

RÉPUBLIQUE ALGERIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Abderrahmane Mira-BEJAIA

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : En Génie des Procédés

Option : Génie pharmaceutique

Thème

***Extraction des métabolites biologiquement actifs des parties
aériennes d'une espèce de la famille Papaveraceae***

« Le coquelicot rouge »



Membres du jury

Présidente : Mme H.Belkacemi

Examinatrice : Mme Z.Bouariche

Encadreur : Mme N.Belhadj

Réalisé et Présenté par :

Mr Billal AOUDJIT

M^{elle} Lydia HAMOUCHENE

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force et les moyens qui nous a éclairé les voies de la science et de la connaissance et qui nous a aidés à réaliser et compléter cette recherche modeste travail.

❖ *Au terme de ce travail nous adressons tout d'abord nos sincères remerciements à:*

Premièrement, nous remercions notre promotrice madame N. Belhadj pour avoir accepté de nous encadrer et de nous diriger, pour son soutien, ses encouragements ainsi que pour la confiance qu'elle nous a accordé en réalisant ce travail, nous la remercions profondément pour sa compréhension, sa patience et sa politesse incomparable.

Comme nous ne pouvons pas oublier à remercier les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicaces

A mes très chers parents :

La lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie
Ma Mère qui'a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous
les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa
présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression
de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon Père qui'est être fier et trouver ici le résultat de longues années de
sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire
en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles,
l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A mon frère et mes très chères sœurs :

SidAli ; Kenza et Zahoua

A mon grand-père :

Adelkarim

A tous ceux que je porte dans mon cœur

Lydia



Dédicaces

Je dédie ce mémoire pour ma chère Maman

Qui l'a mérité ou je suis arrivé

Billal

Liste des figures

Figure I.1 : Floraison de coquelicots dans un champ d'Elkseur (Bejaia).....	3
Figure I.2 : Aspect des différentes parties de la plante <i>Papaver rhoeos</i> L.....	4
Figure I.3 : Aspect des graines de <i>Papaver rhoeos</i> L.....	5
Figure I.4 : Les différentes classes des composés phénoliques.....	8
Figure I.5: Structure de base d'un Flavonoïde.....	9
Figure I.6: Structure de la coumarine.....	12
Figure I.7: Structures chimiques typiques des tanins.....	13
Figure II.1 : Localisation géographique de la station de la récolte de <i>Papaver Rhoeas</i> (google maps).....	16
Figure II.2 : Les pétales du coquelicot rouge <i>Papaver Rhoeas</i> L avant et après le séchage.....	17
Figure II.3 : Protocole de dosage des polyphénols totaux.....	20
Figure II.4 : Protocole de dosage des flavonoïdes.....	21
Figure II.5 : Protocole de dosage des tannins condensés.....	23
Figure II.6 : Protocole de dosage des sucres réducteurs par la Réaction de fehling.....	24
Figure II.7 Analyse qualitative par chromatographie sur couche mince C.C.M.....	25
Figure II.8 : La chromatographie sur colonne.....	26
Figure II.9 : Les composants d'un appareil HPLC.....	27
Figure II.10 : Appareil de l'UV visible-spectro.....	29
Figure II.11 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH.....	30
Figure II.12 : Protocole de dosage anti-radicalaire in vitro par le test au DPPH.....	30
Figure II.13 : Protocole du test antibactérien.....	34
Figure III.1 : Taux d'humidité de papaver Rhoeas L dans différent région.....	36
Figure III.2 : les rendements d'extraction des différentes parties de papaver rhoeasL (Coquelicot) avec les différents solvants.....	37
Figure III.7 : Teneurs en poly phénols totaux des extraits étudiés (mg EqAG/ g MS).....	47
Figure III.8 : Teneurs en flavonoïdes dans les extraits étudiés (mg Eq Q/ g MS).....	48
Figure III.9 : Teneurs en tannins condensés dans les extraits étudiés (mg EqAG/ g MS).....	49

Figure III.10 : Représentation des activités antioxydant des extraits des pétales de <i>Papaver Rheoas L</i> dans les différents solvants.....	51
Figure III.11 : L'activité anti radicalaire des extraits des feuilles de <i>Papaver Rheoas L</i> dans les différents solvants.....	51
Figure III .12 : Etude comparative de l'activité anti oxydante des extraits aqueux des parties aeriennes de <i>Papaver Rheoas L</i> et acide ascorbique.....	52
Figure III.13 : histogramme de comparaison entre les deux parties de la plante contre inhibition de la souche <i>staphylococcus aureus</i>	53
Figure III.14 : histogramme de comparaison entre les deux parties de la plante contre inhibition de la souche <i>Escherichia coli</i>	54
Figure III.15 : Sirop OXSEDABACOQ.....	55

Liste des tableaux

Tableau I.1: Principaux types structuraux d'alcaloïdes.....	10
Tableau III.1. Taux d'humidité des pétales de <i>Papaver Rhoeas L.</i>	36
Tableau III.2 : Résultats des tests phytochimiques.....	38
Tableau III.3 : Des résultats de l'analyse C.C.M e l extrait des pétales de <i>Papaver Rhoeas L.</i>	44
Tableau III.4 : Teneur en phénols totaux, flavonoïdes et tanins dans les différents organes de <i>Papaver Rhoeas L.</i>	46
Tableau III.5 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne par les différents extraits bruts étudiés.....	53

Liste des abréviations

C.C.M : Chromatographie sur couche mince.

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

DPPH :Diphenylpicrylhydrazyl.

ERO :Espèces réactives de l'oxygène.

HPTLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance.

IR : Infrarouge.

mgEq AC : Milligramme équivalent de la acide gallique.

mgEq C : Milligramme équivalent de la catéchine.

mgEq Q : Milligrammeéquivalentde la quercetine.

MS : Masse sèche.

RCOO⁻:Unacidecarboxylique.

R-CHO:Unaldehyde.

RF : Rapport frontaux.

TCs : Les tannins condensés.

Tr : Temps de rétention.

