanolique, avec une concentration de 241,90 mg EQ/g.

Les différences dans les teneurs en flavonoïdes des extraits de feuilles des plantes étudiées pourraient être attribuées à divers facteurs, notamment les méthodes d'extraction et de quantification, les facteurs génétiques, ainsi que les conditions de croissance des plantes (**Bibi et al., 2022**).

IV. 3. 3. Teneurs en caroténoïdes

Les résultats de la figure 13 montrent des niveaux variés de caroténoïdes exprimés en mg équivalent β -carotène par g parmi les trois plantes étudiées : *Eucalyptus globulus*, *Urtica dioica*, et *Marrubium vulgare*. *Eucalyptus globulus* présente la concentration la plus faible avec un taux de 3,85 mg E β -carotène/100 g, tandis qu'*Urtica dioica* affiche un niveau plus élevé de 14,50 mg E β -carotène/100g. *Marrubium vulgare* se distingue avec une teneur nettement supérieure de 30,43 mg E β -carotène/100 g. Ces variations significatives suggèrent que *Marrubium vulgare* pourrait être une source particulièrement riche en caroténoïdes, des composés connus pour leurs propriétés antioxydantes et leur rôle potentiel dans la prévention de diverses maladies (**Jomova et al., 2021**).

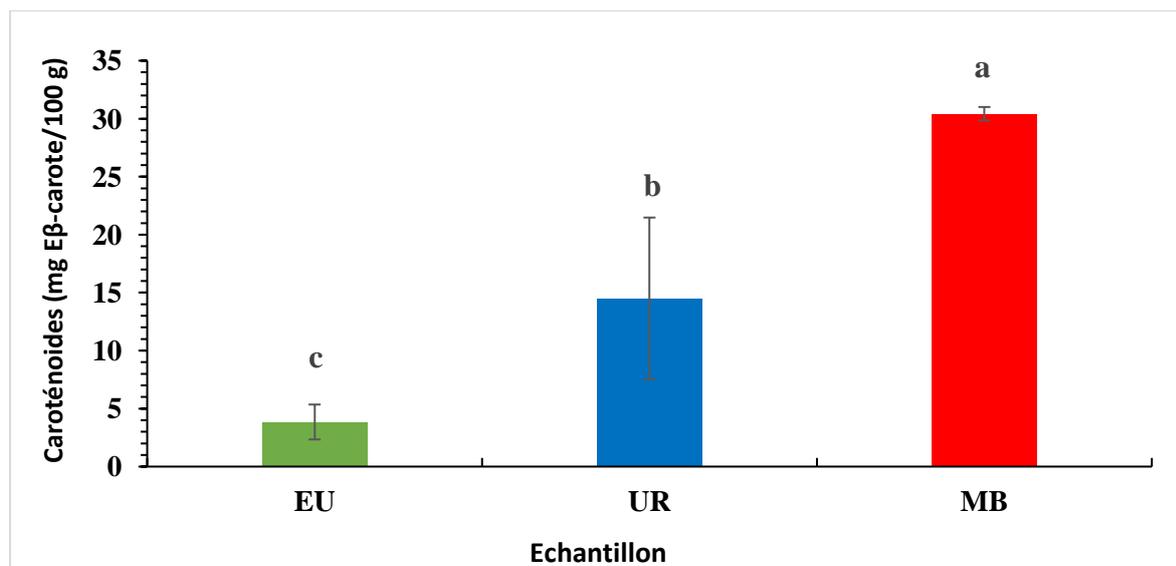


Figure 13 : Teneurs en caroténoïdes des extraits de plantes étudiées.

L'analyse de la variance des teneurs en caroténoïdes montre que tous les échantillons sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

La concentration en caroténoïdes d'*Eucalyptus globulus* obtenue dans cette étude est inférieure à celle rapportée par **El-Khatib et al. (2020)**, qui varie entre 35 et 78 mg/100 g. De même, le taux de caroténoïdes pour *Urtica dioica* est inférieur à celui trouvé par **Jafari et al. (2020)**, qui est de 0,56 mg/100 g.

IV. 4. Activités antioxydantes

IV. 4. 1. Pouvoir anti-radicalaire par le DPPH

Les résultats de pouvoir scavenger du radical DPPH par les extraits de plantes sont représentés dans la figure 14. Pour l'extraction par agitation, *Eucalyptus globulus* affiche la plus haute activité antiradicalaire avec 85,22 %, suivi de *Marrubium vulgare* avec 76,23 %, tandis qu'*Urtica dioica* présente une activité nettement plus faible de 36,61 %. En revanche, lorsque la sonication est utilisée, *Marrubium vulgare* montre la meilleure activité antiradicalaire à 81,65 %, surpassant *Eucalyptus globulus* et *Urtica dioica*, qui montrent respectivement des activités de 26,29 et 32,94 %. Ces différences suggèrent que la méthode d'extraction influence fortement l'efficacité antioxydante des extraits, avec l'agitation étant plus efficace pour *Eucalyptus globulus*, tandis que la sonication semble améliorer l'activité antiradicalaire de *Marrubium vulgare*. Cependant, les deux méthodes montrent une activité antiradicalaire similaire pour *Urtica dioica*.

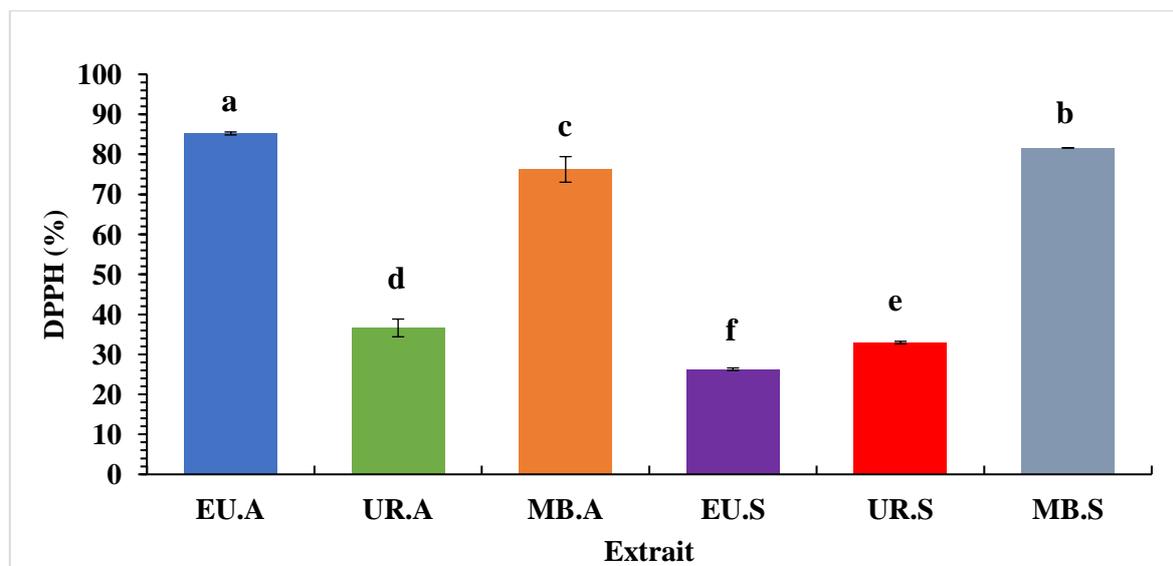


Figure 14 : Activité antiradicalaire DPPH des extraits de plantes étudiées.

