

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS SÉTIF 1
FACULTÉ DE MÉDECINE



DÉPARTEMENT DE PHARMACIE

Mémoire De Fin D'étude En Vue De L'obtention

Du Diplôme De Docteur En Pharmacie

**ETUDE PHYTO-CHIMIQUE ET
MICROBIOLOGIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE
DE *Lippia Citriodora***

Soutenu publiquement le : 26/06/2023

Encadrant : **Dr GAAMOUNE Sofiane**, Maître de recherche classe A

Co-Encadrant : **Dr NOUIOUA Wafa**, Maître de conférence classe A en Écologie et environnement

Présentée et soutenue par

BERGHEUL Moncef El-Hakim

HARCHE Salim

KACEM Moncef

ZEROUAL Abd Raouf

Jury d'évaluation

Président du jury : **Pr. CHERMAT Sabah** Professeur en Écologie et environnement

Examinateur : **Dr. YAMOUN Assia** Maître assistante hospitalo-universitaire en Toxicologie

Examinateur : **Dr. KADA Seoussen** Maître de conférence classe B en Biochimie.

Année Universitaire 2022/2023



ملخص

Lippia citriodora ، المعروفة باللغة العربية باسم Louisa ، هي نبات طبي عطري ينتمي إلى عائلة Verbenaceae ، إحدى أهم عائلات النباتات الجزائرية.

ركز عملنا على الدراسة الفيزيائية والكيميائية والأنشطة البيولوجية للزيت الأساسي لـ *Lippia citriodora* ، والتي تم تنفيذها على مستوى مختبر المعهد الوطني للبحوث الزراعية (Sétif INRA). أجريت دراسة التركيب الكيميائي للزيت الأساسي المستخرج بطريقة CG-MS على مستوى مخبر السموم بقسم الصيدلية سطيف خلال العام الدراسي 2022-2023.

إن الزيت الأساسي الذي تم الحصول عليه بواسطة جهاز التقطير المائي من نوع Clevenger أصفر اللون ويمتلك رائحة الليمون اللطيفة ويمتوسط إنتاج $(0.11 \pm 1.31)\%$ من النبات.

سمح لنا تحليل CG-MS للزيت الأساسي بتحديد 39 مركبًا يمثلون 97.57% من إجمالي الزيت الذي يهيمن عليه وجود مركبات الأغلبية: Limonene كمكون رئيسي (30.99%)، Spathulenol (13.36%)، Neral (14.29%)، citral (5.22%)، Ar-curcumene (10.66%) والذي يمثل 74.52% من الزيت الأساسي.

أظهرت دراسة النشاط المضاد للأوكسدة باستخدام طريقة DPPH وجود نشاط مضاد للأوكسدة مهم لأنه يثبط أكثر من 80% من DPPH و $IC_{50} = 348.02 \pm 64566.75$ ميكروغرام / مل، مقارنة مع BHT القياسي.

يُظهر تقييم النشاط المضاد للالتهابات في المختبر بواسطة اختبار خلايا الدم الحمراء HRBC (عملية لتثبيت غشاء دم الإنسان) أن الزيت الأساسي لديه متوسط قوة مضادة للالتهابات مع حد أقصى لنسبة تثبيط انحلال الدم بنسبة 52.61% و $IC_{50} = 145.47 \pm 875.1$ ميكروغرام / مل.

تسمح لنا طريقة aromatoqramme بتحديد نشاط مضاد للجراثيم قوي للزيت ضد السلالات البكتيرية إيجابية الجرام التي تم فحصها: *Bacillus ATCC 6633 ATCC 27853* و *Staphylococcus Aureus ATCC 25923* مقارنة بالبكتيريا سالبة الجرام: *Bacillus ATCC 6633 Escherichia Coli ATCC 25922*.

الكلمات الأساسية: *Lippia citriodora* HE، التركيب الكيميائي، CG-MS، نشاط مضاد للأوكسدة، نشاط مضاد للالتهابات، نشاط مضاد للبكتيريا.



Abstract:

Lippia citriodora, known in Arabic as (Louisa), is an aromatic medicinal plant belonging to the Verbenaceae family, one of the most important families in Algerian flora.