Uv-visible :Ultraviolet.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviation

Introduction.....1

Chapitre I : Aspect théorique de l'étude

I.1. Aspect botanique de la plante.....3

I.1.1. Description de la famille *Papaveraceae*3

I.1.2. Description du genre coquelicot (*Papaver rhoeos L*).....3

I.1.3. Appellation.....5

I.1.4.Aspect Biologique de *Papaver rhoeos L*.....6

I.1.5.Composition du *Papaver rhoeos L*.....6

I.2.Aperçu théorique sur les métabolites secondaires7

I.2.1. Polyphénols totaux7

I.3. Utilisation thérapeutique de *Papaver rhoeos L*.....14

I.4.Aspect galénique.....14

I.4.1. Formes galénique du coquelicot.....15

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matériel végétal.....16

II.2. Détermination du taux d'humidité dans les parties aériennes du coquelicot rouge
Papaver Rhoeos L.....16

II.3. Extraction des métabolites secondaires du coquelicot rouge *Papaver Rhoeos L*.....17

II.3.1. Extraction par décoction dans l'eau.....18

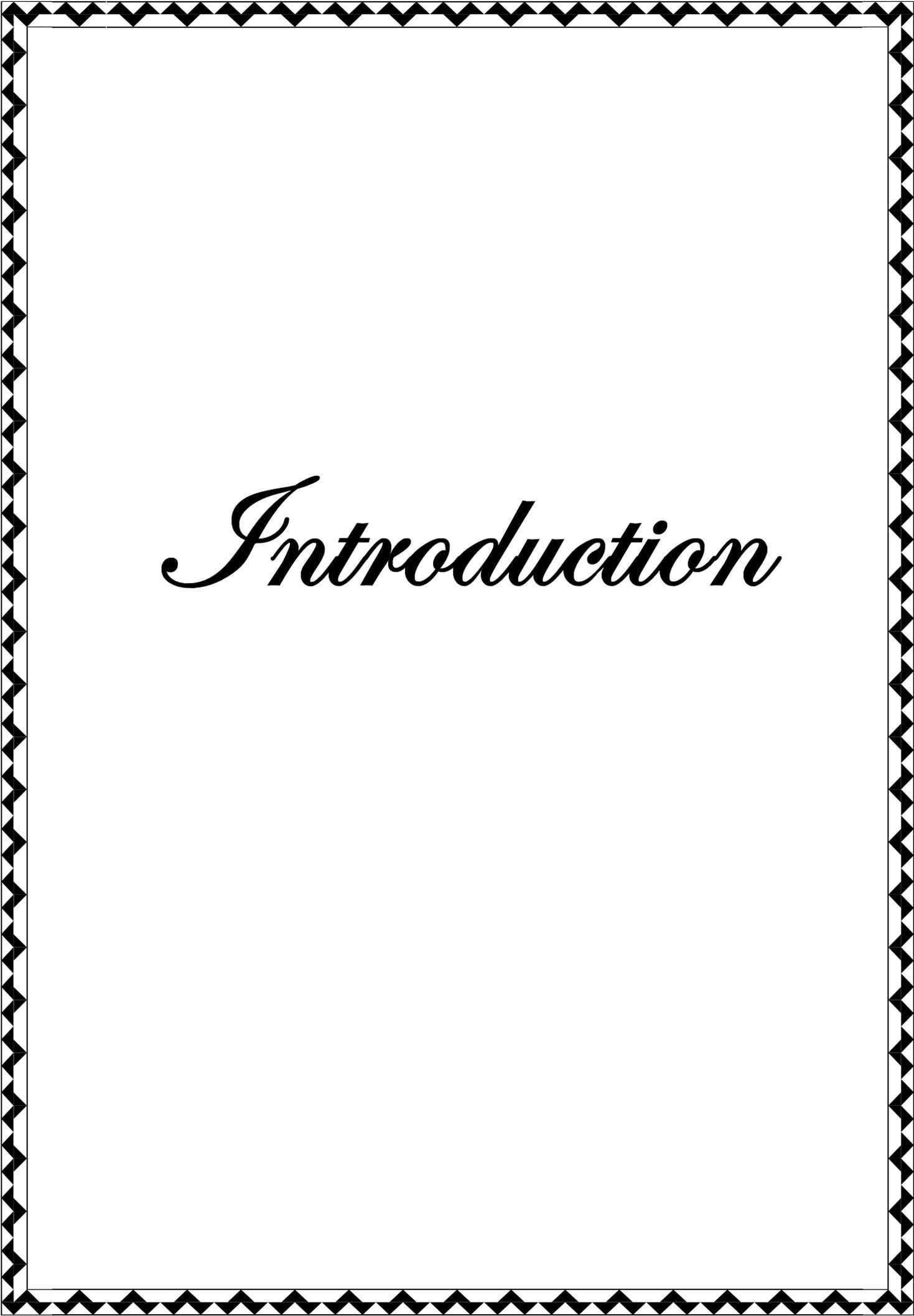
II.3.2. Extraction par macération dans les différents solvants organique.....18

II.4. Détermination du rendement d'extraction.....	19
II.5. Caractérisation des métabolites secondaires des extraits de coquelicot rouge <i>Papaver Rhoeas L.</i>.....	19
II.5.1. Screening photochimique des extraits végétaux.....	19
II.5.1.1. Détection et Dosage des polyphénols totaux.....	20
II.5.1.2. Dosage des flavonoïdes.....	21
II.5.1.3. Dosage des tannins condensés.....	22
II.5.1.4 Dosage des composés réducteurs de sucres (Réaction de Fehling).....	24
II.5.2. Caractérisation par chromatographie.....	24
II.5.2.1. Chromatographie sur couche mince (C.C.M).....	25
II.5.2.2. Chromatographies sur colonne de silice.....	26
II.5.2.3. Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).....	27
II.5.3. Caractérisation par Ultraviolet –Visible (UV-Vis).....	28
II.6. Etude des activités biologiques du coquelicot rouge (<i>Papaver Rhoeas L.</i>).....	29
II.6.1. Etude de l'activité anti-radicalaire in vitro par le Test au DPPH.....	29
II.7. Activité antibactérienne des extraits végétaux de <i>Papaver rhoeas L.</i>.....	33

Chapitre III : Résultats et discussions

III.1. Détermination du taux d'humidité dans les parties aériennes du coquelicot rouge <i>Papaver Rhoeas L.</i>.....	36
III.2. Rendement d'extraction.....	37
III.3. Résultats de l'identification qualitative et quantitative de <i>Papaver Rhoeas L.</i>.....	38
III.3.1 Identification qualitative.....	38
III.3.1.1 Tests phytochimiques.....	38
III.3.1.2. Chromatographie sur couche mince (C.C.M).....	44
III.3.1.3. Chromatographie sur la colonne de silice.....	45