Les résultats de l'extrait EU se situent dans la fourchette rapportée par **Nile et Keum (2018)** entre 26,6 et 72,6 %. Le pourcentage d'inhibition de radical DPPH[•] pour UR est inférieur à celui rapporté par **Uğur et Güzel (2023)** dans un extrait méthanolique, qui était de 62,41 %. Par rapport à l'étude d'**Amessis-Ouchemoukh et al. (2014)**, l'activité antiradicalaire de MB est également inférieure à celle trouvée dans cette étude, s'élevant à 52,04 %.

En général, la capacité de piégeage du radical DPPH[•] par les extraits de plantes est probablement attribuable à la présence d'antioxydants dotés d'un fort pouvoir de réduction, en particulier les composés phénoliques qui agissent comme des pièges pour les radicaux libres. Cette fonction est liée à leur capacité à fournir des atomes d'hydrogène et à stabiliser les radicaux phénoxyles résultants grâce à leur système conjugué (**El-Seedi et al., 2012**).

IV. 4. 2. Pouvoir anti-radicalaire par l'ABTS

Les résultats du test antiradicalaire ABTS représenté dans la figure 15 montrent des taux d'inhibition très proches entre les différentes plantes et les méthodes d'extraction utilisées. En effet, l'agitation a donné des taux d'inhibition du radical ABTS de 90,75 % pour *Eucalyptus globulus*, 90,13 % pour *Urtica dioica* et 92,56 % pour *Marrubium vulgare*. De même, la sonication a donné des résultats également élevés avec 91,63 % pour *Eucalyptus globulus*, 91,19 % pour *Urtica dioica* et 91,63 % pour *Marrubium vulgare*.

Ces valeurs proches indiquent que ces plantes possèdent des composés antioxydants efficaces contre le radical ABTS, quel que soit le mode d'extraction utilisé, ce qui souligne leur potentiel en tant qu'agents antioxydants dans la lutte contre le stress oxydatif.

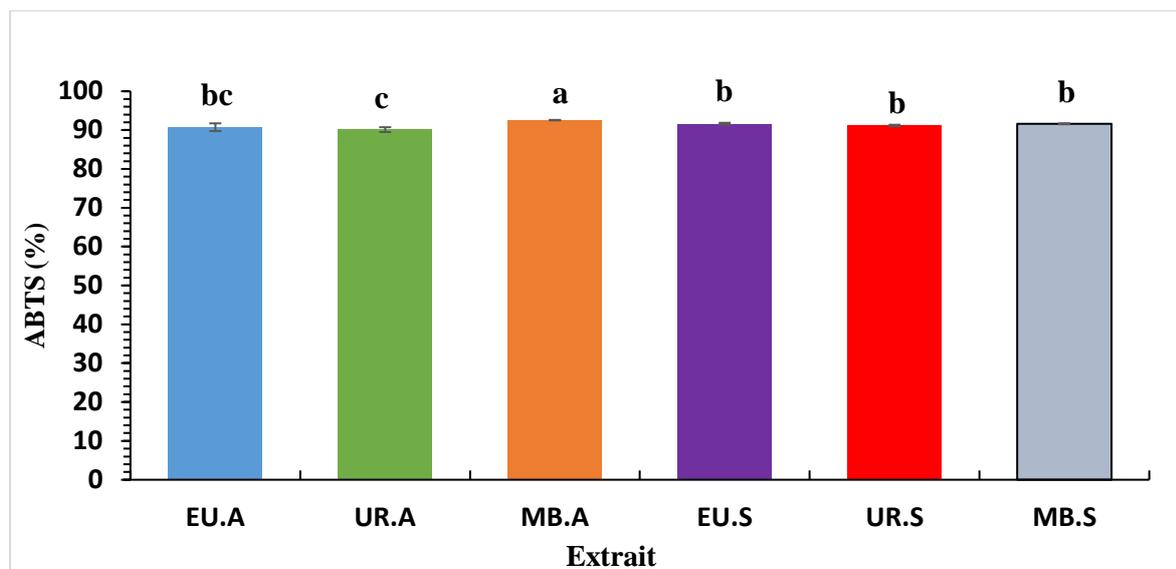


Figure 15 : Activité antiradicalaire ABTS des extraits de plantes étudiées.

Le teste de l'ANOVA a montré un groupe homogène (EUA, EUS, URS et MBS) et les autres échantillons sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

Les résultats de l'extrait UR montrent des taux d'inhibition du radical ABTS supérieurs à ceux obtenus par **Uğur et Güzel (2023)** dans leur extrait méthanolique (35,34 %). De même, le pouvoir antiradicalaire ABTS pour EU dépassent celui rapportés par **Ita (2020)** dans un extrait éthanolique avec une valeur de 43,02 %.

La présence des composés phénoliques et d'autres antioxydants tels que les vitamines et les minéraux et l'effet synergique entre eux augmente l'activité anti-radicalaire des extraits de plantes (**Amessis-Ouchemoukh et al., 2014**).

IV. 4. 3. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits de plantes est donné dans la figure 16. Dans l'extraction par agitation, l'extrait d'*Eucalyptus globulus* affiche le pouvoir réducteur le plus élevé (58,78 mg EAG/g), suivi de près par *Urtica dioica* (46,76 mg EAG/g) et *Marrubium vulgare* (43,54 mg EAG/g). En revanche, lors de l'extraction par sonication, l'extrait d'*Eucalyptus globulus* conserve un pouvoir réducteur élevé (52,27 mg EAG/g), suivi de près par *Urtica dioica* (46,62 mg EAG/g) et *Marrubium vulgare* (43,09 mg EAG/g). Ces résultats soulignent l'influence significative de la méthode d'extraction sur les propriétés antioxydantes des extraits de plantes, avec des différences notables entre les espèces étudiées.

