ANNONCE de SOUTENANCE DE THESE DE DOCTORAT 3ème cycle -ENPC

La soutenance de thèse de doctorat de Melle Slama Meriem, département Génie des procédés.

Filière: **Génie des procédés,** Spécialité: **Génie Pharmaceutique**,

Sur le thème: **'' Optimisation du procédé d'extraction et des conditions d'analyse des extraits naturels. Application : identification des principes actifs des plantes médicinales et valorisation de leurs activités biologiques ''.**

aura lieu

Lundi 11 juillet 2024 à 17h

à la salle de conférences du 1er étage.

Devant le Jury composé de :

Nom et Prénom	**Grade**	**Etablissement**	**Qualité**
DERBAL Kerroum	Prof	ENP. Malek Benabi Constantine	Président
SLOUGUI Nabila	Prof	ENP. Malek Benabi Constantine	Encadreur
BENAISSA Akila	Prof	Université Salah Boubnider Constantine 3	Co-encadreur
DJERAFI-KAABACHE Khatima	Prof	ENP. Malek Benabi Constantine	Examinateur
SEGHIRI Ramdane	Prof	Université les Frères Mentouri Constantine 1	Examinateur
BICHA Sabrina	Prof	Université les Frères Mentouri Constantine 1	Examinateur

Toute personne intéressée est cordialement invitée.

Optimisation du procédé d'extraction et des conditions d'analyse des extraits naturels. Application : identification des principes actifs des plantes médicinales et valorisation de leurs activités biologiques

Nom et prénom : Slama Meriem
Directrice de thèse : Slougui Nabila
Co-directrice de thèse : Benaissa Akila
Etablissement de rattachement : Ecole Nationale Polytechnique de Constantine
Département : Génie des procédés

Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat troisième cycle en génie des procédés, spécialité génie pharmaceutique

Résumé

Cette thèse de doctorat s'est focalisée sur trois plantes médicinales à savoir *Boragoofficinalis*, *Parietariaofficinalis* et *Ocimum basilicum*, explorées à travers trois études distinctes.

La première a pour but d'optimiser les conditions d'analyse GC-MS de l'huile essentielle de *O. basilicum*, plante médicinale aromatique réputée pour sa richesse en composés volatiles. Pour cela, on est passé par trois étapes : une étude préliminaire pour identifier les éventuelles interférences entre les pics des composés, une première étude consistant à un criblage des paramètres (vitesse de chauffage (°C/min), débit de gaz (ml/min) et rapport de division) influençant le nombre de pics et la résolution du couple d'eucalyptol/D-limonène en utilisant un plan factoriel complet, et une deuxième étude portant sur l'optimisation finale de la résolution de quatre couples de composés (sabinène / β -pinène, eucalyptol/D-limonène, géraniol/acétate de linalyle et eugénol/α-terpinyl acétate) en optimisant le programme de température grâce au plan de Doehlert. Les conditions optimales de la première étude ont été obtenues avec un ratio de division de 1/2, un débit de gaz de 1,3 ml/min et une vitesse de chauffage de 2°C/min, permettant d'atteindre un nombre maximal de pics (155) et une résolution optimale de 0,7. Le programme de la température optimale comprenait une température finale de 121,41°C, une durée de l'isotherme de 6,2 min, et une vitesse de chauffage de 1,06°C/min.

La seconde va se baser sur les huiles essentielles de *B. officinalis*et *P. officinalis*. Tout d'abord, une optimisation du rendement de l'huile essentielle de *B. officinalis* obtenue par hydrodistillation a été réalisée. Le temps d'extraction (h), le rapport liquide/solide (ml/g), le temps de trempage (h) et la forme végétale ont été évalués par des expériences à facteur unique, suivies d'une optimisation finale par le plan Box-behnken. Les conditions d'extraction optimales sont : un temps d'extraction de 5 h, un rapport liquide/solide de 11,06 :1 (ml/g) et un temps de trempage de 2 h 17 min 34 s, produisant ainsi un rendement de 0,42%. L'huile obtenue dans ces conditions a été analysée par GC-MS, révélant la présence de 21 composés dont le phytol représentait 27,92% de la composition. Par ailleurs, une analyse GC-MS de l'huile essentielle de *P. officinalis* obtenue par hydrodistillation a été réalisée pour la première fois, identifiant 60 composés dont le (3Z) hexènol été le plus abondant (53,23 %).