III.3.2 Analyse quantitative.....	46
III.3.2.1.Dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tannins.....	46
III.4.Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).....	49
III.6 Résultats des Tests de l'activité biologique des extraits de <i>Papaver Rheoas L.</i>.....	50
III.6.1. Résultats de l'activité anti radicalaire in vitro des extraits de <i>Papaver Rheoas L.</i>.....	50
III .6.2. Résultats de l'activité antibactérienne.....	52
III.7. Confection d'un sirop antioxydant et antibactérien et sédatif à base d'extrait de pétales de <i>Papaver Rhoas L</i> ' oxsedabacoq.....	54
Conclusion et perspective.....	56
Références bibliographiques	
Annexe	
Résumé	



Introduction

L'utilisation des plantes médicinales est en croissance dans la plupart des pays du monde, cette utilisation est principalement fondée sur l'idée que les plantes sont un moyen naturel de traitement pauvre de tout risque. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales, Si certaines pratiques médicales paraissent étranges et relèvent de la magie, d'autre au contraire semble plus fondée, plus efficaces. Pourtant, toutes ont pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des humains

Dans notre étude nous nous somme intéressé à une plante médicinale ; le *Papaver rhoeas* L.(Papaveraceae), elle est communément connu sous le nom de pavot de maïs, cette plante adventice cosmopolite est une herbe annuelle (**Zargari, 1994**). Dans la médecine populaire, l'extrait de la plante a été utilisé sous forme de tisane, d'infusion, de sirop, ou teinture pour le traitement d'un large éventail d'inflammations internes tels que : la diarrhée et les irritations intestinales, les troubles du sommeil, le traitement de la toux, et diverses affections comme la bronchite, la pneumonie, la fièvre éruptive (**Valnet, 1992**) il est aussi considéré comme un analgésique efficace et la capacité aussi à réduire les signes de sevrage de la dépendance aux opioïdes (**Zargari, 1994**).

Les utilisations externes de cette plante sont aussi multiples comme par exemple le traitement de la gale en l'associant avec le soufre, élimination des rougeurs sur la peau du visage ou des mains. De plus l'application sur les tempes sous forme de pâte réduit les migraines, et soulage efficacement les inflammations oculaires (**Durante 1585**).

Cette activité thérapeutique est due à la présence de certains métabolites tels que l'acide papavérique (**Zargari, 1994**), les anthocyanines (**Matysik et Benesz, 1991**), des polyphénols (**Zargari, 1994**).

L'objectif de notre étude est l'extraction par deux différentes méthodes et avec des solvants de polarité différente des métabolites secondaires que renferment les parties aériennes de *Papaver Rhoeas L* ainsi que l'évaluation de leurs activités antioxydantes et antibactériennes. Ce travail est présenté en trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre porte sur la présentation botanique de la plante et ses propriétés thérapeutiques, ainsi que les métabolites secondaires qu'elle contient.

- ✓ Le deuxième chapitre est de l'ordre pratique, dans lequel est exposé le matériel les méthodes utilisés, à savoir :
 - Les méthodes d'extractions de ses métabolites secondaires.
 - Les différentes techniques d'identisations qualitatives et quantitatives de ses métabolites à savoir le Screening photochimique, la caractérisation et la séparation de ses dernières par les méthodes chromatographiques (CCM, HPLC, et la chromatographie sur colonne de silice).
 - L'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne contre deux types de bactéries.

- ✓ Le troisième chapitre renferme la partie résultats et discussion.

- ✓ Enfin, l'étude entreprise est clôturée par une conclusion.

Aspect

Théorique de

L'étude

I.1. Aspect botanique de *Papaver Rhoeas* L

I.1.1. Description de la famille *Papaveraceae*

La famille des Papavéracées est une famille de plantes dicotylédones, universellement reconnue par les taxonomistes. Ses représentants les plus connus sont les pavots (en particulier les coquelicots). C'est une famille cosmopolite, répandue sous les climats tempérés et subtropicaux, la plupart sont des plantes herbacées, mais quelques unes sont des arbustes ou des arbrisseaux.

Ce sont des plantes laticifères : toutes les parties, à l'exception des graines, comportent un système bien développé de canaux laticifères, produisant un latex laiteux, un suc aqueux blanc, jaune ou rouge.

I.1.2. Description du genre coquelicot (*Papaver Rhoeas* L)

Papaver Rhoeas est une plante herbacée annuelle communément connu sous le nom de coquelicot ou de pavot de maïs **Figure I.1**, facilement reconnaissable à ses fleurs écarlates et ses poils blancs étalé partout. C'est une herbe dressée généralement autour 20-80 cm, émettant une forte odeur typique et un blanc latex lorsqu'il est endommagé (**Tutin et al,1993**).



Figure I.1 : Fluorisation de coquelicots dans un champ d'Elkseur (Bejaia).

Les feuilles peuvent varier considérablement en termes de forme et de taille, mais ils ont généralement une extrémité terminale plus large (**figure I.2**). En plus d'être toutes alternes, les caractéristiques des feuilles dépendent si l'on considère les feuilles basales ou la cauline: le premier type a un pétiole ailé et peut mesurer jusqu'à 15 cm de long et 6 cm de large, alors que le second est sessile. De plus, les feuilles basales forment une rosette de feuilles à 7–9 lancéolées ou elliptiques segments et bords dentelés ou dentés, tandis qu'apical les feuilles sont plus petites mais plus disséquées (**Tutin et al,1993**).

Les fleurs solitaires portent des feuilles axillaires portées sur des pédoncules ramifiés (**figure I.2**). Avant l'anthèse, les boutons floraux elliptiques sont pendants, mais lorsqu'il se produit, ils deviennent dressés et les deux sépales sous la goutte, permettant aux pétales de se dilater. Ainsi, il devient possible d'observer la corolle, faite par quatre pétales, plus grands que longs, marge légèrement crénelée et souvent pourvu d'un point noir-violet à la base de chacun.

Les étamines sont très nombreuses et presque de couleur noire, ils émettent un pollen jaune clair qui assure la pollinisation par les insectes, mais pas de nectar est sécrété par la fleur. Le seul pistil de la plante a un ovaire supérieur, pas de styles et de nombreux stigmates qui construisent un soi-disant «disque stigmatique» divisé en coupes par différents rayons.