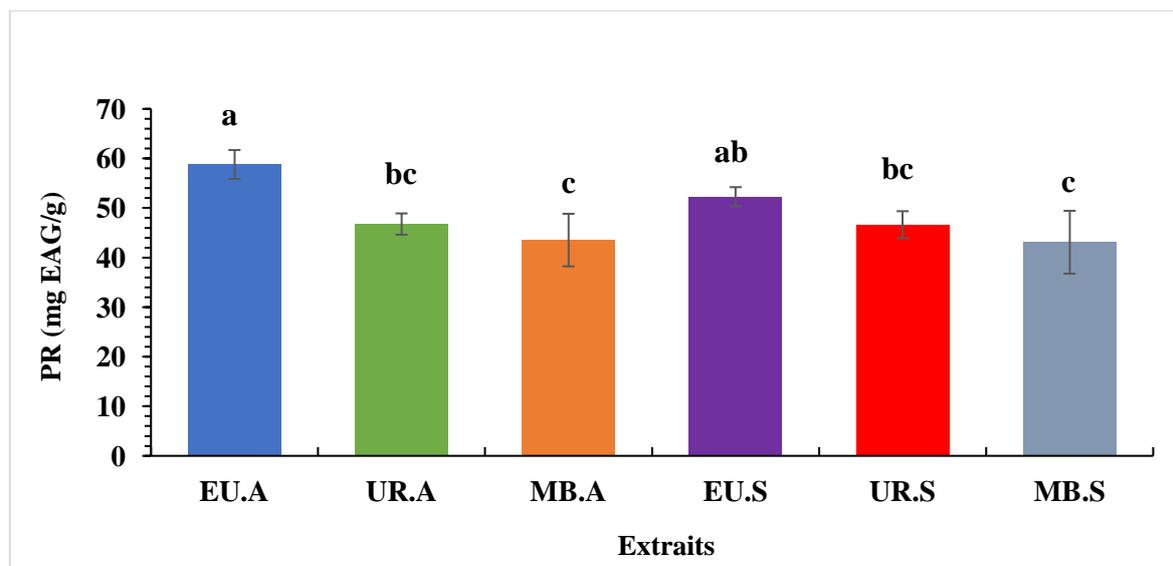


Figure 16 : Pouvoir réducteur des extraits de plantes étudiées.

L'analyse statistique a révélé deux groupes homogènes (UR.A, ERS) et (MBA, MBS) et les autres échantillons sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

L'extrait de *Marrubium vulgare* affiche un pouvoir réducteur inférieur à celui trouvé par **Kabach et al. (2019)**, qui était de 456,93 mg EAG/g. En revanche, l'extrait d'*Eucalyptus globulus* présente un pouvoir réducteur supérieur à celui rapporté par **Ita (2020)** avec une valeur de 8,41 mg EAG/g.

IV. 5. Activité anti-hémolytique

Le tableau II présente les activités anti-hémolytiques des extraits d'*Eucalyptus globulus*, *Urtica dioica* et *Marrubium vulgare* obtenus par agitation et sonication, évaluées sur différents individus (W, M, R, S). Dans le cas des extraits d'*Eucalyptus globulus*, on observe une tendance générale à des valeurs plus élevées d'activité anti-hémolytique lors de l'extraction par sonication par rapport à l'extraction par agitation, avec des différences significatives entre les individus. Pour *Urtica dioica*, les résultats varient également en fonction de la méthode d'extraction, mais sans une tendance claire entre agitation et sonication. En ce qui concerne *Marrubium vulgare*, les deux méthodes d'extraction montrent des niveaux d'activité anti-hémolytique comparables, bien que des variations significatives existent entre les individus.

Les résultats obtenus soulignent l'impact important de la méthode d'extraction sur les propriétés anti-hémolytiques des extraits végétaux et mettent en évidence des variations inter-individus dans ces activités, ce qui pourrait avoir des implications importantes dans leur utilisation potentielle en tant qu'agents thérapeutiques ou compléments alimentaires.

Tableau II : Activités anti-hémolytique des extraits des plantes étudiées.

Extrait	Individu W	Individu M	Individu R	Individu S	Moyen±Ecartype
EUA	32,39	22,80	32,34	57,35	36,22±14,80 ^b
URA	18,32	39,71	37,08	37,03	33,04±9,90 ^c
MBA	26,73	41,39	32,19	43,41	35,93±7,80 ^b
EUS	27,93	41,33	45,40	56,49	42,79±11,80 ^a
URS	37,20	37,67	34,89	55,91	41,42±9,70 ^a
MBS	38,05	40,71	33,43	55,52	41,93±9,50 ^a

L'analyse statistique de l'activité anti-hémolytique montre deux groupes homogènes (EUS, URS et MBS) et (EUA et MBA) qui ne présentent pas de différences significatives. Cependant, URA est statistiquement différent des autres échantillons à $p < 0,05$.

Les extraits de plantes se sont révélés inhiber l'hémolyse des érythrocytes induite par la solution hypotonique. Une explication possible de l'activité stabilisatrice de ces extraits pourrait être une augmentation du rapport surface/volume des cellules, provoquée par une expansion de la membrane ou un rétrécissement de la cellule, ainsi qu'une interaction avec les protéines membranaires. De plus, il a été démontré que la déformabilité et le volume cellulaire des érythrocytes sont étroitement liés au contenu intracellulaire en calcium. Par conséquent, l'effet cytoprotecteur sur la membrane érythrocytaire pourrait être dû à la capacité des extraits à modifier l'afflux de calcium dans les érythrocytes (**Shinde et al., 1999**).

IV. 6. Activités antibactériennes

IV. 6. 1. Test de sensibilité

Les résultats illustrés dans la figure 18 montrent des variations significatives dans les diamètres des zones d'inhibition d'*E. coli* et de *S. aureus* en fonction des extraits de plantes et des méthodes d'extraction utilisées. Les deux souches bactériennes sont extrêmement sensibles aux extraits d'*Eucalyptus globulus* obtenus par agitation et sonication, avec des diamètres de zone d'inhibition de 27,5 et 30 mm pour *E. coli*, et de 27 et 29 mm pour *S. aureus*, respectivement.

En revanche, les deux bactéries montrent une sensibilité modérée aux extraits d'*Urtica dioica*, avec des zones d'inhibition de 11 mm contre *E. coli* et 9 mm contre *S. aureus* pour l'extrait obtenu par agitation, et de 9,5 mm contre les deux bactéries pour l'extrait obtenu par sonication.