Enfin, la dernière a porté sur la mesurer des teneurs en polyphénols et flavonoïdes des extraits hydrométhanoliques des parties aériennes de *P. officinalis*et *B. officinalis*, ainsi que sur la détermination de leur activité antioxydante et antimicrobienne. Les polyphénols et les flavonoïdes ont été quantifiés en utilisant respectivement les méthodes de Folin-Ciocalteu et de chlorure d'aluminium. L'activité antioxydante a été évaluée avec les tests DPPH, ABTS et FRAP, tandis que l'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion sur un disque d'agar contre quatre bactéries (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*) et deux champignons (*Candida albicans* et *Fusariumoxysporum*). Les résultats ont montré des faibles teneurs en polyphénols et en flavonoïdes pour les deux extraits, ainsi qu'une activité antioxydante généralement faible, à l'exception du test ABTS pour l'extrait de Pariétaire qui a

présenté une valeur de IC50 de 13,75 ± 0,54 µg/ml, comparé à l'acide ascorbique (IC50 de 11,420 ± 0,813 µg/ml). Les résultats de l'activité antimicrobienne ont indiqué une absence ou une inhibition non significative contre les souches testées. En conclusion, cette thèse de doctorat présente une multitude d'objectifs, certains pouvant être développés dans d'autres perspectives.

ABSTRACT

This doctoral thesis examines three medicinal plants, *Boragoofficinalis*, *Parietariaofficinalis*, and *Ocimum basilicum*, through three distinct studies.

The primary aim is to optimize GC-MS analysis conditions of the essential oil of *O. basilicum*, an aromatic medicinal plant renowned for its abundance of volatile compounds. Three main steps were employed: a preliminary study to identify potential compound peak interferences, a first study screening parameters (heating rate (°C/min), gas flow rate (ml/min), and split ratio) affecting peak number and resolution of the eucalyptol/D-limonene pair using a full factorial design, and a second study optimizing resolution of four compound pairs (sabinene/β-pinene, eucalyptol/D-limonene, geraniol/linalyl acetate, and eugenol/α-terpinyl acetate) by temperature program optimization through the Doehlert design. The optimal conditions from the first study were determined to be a split ratio of 1/2, a gas flow rate of 1.3 ml/min, and a heating rate of 2°C/min, resulting in a maximum number of peaks (155) and an optimal resolution of 0.7. The optimal temperature program included a final temperature of 121.41°C, an isotherm duration of 6.2 min, and a heating rate of 1.06°C/min.

The second study focused on the essential oils of *B. officinali s*and *P. officinalis*. Initially, an optimization of the yield of *B. officinalis* essential oil obtained by hydrodistillation was conducted. Extraction time (h), liquid/solid ratio (ml/g), soaking time (h), and plant form were evaluated through single-factor experiments, followed by final optimization using the Box-Behnken design. The optimal extraction conditions were determined to be a 5-hour extraction time, a liquid/solid ratio of 11.06:1 (ml/g), and a soaking time of 2 h 17 min 34 s, resulting in a yield of 0.42%. The oil obtained under these conditions was analyzed by GC-MS, revealing the presence of 21 compounds, with phytol representing 27.92% of the composition. Additionally, GC-MS analysis of *P. officinalis* essential oil obtained by hydrodistillation was conducted for the first time, identifying 60 compounds, with (3Z) hexenol being the most abundant (53.23%).

Finally, the third study focused on measuring the levels of polyphenols and flavonoids in hydromethanolic extracts of the aerial parts of *P. officinalis* and *B. officinalis*, as well as determining their antioxidant and antimicrobial activity. Polyphenols and flavonoids were quantified using the Folin-Ciocalteu and aluminum chloride methods, respectively. Antioxidant activity was assessed using the DPPH, ABTS, and FRAP tests. In contrast, antimicrobial activity was evaluated using the agar disc diffusion method against four bacteria (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*) and two fungi (*Candida albicans*and *Fusariumoxysporum*). The results indicated low levels of polyphenols and flavonoids in both extracts, as well as generally weak antioxidant activity, except for the ABTS test for the *P. officinalis* extract, which showed an IC50 value of 13.75 ± 0.54 µg/ml compared to ascorbic acid (IC50 of 11.420 ± 0.813 µg/ml). The results of antimicrobial activity indicated either the absence or non-significant inhibition against the tested strains. In conclusion, this doctoral thesis addresses a multitude of objectives, some of which may be further developed from other perspectives.

ملخص

ركزت هذه أطروحة الدكتوراه على ثلاث نباتات طبية هي *Borago officinalis* (لسان الثور) و*Parietaria officinalis* و *Ocimum basilicum* (الريحان)، التي تم استكشافها من خلال ثلاث دراسات متميزة.