Les fruits sont des capsules ovoïdes (appelé cériatium, atteignant une déhiscence incomplète) (**figure I.2**) posé sur un réceptacle cylindrique qui devient évidente lorsque les pétales tombent, avec des stigmates dessus comme un couvercle, tout autour il y a des trous qui laissent les graines sortir (**Mitich 2000; Bown 2008; Mabberley 2008**)

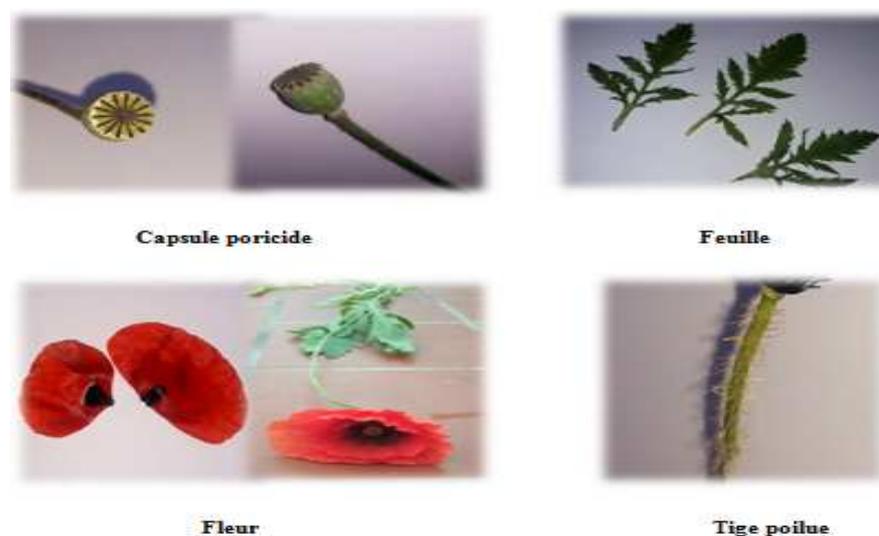


Figure I.2 : Aspect des différentes parties de la plante Papaver Rhoeas L.

Ces **graines** sont minuscules et sombres ressemblant à un rein en forme et très abondant (**figure I.3**) : des milliers de graines sont produites en moyenne et une fois au sol, ils peuvent être dormants (**Mitich 2000; Bown 2008; Mabberley 2008**).



Figure I.3 : Aspect des graines de Papaver Rhoeas L.

I.1.3. Appellation

Le nom scientifique du genre Papaver est issu d'une racine indo-européenne papa signifiant « bouillie », car il était courant de cuire ainsi les graines de pavot. L'épithète spécifique rhoeas vient du grec ροιάς / rhoiás, « écoulement » (étymologie qu'on retrouve dans le terme «rhume»), allusion au latex coulant lorsque la tige est blessée.

D'abord écrit coquelicot (1545), son nom vernaculaire est une variante de l'ancien français coquerico, désignant le coq par onomatopée : il s'agit d'une métaphore entre la couleur de la fleur et celle de la crête du coq (**François Couplan ,2012**).

La plante porte plusieurs noms vernaculaires :

- **En anglais** : corn poppy .
- **En Allemagne** : Klatschmohn (pavot ou pavot éclatant).
- **En français** : coquelicot, pavot-coq, pavot des champs, pavot sauvage, pinceau, ponceau.
- **En arabe** : El'khachkhach.
- **En kabyle** : Waħrir ou jihfuḍ.

I.1.4.Aspect Biologique de *Papaver rhoeas* L

- Le coquelicot préfère les terrains fraîchement remués : les champs cultivés, surtout de céréales d'hiver, mais aussi de printemps (plante jadis messicole que les herbicides ont souvent chassée). Il revient ainsi spontanément dans les zones les moins traitées (à l'entrée des champs, le long des haies), les bords de chemins, talus ou dans les milieux ouverts très divers, déjà perturbés (remblais, accotements routiers, constructions en zones agricoles, terrains vagues...) . Il apprécie les sols frais, bien pourvus en eau, limoneux à argileux, et contenant du calcaire et des éléments nutritifs (**Martin Hanf, 1982**).
- Plante archéophyte, elle devient souvent envahissante, et a envahi l'europe centrale après les glaciations, c'est pourquoi elle entre dans le groupe des plantes hémérochores.
- Les graines photosensibles germent lorsqu'elles sont près de la surface du sol (**Martin Hanf, 1982**).La germination est impossible à une profondeur excédant 1 à 1,5 cm. La levée se produit en nombre après tout mouvement de terre (labour ou autre).
- Un pied peut produire jusqu'à 50 000 graines. Celles-ci gardent longtemps leur capacité de germination dans le sol, en général pendant 5 à 8 ans. Selon certains auteurs elles peuvent rester dormantes dans le sol plus de 80 ans.
- La floraison a lieu principalement au printemps et en été, entre avril et août (dans l'hémisphère nord), mais il arrive qu'une deuxième floraison survienne en automne, vers la fin septembre .

I.1.5.Composition du *Papaver rhoeas* L

Les Constituants responsables de l'activité pharmacologique dans le ***Papaver rhoeas* L** :

Le coquelicot contient dans toutes ses parties du latex dans lequel se trouvent divers alcaloïdes dont le principal est la rhœadine , mais contrairement au pavot somnifère, il ne contient pas de morphine. Les pétales sont riches en mucilage et contiennent des tanins et des pigments anthocyaniques, dérivés de la cyanidine (mécocyanine et cyanine) qui lui donnent sa couleur rouge, ainsi que des alcaloïdes dérivés de la benzyloquinoline, des alcaloïdes d'isoquinoléine et des alcaloïdes dérivés de la tétrahydro-3H-3-benzodiazépine, dont la rhœadine (qui est le plus abondant avec près de 50 % du total), la rhœarubine I et II , la rhœagénine, l'isorhœadine, la papavérine et la protopine (**en**). La teneur totale en alcaloïdes est proche de 0,07 à 0,12 % (**Field poppy, 2016**).

I.2. Aperçu théorique sur les métabolites secondaires.

La pharmacognosie est étymologiquement la connaissance (*gnosis*) des poisons (*pharmacoon*) d'origine naturelle. Ces substances toxiques possèdent, parfois à faible dose, des propriétés médicamenteuses et peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques. Les molécules naturelles responsables de ces activités servent aujourd'hui de modèle à la créativité des chimistes qui tentent d'en améliorer les activités ou d'en diminuer les effets secondaires et la toxicité. La diversité des espèces utilisées et des métabolites secondaires déjà isolés laisse présager de l'ampleur de ce qui reste à découvrir. On considère effectivement que, jusqu'à ce jour, moins de 10 % des espèces de végétaux supérieurs qui peuplent actuellement la planète ont été explorées pour leurs propriétés chimiques et biologiques (Saidi, 2019).