La souche *E. coli* n'est pas sensible à *Marrubium vulgare* dans les deux méthodes d'extraction, mais *S. aureus* présente une sensibilité modérée avec un diamètre de 9 mm pour l'extrait obtenu par agitation, tandis qu'elle est non sensible à celui obtenu par sonication. Ces résultats soulignent l'efficacité des extraits d'*Eucalyptus globulus* contre les deux bactéries et l'impact de la méthode d'extraction sur l'activité antibactérienne des extraits.

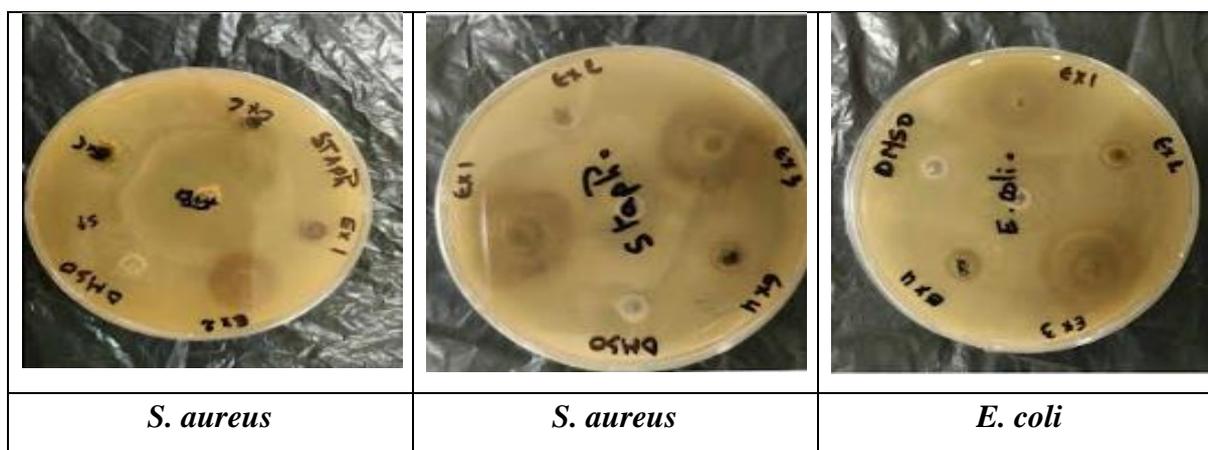


Figure 17 : Photographies des effets antibactériens des extraits de trois plantes sur les souches bactériennes testées.

Figure 18 : Diamètres de zones d'inhibition des extraits de trois plantes contre *E. coli* et *S. aureus*.

	Test de sensibilité			
	DZI <i>E. coli</i> (mm)	EEAAB	DZI <i>S. aureus</i> (mm)	EEAAB
EUA	27,5±0,71 b	ES	27±1,41B	ES
URA	11±1,41 c	S	9±0 C	S
MBA	-	NS	9±1,41 C	S
EUS	30±1,41 a	ES	29±1,41 A	ES
URS	9,5±0,71 d	S	9,5±0,71 C	S
MBS	-	NS	-	NS

L'analyse statistique des diamètres de zones d'inhibition révèle un groupe homogène (URA, MBA et URS) pour la souche *S. aureus* et un groupe homogène (MBA et MBS) pour la souche *E. coli*. Cependant, les autres échantillons sont statistiquement différents à $p < 0,05$.

Les résultats obtenus montrent que les activités de l'extrait d'*Eucalyptus globulus* (EU) sont supérieures à celles rapportées par **Bencheikh et al. (2021)** pour *S. aureus*, qui avaient un intervalle de 19 à 23 mm, ainsi qu'à celles rapportées par **Jammoul et Nawas (2019)** pour la souche *E. coli* (0 mm). De plus, les résultats révèlent que l'activité de l'extrait de *Marrubium vulgare* (MB) sur la souche *E. coli* est inférieure à celle rapportée par **Mssillou et al. (2021)**, qui était de 11,66 mm.

Plusieurs études ont démontré que les composés phénoliques provoquent des altérations physiologiques des facteurs de virulence, des éléments de régulation génétique et de la capacité des bactéries à produire des biofilms. Ces composés peuvent également réduire l'hydrophobie et la capacité d'auto-agrégation de la surface cellulaire, qui sont des caractéristiques importantes liées aux mécanismes d'adhésion des bactéries pathogènes (**Lima et al., 2019 ; Salaheen et al., 2016**).

IV. 6. 2. CMI

Les résultats du Tableau III montrent les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits étudiés sur les souches testées, *E. coli* et *S. aureus*. Les extraits obtenus par agitation d'*Eucalyptus globulus* et de *Marrubium vulgare* n'ont aucun effet inhibiteur sur les deux bactéries, indiquant une résistance totale. En revanche, les extraits d'*Urtica dioica* obtenus par agitation montrent une CMI de 25 mg/ml pour *E. coli* et une CMI inférieure à 0,39 mg/ml pour *S. aureus*. Les extraits d'*Eucalyptus globulus* obtenus par sonication présentent une CMI de 3,44 mg/ml pour *E. coli* et une CMI inférieure à 0,39 mg/ml pour *S. aureus*.

Les extraits d'*Urtica dioica* obtenus par sonication ont une CMI de 25 mg/ml pour *E. coli* et une CMI inférieure à 0,39 mg/ml pour *S. aureus*. Enfin, les extraits de *Marrubium vulgare* obtenus par sonication montrent une CMI de 3,69 mg/ml pour *E. coli* et de 7,46 mg/ml pour *S. aureus*. Ces résultats indiquent que les extraits obtenus par sonication, en particulier d'*Eucalyptus globulus* et de *Marrubium vulgare*, sont plus efficaces pour inhiber *E. coli*, tandis que les extraits d'*Urtica dioica* montrent une efficacité notable contre *S. aureus*.

Tableau III : Résultats des CMI des extraits étudiés sur les souches testées.

Extrait	CMI (mg/ml)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
EUA	Résistante (pas d'effet)	Résistante (pas d'effet)
URA	25±0	<0,39
MBA	Résistante (pas d'effet)	Résistante (pas d'effet)
EUS	3,44±1,76	<0,39
URS	25±0	<0,39
MBS	3,69±0,24	7,46±1,16

Les résultats obtenus montrent que les CMI des extraits de *Marrubium vulgare* contre la souche *E. coli* sont supérieures à celles rapportées par **Mssillou et al. (2021)**, qui étaient de 2,5 mg/ml. De plus, la CMI de l'extrait d'*Urtica dioica* sur la souche *E. coli* est inférieure à celle rapportée par **Motamedi et al. (2014)**, qui était de 40 mg/ml.