Our work has focused on the physicochemical study and biological activities of lemon verbena essential oil, carried out in the laboratory of the national agricultural research institute laboratory in setif. The study of the chemical composition of essential oil extracted by the CG-MS method was carried out in the Toxicology laboratory of the Setif pharmacy department during the 2022-2023 academic year.

The essential oil obtained by a Clevenger-type hydrodistiller is yellow in color, with a pleasant lemony odor and an average yield of $(1.31 \pm 0.11\%)$ of the plant.

GC-MS analysis of the essential oil enabled us to identify 39 compounds representing 97.57% of the total oil, dominated by the presence of the major compounds: Limonene as the major constituent (30.99%), citral (14.29%), Neral (13.36%), Spathulenol (10.66%), Ar-curcumene (5.22%), which represented 74.52% of HE.

The study of the antioxidant activity of essential oils by the DPPH method, showed the existence of significant antioxidant activity as they inhibited more than (80%) of the DPPH compared with standard BHT, and an IC₅₀ of $(64566.75 \pm 348.02 \mu\text{g} / \text{ml})$. Evaluation of anti-inflammatory activity in Vitro by the HRBC red blood cell assay (human blood membrane stabilization procedure) shows that the essential oil possesses medium anti-inflammatory power, with a maximum hemolysis inhibition percentage of 52.61% and an IC₅₀ of $(875.1 \pm 145.47 \mu\text{g} / \text{ml})$. The aromatogram method enabled us to determine strong anti-bacterial activity of the oil against the Gram-positive bacterial strains examined: *Bacillus* ATCC6633 ATCC27853 and *Staphylococcus Aureus* ATCC25923 as well as against gram-negative bacteria: *Escherichia Coli* ATCC25922, *Bacillus* ATCC6633.

Key word: essential oil, *Lippia citriodora*, lemon verbena, chemical composition, GC-MS, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, anti-bacterial activity



Résumé

Lippia citriodora, connue en Arabe sous le nom de Louisa est une plante médicinale aromatique, qui appartient à la famille des verbénacées, l'une des familles les plus importantes de la flore algérienne.

Nos travaux, ont porté sur l'étude physicochimique et les activités biologiques d'HE de la *Lippia citriodora*, qui sont réalisées au niveau de laboratoire d'institut national de la recherche agronomique Sétif (INRA). L'étude de la composition chimique d'HE extraite par la méthode CG-MS a été réalisée au niveau de laboratoire de Toxicologie du département de pharmacie Sétif durant l'année scolaire 2022-2023.

L'HE obtenue par un hydrodistillateur de type Clevenger est de couleur jaune, odeur agréable citronnée et avec un rendement moyen de ($1,31 \pm 0.11\%$) de la plante.

L'analyse CG-MS de l'HE nous a permis l'identification de 39 composés qui représentent 97,57% de l'huile total dominée par la présence des composés majoritaires : le Limonène comme constituant majeur (30,99%), citral (14,29%), Neral (13,36%), Spathulenol (10,66%), Ar-curcumene (5,22%), qui représentait 74,52% de HE.

L'étude de l'activité antioxydante d'HE par la méthode de DPPH, a montré l'existence d'une activité antioxydante importante car elle a inhibé plus de (80%) du DPPH comparé avec de standard BHT, et un IC_{50} de ($64566,75 \pm 348,02 \mu g / ml$). L'évaluation de L'activité anti inflammatoire in Vitro par le test des globules rouges HRBC (procédé de stabilisation de la membrane du sang humain) montre que l'HE possède un pouvoir anti inflammatoire moyenne avec un pourcentage d'inhibition d'hémolyse maximal de 52,61% et un IC_{50} de ($875,1 \pm 145,47 \mu g / ml$). La méthode d'aromatogramme nous permet la détermination d'une forte activité anti bactérienne de l'huile contre les souches bactériennes à Gram positif examinées : Bacillus ATCC 6633 ATCC 27853 et Staphylococcus Aureus ATCC 25923 que sur les bactéries à gram négatif : Escherichia Coli ATCC 25922, Bacillus ATCC 6633.

Mot clé : HE, *Lippia citriodora*, composition chimique, CG-MS, activité antioxydante, activité anti inflammatoire, activité anti bactérienne.