On distingue classiquement quatre grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux : Les composés phénoliques, les alcaloïdes, les mucilages, les coumarines, les tanins

I.2.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidins) sont des molécules biologiquement actives (Bouchouka, 2016) et forment le groupe des composés phytochimiques le plus importants des plantes. Ils sont caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, grains et bois) (Richard, 2012). Les différentes classes des composés phénoliques sont regroupées dans la figure suivante (figure I.4) (Laouini, 2014).

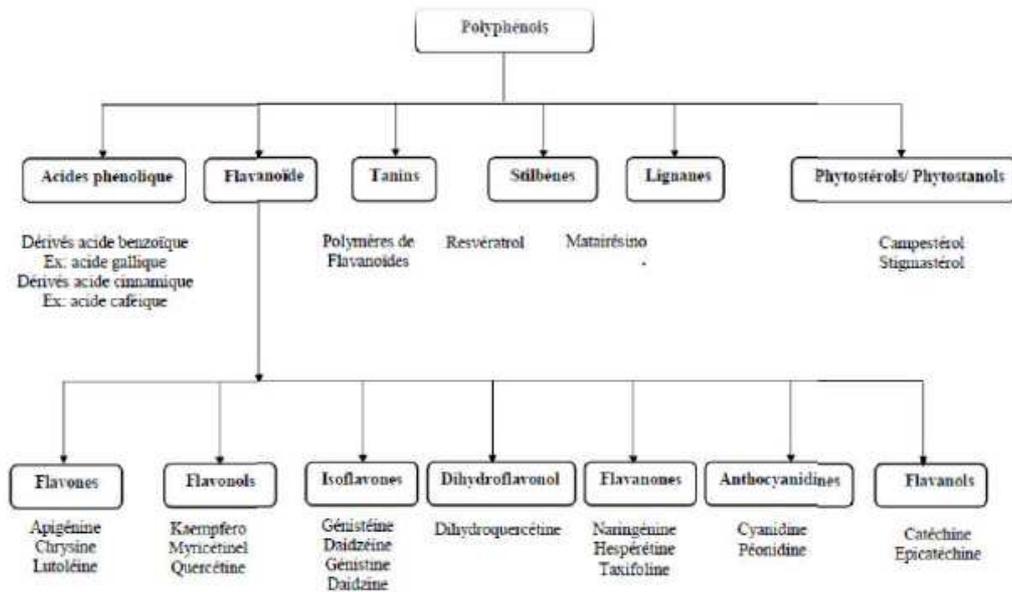


Figure I.4 : Classification des polyphénols totaux (Laouini, 2014).

- ❖ Les polyphénols totaux sont largement utilisée en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires et aussi comme antimicrobiens

✓ Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels poly-phénoliques, on distingue différents types de noyaux : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanes, flavan-3-ols, flavylum, chalcones, aurones, isoflavones, isoflavonols, isoflavanes, ptérocarpanes, coumaronochromones, 3-arylcoumarines, coumestanes, roténoïdes etc. (Cabanel, 2013). Les flavonoïdes ont tous une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base de quinze atomes de carbones constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (figure I.5) (Cabanel, 2013). Ils sont très présents dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs de plante, (Attou, 2011).

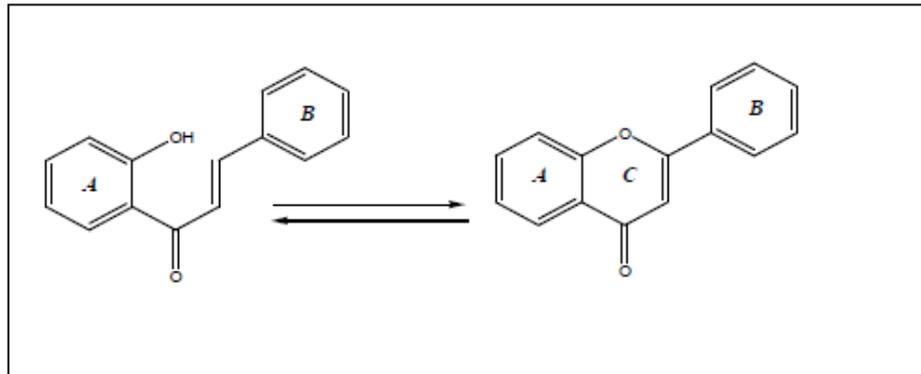


Figure I.5 : Structure de base de Flavonoïde (Cabanel, 2013).

- ❖ La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être "veino-actifs", c'est-à-dire capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance (Bruneton, 1999). Les flavonoïdes sont des composés avec l'activité antioxydante prononcée (Hodek et al., 2002), ils expriment les propriétés antioxydantes par le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Boudiaf, 2006).

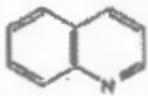
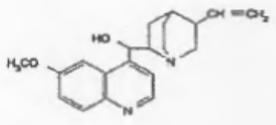
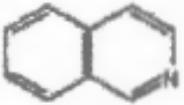
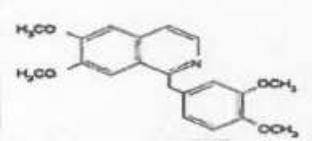
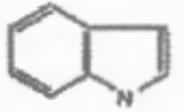
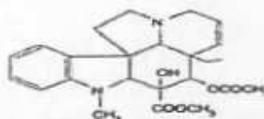
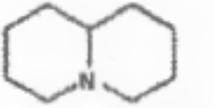
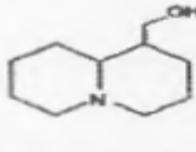
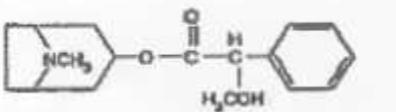
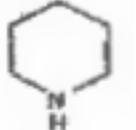
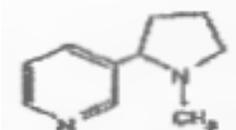
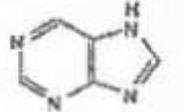
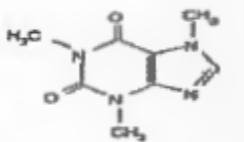
✓ Alcaloïdes

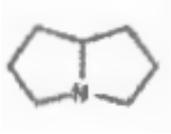
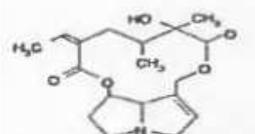
Ce sont des produits azotés basiques, d'origine naturelle dont l'atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et dont l'activité pharmacologique est significative. Les pseudo-alcaloïdes ne sont pas des dérivés des acides aminés. On les nomme alors alcaloïdes terpéniques et les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique, (éphédrine, colchicine) (Bruneton, 2001 ; Merghem, 2009). Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines (Bruneton, 2001).