Conclusion

Conclusion

Dans le présent travail, deux types d'extraction sont réalisés pour obtenir des extraits éthanoliques par agitation et par sonication de trois plantes médicinales (*Eucalyptus globulus*, *Urtica dioica L* et *Murubium vulgare*). Le dosage des composés bioactifs et l'évaluation de certaines activités biologiques, telles que les activités antioxydante, antihémolytique et antibactérienne des différents extraits des feuilles des trois plantes, sont réalisés.

L'analyse de l'intensité de couleur révèle que l'*Eucalptus golobulus* présente une forte intensité par rapport aux autres plantes. Cependant, *Marubium vulgare* enregistre la plus grande valeur en termes de teneurs en protéines.

Les résultats des teneurs en polyphénols dans les extraits de plantes étudiées, indiquent que l'extraction par agitation semblent être une méthode d'extraction plus efficace que l'extraction par sonication pour les polyphénols. En revanche, les concentrations en flavonoïdes montrent une variabilité remarquable entre les deux méthodes extractions.

L'activité antioxydante des différents extraits des plantes est évaluée par trois méthodes : activités antiradicalaires DPPH et ABTS et le pouvoir réducteur. Les résultats de l'étude montrent que le pouvoir antiradicalaire des extraits des trois plantes varie selon la méthode d'extraction utilisée. Le pouvoir réducteur des extraits étudiés souligne l'influence significative de la méthode d'extraction sur les propriétés antioxydantes des différentes plantes, avec des différences notables entre les espèces étudiées.

En ce qui concerne les activités antihémolytique et antibactérienne, les extraits montrent des résultats plus variés qui dépendant de l'espèce végétale et de la méthode d'extraction.

En perspectives, ce travail mérite d'être complété par :

- ✓ La caractérisation des composés phénoliques des trois plantes par la méthode HPLC.
- ✓ L'évaluation, par des tests *in vivo* et *in vitro*, des activités antidiabétique et anticancéreuse des trois plantes ;
- ✓ L'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques des trois plantes par le plan d'expérience.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Aćimović, M., Jeremić, K., Salaj, N., Gavarić, N., Kiproviski, B., Sikora, V., & Zeremski, T. (2020). *Marrubium vulgare* L.: A phytochemical and pharmacological overview. *Molecules*, 25(12), 2898.

Agidew, M. G. (2022). Phytochemical analysis of some selected traditional medicinal plants in Ethiopia. *Bulletin of the National Research Centre*, 46(1), 87.

Ait Haj Said, A., Sbai El Otmani, I., Derfoufi, S., & Benmoussa, A. (2016). Mise en valeur du potentiel nutritionnel et thérapeutique de l'ortie dioïque (*Urtica dioica* L.). *Hegel*, 6(3), 280-292.

Al, M. L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L., & Bogdanov, S. (2009). Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food chemistry*, 112(4), 863-867.

Al-Snafi, A. E., Al-Saedy, H. A., Talab, T. A., Majid, W. J., Batiha, G. E. S., & Abolfazl, J. S. (2021). The bioactive ingredients and therapeutic effects of *Marrubium vulgare*: A review. *International Journal of Biological and Pharmaceutical Sciences Archive*, 1(2), 009-021.

Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Falé, P. L., Serralheiro, M. L., & Araújo, M. E. M. (2014). Antioxidant capacity and phenolic contents of some Mediterranean medicinal plants and their potential role in the inhibition of cyclooxygenase-1 and acetylcholinesterase activities. *Industrial Crops and Products*, 53, 6-15.

Bagavathy, S., & Xavier, G. S. A. (2007). Effects of aqueous extract of *Eucalyptus globulus* on germination and seedling growth of sorghum. *Allelopathy Journal*, 20(2), 395.

Bath, P. K., & Singh, N. (1999). A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey. *Food Chemistry*, 67(4), 389-397.

Baudoux, D., & Breda, M. L. (2016). Huiles essentielles chémotypées. *Éditions JOM*.

- Bencheikh, D., Gueddah, A., Soualat, K., Ben-aissi, H., Benslama, A., Harrar, A., & Khennouf, S. (2021).** Polyphenolic contents, antioxidant and antibacterial activities of aqueous extracts of *Eucalyptus globulus* L. and *Trigonella foenum-graecum* L. *Journal of Applied Biological Sciences*, 15(1), 53-63.
- Bibi, N., Shah, M. H., Khan, N., Al-Hashimi, A., Elshikh, M. S., Iqbal, A., & Abbasi, A. M. (2022).** Variations in total phenolic, total flavonoid contents, and free radicals' scavenging potential of onion varieties planted under diverse environmental conditions. *Plants*, 11(7), 950.
- Bnouham, M., Merhfour, F. Z., Ziyat, A., Mekhfi, H., Aziz, M., & Legssyer, A. (2003).** Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Urtica dioica*. *Fitoterapia*, 74(7-8), 677-681.
- Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Benmansour, D., Khaled, M. B., Bouterfas, M., & Latreche, A. (2014).** Optimization of extraction conditions of some phenolic compounds from white horehound (*Marrubium vulgare* L.) leaves. *International Journal of Organic Chemistry*, 4(05), 292.
- Bruneton, J. (2008).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 5ème éd. *Lavoisier*, Tec et Doc, 199-339.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème éd. *Lavoisier*, Paris, 1120.
- Chabrier, J. Y. (2010).** *Plantes médicinales et formes et formes d'utilisation en phytothérapie*. Travail en vue d'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie, faculté de pharmacie, Université Henri Poincaré - Nancy 1, p. 172.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2015).** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 25th Informational Supplement. CLSI Document M100-S25, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Da C Azeredo, L., Azeredo, M. A. A., De Souza, S. R., & Dutra, V. M. L. (2003).** Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food chemistry*, 80(2), 249-254.