الدراسة الاولى هدفت الى تحسين ظروف تحليل GC-MS لزيت الأساسي لريحان، وهو نبات طبي عطري مشهور بغناه بالمركبات العطرية. لتحقيق ذلك، مررنا بثلاث خطوات: دراسة تمهيدية لتحديد أي تداخلات محتملة بين قمم المركبات، دراسة أولية تتعلق بفحص المعاملات (سرعة التسخين (°C/دقيقة)، معدل تدفق الغاز (مل/دقيقة) ونسبة التقسيم) التي تؤثر على عدد القمم ودقة زوج اليوكاليبتول/دي-ليمونين باستخدام تصميم كامل العوامل، اما الدراسة ثانية تركز على تحسين الدقة النهائية لأربعة أزواج من المركبات (سابينين / β-بينين، يوكاليبتول/دي-ليمونين، جيرانيول/أسيتات لينالیل ويوجينول/أسيتات ألفا-تربينيل) من خلال تحسين برنامج الحرارة باستخدام تصميم Doehlert. تم الحصول على الظروف الأمثل من الدراسة الأولى بنسبة تقسيم 2/1، ومعدل تدفق الغاز 1.3 مل/دقيقة وسرعة التسخين 2°C/دقيقة، مما أدى إلى الحصول على الحد الأقصى من القمم (155) والدقة الأمثل 0.7. تضمن البرنامج الحراري الأمثل درجة حرارة نهائية بلغت 121.41°C، مدة الحرارة الثابتة 6.2 دقيقة، وسرعة تسخين 1.06°C/دقيقة. تعتمد الدراسة الثانية على الزيوت العطرية للأعشاب الطبية *B. officinalis* و *P. officinalis*. في البداية، تم إجراء تحسين لعائد زيت الأساسي *B. officinalis* المحصل عن طريق التقطير بالماء. تم تقييم زمن الاستخلاص (ساعة)، ونسبة السائل/الصلب (مل/جرام)، وزمن الغمر (ساعة)، وشكل النبات من خلال تجارب عامل واحد، تليها تحسين نهائي بواسطة تصميم Box-behnken. الظروف الاستخراجية المثلى هي: زمن استخلاص 5 ساعات، ونسبة السائل/الصلب 11.06:1 (مل/جرام)، وزمن الغمر 2 ساعة و17 دقيقة و34 ثانية، مما أدى إلى الحصول على عائد قدره 0.42 %. تم تحليل الزيت المحصل في هذه الظروف بواسطة GC-MS، مما أظهر وجود 21 مركبًا، حيث كان فيتول يمثل 27.92% من التركيب. علاوة على ذلك، تم إجراء تحليل GC-MS لزيت الأساسي *P. officinalis* المحصل عن طريق التقطير بالماء لأول مرة، حيث تم التعرف على 60 مركبًا، حيث كان(Z3) هكسينول الأكثر وفرة (53.23%).

ركزت الدراسة الأخيرة على قياس محتويات البوليفينولات والفلافونويدات في الاستخلاصات الهيدروميثانولية لأجزاء نبات *P. officinalis* و *B. officinalis*، بالإضافة إلى تقدير نشاطها المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات. تم تحليل البوليفينولات والفلافونويدات باستخدام طرق فولين-سيوكالتيو وكلوريد الألومنيوم على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبارات DPPH و ABTS وFRAP، بينما تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة الانتشار على قرص الآجار ضد أربعة بكتيريا (*Staphylococcus aureus* ، *Bacillus subtilis*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Escherichia coli*) و واثنين من الفطريات (*Candida albicans* و *Fusarium oxysporum*). أظهرت النتائج محتويات منخفضة من البوليفينولات والفلافونويدات في الاستخلاصين، بالإضافة إلى نشاط مضاد للأكسدة ضعيف بشكل عام، باستثناء اختبار ABTS لاستخلاص *Parietaria officinalis* الذي أظهر قيمة IC50 تبلغ 13.75 ± 0.54 ميكروغرام/مل، مقارنة بحمض الأسكوربيك (IC50) من 11.420 ± 0.813 ميكروغرام/مل. أشارت نتائج النشاط المضاد للميكروبات إلى عدم وجود أو تثبيط غير معتبر ضد السلالات المختبرة. في الختام، تقدم هذه الأطروحة الدكتوراه مجموعة من الأهداف، بعضها قد يمكن تطويره في منظورات أخرى.

الكلمات الرئيسية : *Borago officinalis* ، *Parietaria officinalis*، *Ocimum basilicum*، الزيوت الأساسية، التحسين، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات، البوليفينولات