Ils sont classés en fonction de la nature de cycle qui prédomine dans la molécule

Tableau I.1 :

Tableau I.1 : Principaux types structuraux d'alcaloïdes (Guignard, 2000 ; Hopkins, 2003).

Classe d'alcaloïde	Exemple	Autre composés
Quinoléine 	Quinine 	/
Isoquinoléine 	Papavérine 	Morphine Codéine Berbérine
Indole 	Vindoline 	Strychnine Vinblastine Vincristine
Quinolizidine 	Lupinine 	Cytisine
Tropane 	Atropine 	Cocaïne
Piperidine 	Nicotine 	Coniine
Purine 	Caféine 	/

<p>Pyrrolizidine</p> 	<p>Sénécionine</p> 	<p>Rétrorsin</p>
--	--	------------------

- ❖ Les alcaloïdes présentent diverses activités biologiques bénéfiques pour l'Homme, dont certaines incluent des vertus thérapeutiques (morphine). Ainsi, certaines molécules présentent des activités antimicrobiennes (antibactérienne, antifongique et antivirale), d'autres molécules sont utilisées comme des drogues (cocaïne) (Louis, 2004).

✓ Les mucilages

Dans les infusions et les décoctions, les mucilages des plantes médicinales ont pour effet de réduire l'irritation. Ils peuvent absorber de grandes quantités d'eau et peuvent être utilisés pour calmer les tissus enflammés comme la peau sèche, irritée ou la paroi des intestins. Ils exercent donc une action favorable contre les inflammations des muqueuses, notamment celles des voies respiratoires et digestives, ils atténuent les douleurs des contusions, assouplissent la peau lors d'applications de cataplasmes (Lamnaouer, 2002).

✓ Coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxy cinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale (Guignard, 1998 ; Deina et al., 2003 ; Booth et al., 2004) (Figure I.6). Ils sont présents dans la cellule végétale sous forme de glycoside (Hofmann, 2003 ; Macheix et al., 2005). Cette forme permet d'éviter la toxicité des coumarines. Ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont: les Légumineuses, Rutacées, Apiécées et thymeleacées. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et peuvent également se trouver dans le règne animal et chez certains microorganismes (Kholkhal, 2014).

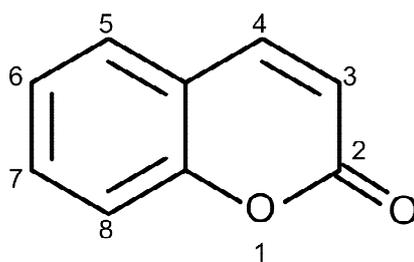


Figure I.6 : Structure de la coumarine (Cowan, 1999).

- ❖ Les coumarines possèdent des activités : anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, anti tumorale, diurétique, antimicrobienne, antivirale et analgésique (Stefanova et al, 2007).

✓ Les tanins

Les tanins sont des composés *polyphénoliques* de structures variées (figure I.7), ayant en commun la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines. Ils sont trouvés dans toutes les parties de la plante: l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines (Bouchouka, 2016), ayant la propriété de précipiter les protéines à partir de solutions aqueuses (forment un complexe avec les macromolécules) (Richard, 2012). Les tanins sont classifiés en deux groupes selon leur structure chimique et par leur origine biogénétique: les tanins hydrolysables et les tanins condensés, plus répandus dans le règne végétal. Ils peuvent être des dimères, des oligomères et des polymères de catéchine (Zemmouri, 2016).

- ❖ **Les tanins hydrolysables** : ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol (Cowan, 1999). Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcalin ou acide) ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique soit un dimère de ce même acide, l'acide phénolique (souvent du glucose ou de l'acide quinique). Une forme simple de ce type de tanin est le pentagalloylglucose, molécule très réactive qui est à l'origine de la plupart des formes complexes, par exemple la castalagine chez le châtaignier ou le chêne. (Sarni-Manchado et al., 2006).

- ❖ **Tanins condensés** : ils qui se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Ils ne sont hydrolysés ni par les acides, ni par les tannases mais en présence d'acides forts ou d'agents d'oxydation, ils se transforment en substances rouges les proanthocyanidines (**Kholkhal, 2014**). Les tanins condensés sont très abondants dans certains organes végétaux consommés ou utilisés par l'homme, par exemple de nombreux fruits (pomme, prune, fraise...).(Sarni-Manchado et al., 2006).

Figure I.7 : Structures chimiques typiques des tanins (**Achat, 2013**).

- ❖ Les tanins permettent d'imperméabiliser la peau, notamment par vasoconstriction, et ont donc une possible application dans la cicatrisation, notamment lors de blessures superficielles ou brûlures par limitation de pertes en fluides. On leur confère aussi des propriétés anti-diarrhéique, antibactérienne et antifongique. De même, ils ont un potentiel antioxydant, inhibiteur enzymatique, anti tumoral et antiviral (**Richard, 2012**).

✓ **Les anthocyanes**

Les anthocyanes constituent le groupe de pigments solubles dans l'eau et les alcools, insolubles dans les solvants organiques apolaires et instables en milieu neutre ou alcalin (Richard, 2012; Zemmouri, 2015). Les anthocyanes sont issus de l'hydrolyse des anthocyanidines qui sont responsables de la coloration vive, allant du rouge au violet en passant par le bleu, des fruits et des pigments floraux (El gharras, 2009).

- ❖ Les anthocyanes ont des actions sur le système cardiovasculaire, des propriétés antioedémateuses, antioxydantes in vitro et sont utilisés pour leurs actions sur la circulation en ophtalmologie (Richard, 2012).

I.3. L'utilisation thérapeutique de *Papaver rhoeas* L

Autrefois, tous comme les égyptiens, les grecs tiraient profit du coquelicot. En effet, les grecs utilisaient les capsules du coquelicot en décoction contre les insomnies. Les graines comme léger laxatif et les fleurs comme adoucissant des inflammations. En médecine arabe du XV^e siècle. (Fleurentin, J; ouest-France, 2018).

✓ **Antitussif**

Les pétales de coquelicot ont un effet antitussif efficace que vous pouvez utiliser pour les toux spasmodiques et les toux sèches par action des mucilages qui vont recouvrir la gorge et l'adoucir et les alcaloïdes vont couper-en partie le réflexe de toux. Les pétales de coquelicot sont aussi bien adaptés à la coqueluche (Duke and Ayensu 1985; Kultur 2007).