- Daher, C. F., Baroody, K. G., & Baroody, G. M. (2006).** Effect of *Urtica dioica* extract intake upon blood lipid profile in the rats. *Fitoterapia*, 77(3), 183-188.
- Edzard, E. (2001).** The desktop guide to complementary and alternative medicine: An Evedance-based approach. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 94, 650-651.
- El Haouari, M., Bnouham, M., Bendahou, M., Aziz, M., Ziyat, A., Legssyer, A., & Mekhfi, H. (2006).** Inhibition of rat platelet aggregation by *Urtica dioica* leaves extracts. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(7), 568-572.
- El-Khatib, A. A., Youssef, N. A., Barakat, N. A., & Samir, N. A. (2020).** Responses of *Eucalyptus globulus* and *Ficus nitida* to different potential of heavy metal air pollution. *International Journal of Phytoremediation*, 22(10), 986-999.
- El-Seedi, H. R., El-Said, A. M. A., Khalifa, S. A. M., Göransson, U., Bohlin, L., Borg-Karlson, A. K., & Verpoorte, R. (2012).** Biosynthesis, natural sources, dietary intake, pharmacokinetic properties, and biological activities of hydroxycinnamic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 10877-10895.
- Grauso, L., de Falco, B., Lanzotti, V., & Motti, R. (2020).** Stinging nettle, *Urtica dioica* L.: Botanical, phytochemical and pharmacological overview. *Phytochemistry Reviews*, 19, 1341-1377.
- Gülçin, I., Küfrevioğlu, Ö. İ., Oktay, M., & Büyükokuroğlu, M. E. (2004).** Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of ethnopharmacology*, 90(2-3), 205-215.
- Hemingway, R. W. (1989).** Structural variations in proanthocyanidins and their derivatives. In Chemistry and significance of condensed tannins (pp. 83-107). Boston, MA: Springer US.
- Ita, B. N. (2020).** Antioxidant activity of *Eucalyptus globulus* Labill root extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(3), 190-194.
- Jafari, Z., Samani, S. A., & Jafari, M. (2020).** Insights into the bioactive compounds and physico-chemical characteristics of the extracted oils from *Urtica dioica* and *Urtica pilulifera*. *SN Applied Sciences*, 2(3), 416.

- Jammoul, M. W., & Nawas, T. E. (2019).** Antibacterial effect of the leaves of *Eucalyptus globulus* against clinical bacterial isolates. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 9(2), 110-116.
- Jomova, K., & Valko, M. (2021).** Advances in carotenoid research: Carotenoids in human health and nutrition. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 58(5), 331-353.
- Kabach, I., Mrid, R., Bouchmaa, N., Bouargalne, Y., & Nhiri, A. (2019).** Phytochemical screening, antioxidant and cytotoxic activities of *M. vulgare*. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 11, 338-345.
- Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., & Jukic, M. (2006).** Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food chemistry*, 94(4), 550-557.
- Kesharwani, V., Gupta, S., Kushwaha, N., Kesharwani, R., & Patel, D. K. (2018).** A review on therapeutics application of Eucalyptus oil. *International Journal of Herbal Medicine*, 6(6), 110-115.
- Khanbabaee, K., & Ree, T. V. (2001).** Tannins: Classification and definition. *Natrual product Reports*, 18, 641-649.
- Létard, J. C., Canard, J. M., Costil, V., Dalbiès, P., Grunberg, B., & Lapuelle, J. (2015).** Phytothérapie : Principes généraux. *Hegel*, 5(1), 29-35.
- Lima, M.C., Paiva de Sousa, C., Fernandez-Prada, C., Harel, J., Dubreuil, J. D., & de Souza, E. L. (2019).** A review of the current evidence of fruit phenolic compounds as potential antimicrobials against pathogenic bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 130, 259–270.
- Lin, E. S., & Li, C. C. (2010).** Evaluation of superoxide radical scavenging capacity and reducing power of areca flower extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(10), 975-981.
- Lobstein, A., Couic-Marinier, F., & Koziol, N. (2018).** Huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(573), 59-61.

Lodhi, S., Kumar, V., Pal, A., Kumar, A., Vishwakarma, R., Rawat, B., ... & Patel, A. (2023). A special emphasis on *Eucalyptus globulus* having phytoconstituents along with *in vivo* and *in vitro* pharmacological activity: A review. *Journal of Population Therapeutics and Clinical Pharmacology*, 30(18), 1299-1311.

Lodhi, S., Vadnere, G. P., Sharma, V. K., & Usman, M. R. (2017). *Marrubium vulgare* L.: A review on phytochemical and pharmacological aspects. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 6(4), 429-452.

Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food chemistry*, 91(3), 571-577.

Miloudi, K., Hamimed, A., Benmimoun, Y., Bellebna, Y., Taibi, A., & Tilmatine, A. (2018). Intensification of essential oil extraction of the *Marrubium vulgare* using pulsed electric field. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(3), 811-824.

Miraldi, E., & Baini, G. (2018). Medicinal plants and health in human history: From empirical use to modern phytotherapy. *Journal of the Siena academy of Sciences*, 10(1).

Motamedi, H., Seyyednejad, S. M., Bakhtiari, A., & Vafaei, M. (2014). Introducing *Urtica dioica*, a native plant of Khuzestan, as an antibacterial medicinal plant. *Jundishapur journal of natural pharmaceutical products*, 9(4). e15904.

Mssillou, I., Agour, A., Hamamouch, N., Lyoussi, B., & Derwich, E. (2021). Chemical composition and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of *Marrubium vulgare* L. *The Scientific World Journal*, 2021(1), 7011493.

Nassiri-Asl, M., Zamansoltani, F., Abbasi, E., Daneshi, M. M., & Zangivand, A. A. (2009). Effects of *Urtica dioica* extract on lipid profile in hypercholesterolemic rats. *Journal of Chinese Integrative Medicine*, 7(5), 428-33.

Nile, S. H., & Keum, Y. S. (2018). Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and antitumor activities of *Eucalyptus globulus* Labill. *Indian Journal of Experimental Biology*, 56, 734-742

Ouedraogo, S., Yoda, J., Traore, T. K., Nitiema, M., Sombie, B. C., Diawara, H. Z., ... & Semde, R. (2021). Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(2), 750-772.

Palma, A., Díaz, M. J., Ruiz-Montoya, M., Morales, E., & Giráldez, I. (2021). Ultrasound extraction optimization for bioactive molecules from *Eucalyptus globulus* leaves through antioxidant activity. *Ultrasonics sonochemistry*, 76, 105654.

Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278.

Patton, T., Barrett, J., Brennan, J., & Moran, N. (2006). Use of a spectrophotometric bioassay for determination of microbial sensitivity to manuka honey. *Journal of Microbiological methods*, 64(1), 84-95.

Ponce, A.G., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), 679–684.

Rafajlovska, V., Kavrakovski, Z., Simonovska, J., & Srbinoska, M. (2013). Determination of protein and mineral contents in stinging nettle. *Quality of Life (Banja Luka)-APEIRON*, 7(1-2), 26-30.

Rani, A. A., Punitha, S.M.J., Rema, M. (2014). Anti-inflammatory activity of flower extract of *Cassia auriculata*: An *in vitro* study. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*, 4(1), 57-60.

Ray, J., Goyal, P., & Aggarwal, B. K. (2015). Approach of *Eucalyptus globulus* plant parts for human health safety and toxicological aspects. *British Open Journal of Plant Science*, 1(1), 1-10.

Sadia, M. (2015). *Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales*, Travail en vue d'obtention de Doctorat en Biologie, Université Mohamed Boudiaf' des Sciences et Technologie d'Oran, p. 121.

- Salaheen, S., Jaiswal, E., Joo, J., Peng, M., Ho, R., OConnor, D., Adlerz, K., Aranda Espinoza, J.H., & Biswas, D. (2016).** Bioactive extracts from berry byproducts on the pathogenicity of *Salmonella typhimurium*. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 128-135.
- Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Llaique, H., Villalobos, M., Smeriglio, A., & Martins, N. (2019).** Insights into *Eucalyptus* genus chemical constituents, biological activities and health-promoting effects. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 609-624.
- Sass-Kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, M. M., & Toth-Markus, M. (2005).** Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International*, 38(8-9), 1023-1029.
- Shala, Awad Y., et Mayank Anand Gururani. (2021).** Phytochemical properties and diverse beneficial Roles of *Eucalyptus Globulus* Labill.: A Review. *Horticulturae* 7, (11), 450,1-19.
- Shin, S. A., Moon, S. Y., Kim, W. Y., Paek, S. M., Park, H. H., & Lee, C. S. (2018).** Structure-based classification and anti-cancer effects of plant metabolites. *International journal of molecular sciences*, 19(9), 2651.
- Shinde, U. A., Phadke, A. S., Nair, A. M., Mungantiwar, A. A., Dikshit, V. J., & Saraf, M. N. (1999).** Membrane stabilizing activity a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. *Fitoterapia*, 70, 251-257.
- Sidaoui, F., Belghith, S. I., Barth, D., Trabelsi-Ayadi, M., & Cherif, J. K. (2015).** Study of Tunisian nettle leaves (*Urtica dioica* L.): mineral composition and antioxidant capacity of their extracts obtained by maceration and supercritical fluid extraction. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7(4), 707-713.
- Singh, M., & Kali, G. (2019).** Study on morpho-anatomical and histo-chemical charaterisation of stinging nettle, *Urtica dioica* L in Uttarakhand, India. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(3), 4325-4331.
- Sofowora, A., Ogunbodede, E., & Onayade, A. (2013).** The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. *African journal of traditional, complementary and alternative medicines*, 10(5), 210-229.

Surbhi, Kumar, A., Singh, S., Kumari, P., & Rasane, P. (2023). *Eucalyptus*: phytochemical composition, extraction methods and food and medicinal applications. *Advances in Traditional Medicine*, 23(2), 369-380.

Tahri, A., Yamani, S., Legssyer, A., Aziz, M., Mekhfi, H., Bnouham, M., & Ziyat, A. (2000). Acute diuretic, natriuretic and hypotensive effects of a continuous perfusion of aqueous extract of *Urtica dioica* in the rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 73(1-2), 95-100.

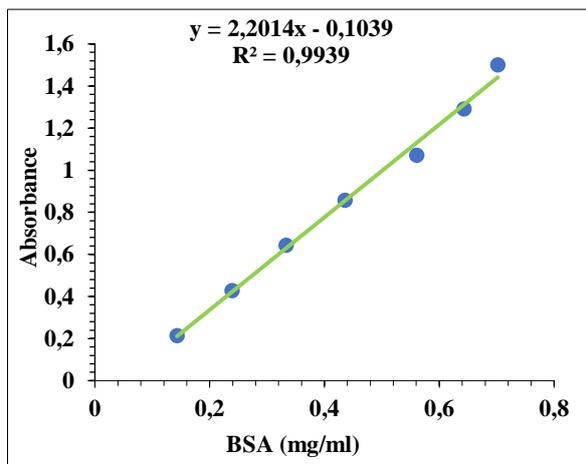
Uğur, Y., & Güzel, A. (2023). Determination of phytochemical content by LC-MS/MS, investigation of antioxidant capacity, and enzyme inhibition effects of nettle (*Urtica dioica*). *Européen Review for Médical & Pharmacological Sciences*, 27(5), 1793-1800.

Verpoorte, R. (2005). Alkaloids. In *Encyclopedia of Analytical Science* 2nd ed., pp, 56-61. Elsevier.

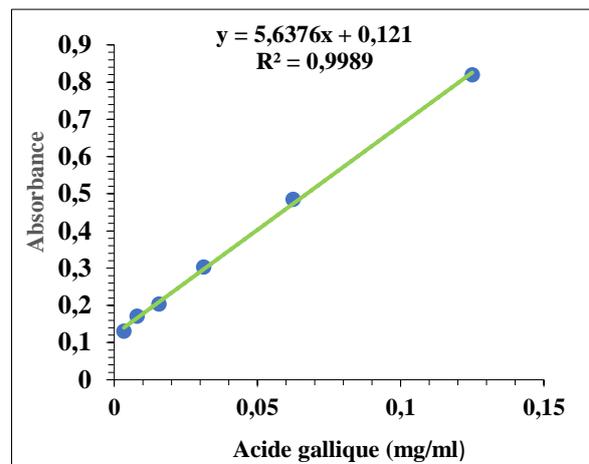
Yahiaoui, S., Kati, D. E., Chaalal, M., Otmani, A., Bettache, N., & Bachir-bey, M. (2023). Phenolic compounds of Fig (*Ficus carica* L.) leaves: Optimization of extraction by response surface methodology and UPLC-MS phytochemical characterization. *Current Bioactive Compounds*, 19(1), 39-51.

Annexes

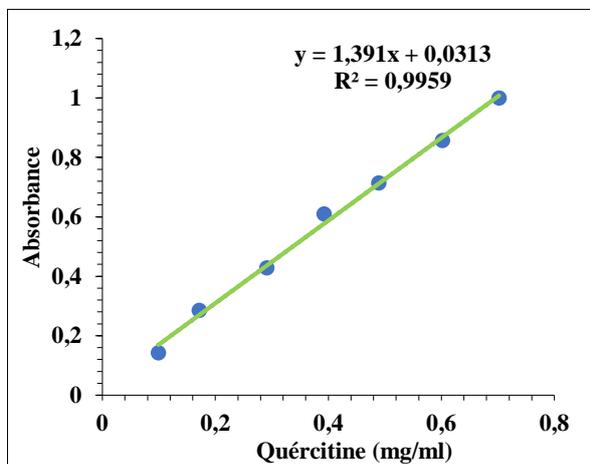
Annexes 01



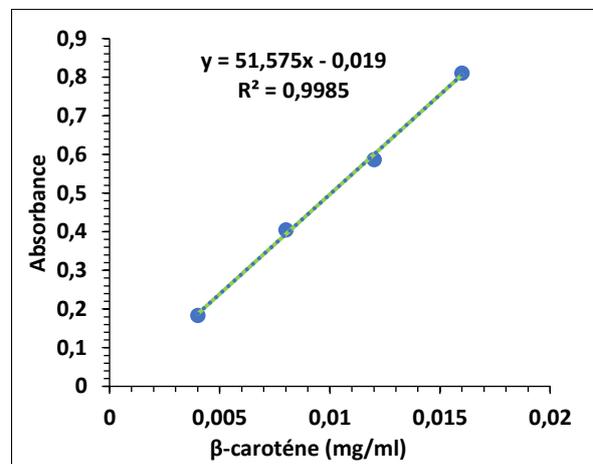
Courbe d'étalonnage des protéines.