✓ **Sédatif doux**

Les pétales ont une action légèrement sédative et bien adaptée pour les enfants qui ont du mal à dormir (Sahraei et al. 2006).

I.4. Aspect galénique

Parmi les différentes formes existantes, le principe actif peut se présenter sous différents aspects. Il est initialement sous forme de poudre, d'extrait ou de teinture et constitue ce que l'on appelle une forme galénique. Elle a pour but de faciliter l'administration de l'ensemble des principes actifs des plantes médicinales. On préfère recourir moins fréquemment aux

préparations alcoolisées et aux extraits classiques peu maniables dont les principes actifs sont parfois altérés. Maintenant de nombreuses formes plus pratiques existent. Citons par exemple les extraits secs pulvérulents. Ils sont obtenus par dessiccation de solutions extractives à l'aide de procédés tels que la lyophilisation ou la nébulisation. Seuls ou associés, ces extraits secs sont présentés en comprimés dragéifiés, et surtout en gélules parfois confondues avec les gélules de plantes en poudre sur lesquelles elles présentent l'avantage d'une plus grande concentration en principes actifs.

I.4.1. Les formes galénique du coquelicot

✓ **Les tisanes :** C'est la forme d'utilisation la plus ancienne, toujours d'actualité les tisanes restent considérées comme un appoint indispensable à l'ensemble de toute prescription de Phytothérapie.

✓ **Sirop**

Ils s'obtiennent à partir de deux tiers de sucre et d'un tiers d'eau auxquels son incorporé le principe actif végétale l'extrait de coquelicot (fruits, fleur). En pratique est réalisée une infusion ou une décoction sur les pétales puis on incorpore le sucre. Les sirops seront avalés purs, dans l'eau plate, ou dans le thé



*Matériels et
Méthodes*

La partie expérimentale (*in vitro*) a été réalisée au niveau du Laboratoire de méthodes physiques d'analyse, Département de Génie des procédés, Faculté de technologie, Université A.Mira-Bejaia.

II.1. Matériel végétal

La collecte de la plante de coquelicot rouge *Papaver Rhoeas L* a été effectuée en mai d'avril 2021 dans trois endroits : El kseur, Barbacha et à Akbou de la wilaya de Béjaia.



Figure II.1 : Localisation géographique de la station de la récolte de *Papaver Rhoeas* (google maps).

II.2. Détermination du taux d'humidité dans les parties aériennes du coquelicot rouge *Papaver Rhoeas L*

Dans cette étude nous nous sommes intéressés aux parties aériennes du coquelicot rouge à savoir les pétales et les feuilles, le matériel végétal est rincé avec l'eau distillée pour enlever la poussière et toutes autres particules contaminantes puis séché à l'air libre à l'abri de la lumière pendant 7 jours. Le taux d'humidité dans les pétales de coquelicot des différentes zones de collecte a été déterminé dans un échantillon de (10g) avant et après séchage (**figure II. 2**).

Le taux d humidités est exprimé selon la relation :

$$\text{Taux humidité (\%)} = (M_i - M_f) / M_i * 100$$

M_i : Masse des pétales avant séchage (10g).

M_f : Masse des pétales après séchage(g).

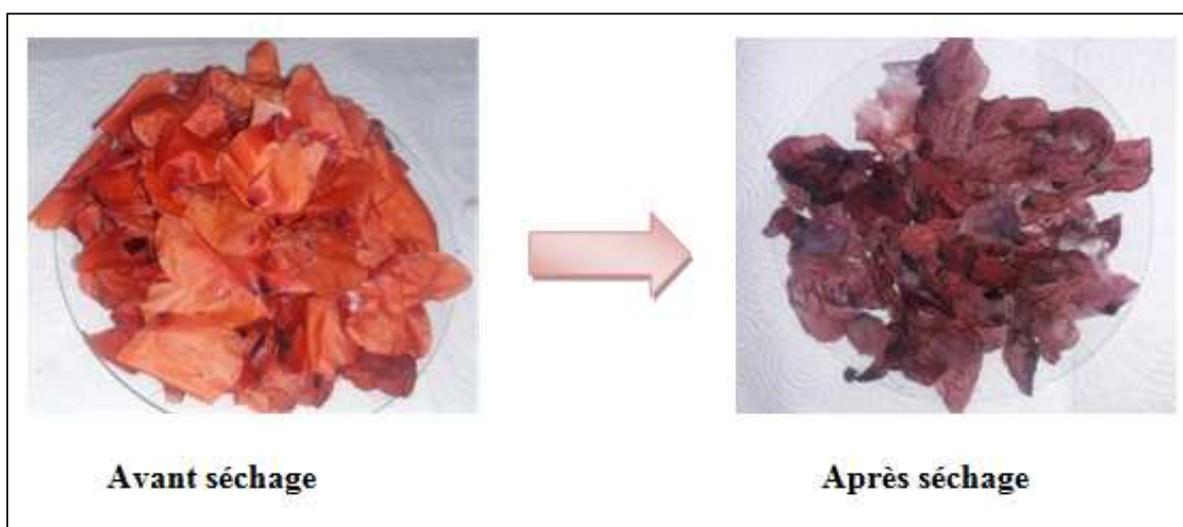


Figure II. 2 : Les pétales du coquelicot rouge *Papaver Rhoeas L* avant et après séchage.

Le matériel végétal sec est conservé à l'abri de la poussière et la lumière pour une utilisation ultérieure.

II.3. Extraction des métabolites secondaires du coquelicot rouge *Papaver Rhoeas L*

L'extraction des métabolites secondaires des parties aériennes (pétales et feuilles) du coquelicot rouge *papaver rhoeas L* a été réalisée par décoction dans l'eau (méthode traditionnelle) et par macération dans différents solvants organiques (acétone,

dichlorométhane, acétate d'éthyle) pour voir l'effet du solvant sur la sélectivité des métabolites secondaires extraites de la plante.

II.3.1. Extraction par décoction dans l'eau

La décoction est un procédé d'extraction qui consiste à faire bouillir la matière végétale dans l'eau pendant un temps défini, c'est le procédé utilisé traditionnellement pour la préparation des tisanes. Dans notre cas une prise d'essai de (10g) de la plante (pétales, feuilles) a été mélangée avec 100mL d'eau distillée. L'ensemble a été chauffé à 60°C avec agitation modérée pendant 15min. L'extrait a été ensuite filtré sur papier whatman N1. Le procédé d'extraction du résidu de la filtration a été répété trois fois pour extraire un maximum de métabolites. Les filtrats des trois extractions ont été réunis et après évaporation sous vide les échantillons ont été conservés à 4°C pour une future utilisation.