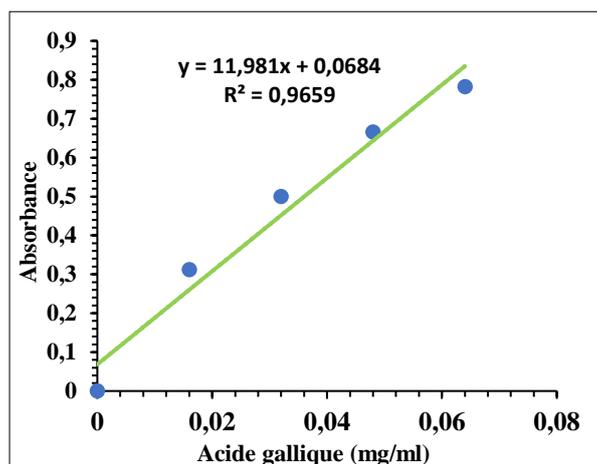
Courbe d'étalonnage des composés phénoliques.



Courbe d'étalonnage des flavonoides.



Courbe d'étalonnage des caroténoïdes.



Courbe d'étalonnage de pouvoir réducteur.

Figure 1 : Courbes d'étalonnages de dosages des protéines, composés phénoliques, flavonoides, caroténoïdes et pouvoir réducteur.

Résumé

Eucalyptus globulus, *Urtica dioica* et *Marrubium vulgare* sont des plantes médicinales appartenant respectivement aux familles des Myrtaceae, Urticaceae et Lamiaceae. Ce travail évalue et compare le potentiel bioactif et les activités biologiques de ces plantes en utilisant deux méthodes d'extraction : l'agitation et la sonication. Les résultats obtenus montrent une variabilité notable entre les méthodes d'extraction utilisés et les espèces végétales étudiées. *Eucalyptus globulus* se distingue par une forte intensité de couleur et une activité antihémolytique élevée lors de l'extraction par sonication. *Marrubium vulgare* présente la plus grande teneur en protéines. L'extraction par agitation est plus efficace pour les composés phénoliques totaux, tandis que les flavonoïdes varient selon la méthode d'extraction et l'espèce végétale. Les extraits d'*Eucalyptus globulus* sont les plus efficaces contre *E. coli* et *S. aureus*, tandis que l'*Urtica dioica* et le *Marrubium vulgare* montrent des activités variables. Ces résultats soulignent l'importance de sélectionner des méthodes d'extraction appropriées pour maximiser le rendement en composés bioactifs et les activités biologiques des plantes médicinales.

Mots-clés : *Eucalyptus globulus* ; *Urtica dioica* ; *Marrubium vulgare* ; Composés bioactifs ; Pouvoir antioxydant, Activité antihémolytique ; Activité antibactérienne.

Summary

Eucalyptus globulus, *Urtica dioica* and *Marrubium vulgare* are medicinal plants belonging to the Myrtaceae, Urticaceae and Lamiaceae families respectively. This study evaluates and compares the bioactive potential and biological activities of these plants using two extraction methods: agitation and sonication. The results obtained show significant variability between the extraction methods used and the plant species studied. *Eucalyptus globulus* stood out for its strong colour intensity and high anti-haemolytic activity when extracted by sonication. *Marrubium vulgare* had the highest protein content. Extraction by agitation is more effective for total phenolic compounds, while flavonoids vary according to extraction method and plant species. *Eucalyptus globulus* extracts were the most effective against *E. coli* and *S. aureus*, while *Urtica dioica* and *Marrubium vulgare* showed variable activity. These results highlight the importance of selecting appropriate extraction methods to maximise the yield of bioactive compounds and the biological activities of medicinal plants.

Keywords: *Eucalyptus globulus*; *Urtica dioica*; *Marrubium vulgare*; Bioactive compounds; Antioxidant power, Antihemolytic activity; Antibacterial activity.

ملخص

Eucalyptus globulus و *Urtica dioica* و *Marrubium vulgare* هي نباتات طبية تنتمي إلى عائلات Myrtaceae و Urticaceae و Lamiaceae على التوالي. تقوم هذه الدراسة بتقييم ومقارنة المركبات النشطة بيولوجيا والأنشطة البيولوجية لهذه النباتات باستخدام طريقتين للاستخلاص: التحريض والسوناتة. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها تباينا كبيرا بين طرق الاستخراج المستخدمة والأنواع النباتية التي تمت دراستها. تتميز شجرة *Eucalyptus globulus* بكثافة ألوانها القوية ونشاطها العالي المضاد للانحلال الدم عند استخلاصها بواسطة الصوتية. يحتوي *Marrubium vulgare* على أعلى نسبة من البروتين. يعتبر الاستخلاص بالتحريك أكثر فعالية بالنسبة للمركبات الفينولية الكلية، بينما تختلف مركبات الفلافونويد حسب طريقة الاستخلاص وأنواع النباتات. كانت مستخلصات نبات *Eucalyptus globulus* هي الأكثر فعالية ضد بكتيريا *E. coli* و *S. aureus*، في حين أظهرت مستخلصات *Urtica dioica* و *Marrubium vulgare* نشاطاً متغيراً. تسلط هذه النتائج الضوء على أهمية اختيار طرق الاستخراج المناسبة لتعزيز إنتاجية المركبات النشطة بيولوجيا والأنشطة البيولوجية للنباتات الطبية.

الكلمات المفتاحية : *Eucalyptus globulus*؛ *Urtica dioica*؛ *Marrubium vulgare*. المركبات النشطة بيولوجيا. قوة مضادة للأوكسدة، نشاط مضاد للانحلال الدم. نشاط مضاد للجراثيم.