II.3.2. Extraction par macération dans les solvants organiques à différentes polarité

La macération est une méthode d'extraction solide-liquide la plus simple, elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec un solvant ou un mélange de solvant en absence ou en présence d'agitation. L'opération bien que généralement longue et à faible rendement, elle est très utilisée dans l'extraction de molécules thermosensibles. Les solvants organiques les plus fréquemment utilisés sont : le méthanol, l'éthanol, le chloroforme et l'acétone (**Bohui et al, 2018**). Dans notre cas le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et l'acétone ont été utilisés pour l'extraction des différents métabolites des parties aériennes (pétales et feuilles) de *Papaver Rhoeas L.*

L'échantillon végétale (10g) a été mélangé avec le solvant organique (30ml) l'ensemble a été maintenu sous agitation modérée à température ambiante pendant 30min. Après filtration sur papier whatman N1, le résidu de filtration a subi trois extractions successives. Les filtrats

de chaque extraction ont été réunis et l'évaporation des solvants réalisée. Les extraits secs ont été conservés à 4⁰C pour une utilisation ultérieure.

II.4. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement des différentes extractions est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec et la masse du matériel végétal (Bohui et al, 2018). Il est déterminé par l'équation suivante :

$$R(\%) = (Me / Mv) \times 100$$

À une température ambiante

R(%) : le Rendement de l'extraction en %.

Me :Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant(g).

Mv : Masse de la matière végétale utilisée (10g).

II.5. Caractérisation des métabolites secondaires des extraits de coquelicot rouge *Papaver Rhoeas L*

II.5.1. Screening photochimique des extraits végétaux

Cette identification colorimétrique permet la détection des différents métabolites secondaires (poly phénols totaux, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanninsEtc.) par des réactions de colorations et ou de précipitations de ses métabolites avec des réactifs spécifiques.

II.5.1.1. Détection et Dosage des polyphénols totaux

✓ Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie Uv-Vis, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Negi et al, 2003). Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents

dans l'extrait. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Singleton et Ross, 1965) en y apportant quelques modifications.

✓ **Protocole de dosage des polyphénols totaux**

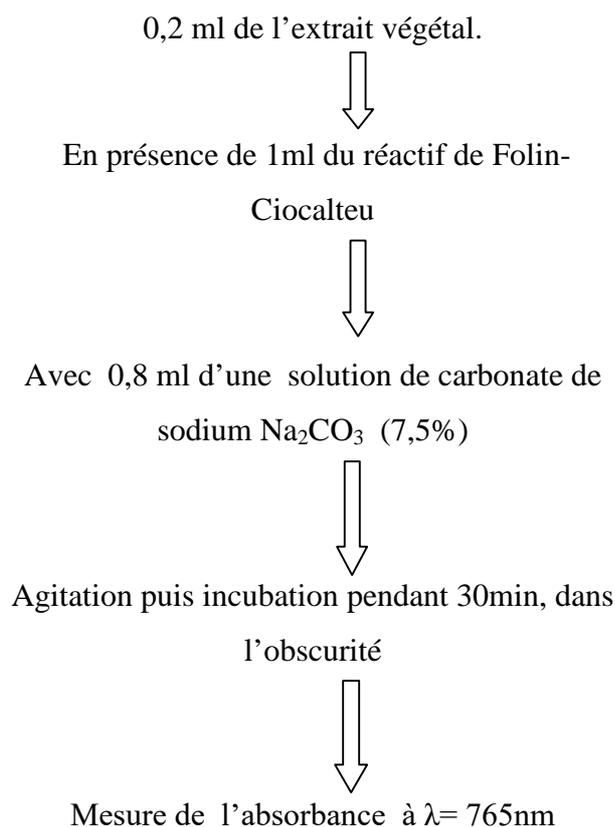


Figure II .3 : Protocole de dosage des polyphénols totaux.

✓ **Expression des résultats**

Les teneurs en phénols totaux dans les extraits des différentes parties de la plante sont exprimées en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme. La quantification des polyphénols a été réalisée par l'exploitation d'une courbe d'étalonnage tracée avec un standard, l'acide gallique et à différentes concentrations (0,04-0,2mg/ml) et dans les mêmes conditions opératoires que les extraits végétaux. **Figure III.1 (Annexe II).**

II.5.1.2. Dosage des flavonoïdes :

✓ Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (**L.Lagnika 2005**).

✓ Protocole de dosage des flavonoïdes

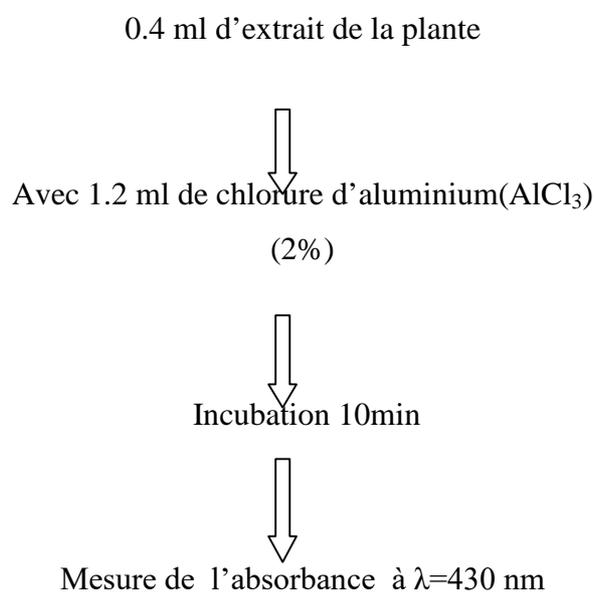


Figure II.4 : Protocole de dosage des flavonoïdes.

✓ Expression des résultats

La teneur des flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de poids sec des pétales et feuilles. La quantification des flavonoïdes est réalisée par l'exploitation d'une courbe d'étalonnage tracée avec un standard, la quercitrine à différentes concentration et dans les mêmes conditions opératoires que les extraits végétaux. **Figure III.2 (Annexe II).**

II.5.1.3. Dosage des tannins condensés

✓ Principe

Nous avons adopté la méthode à la vanilline en présence d'un acide (HCl). Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tannins condensés (H.P.S.Makkar,2000, P.Schofield, D.M. Mbugua,2001), et la formation d'un complexes de couleur rouge l'anthocyanidols (B.Sun, JM.Richardo-da-Silvia 1998).

✓ Protocole de dosage des tannins condensés

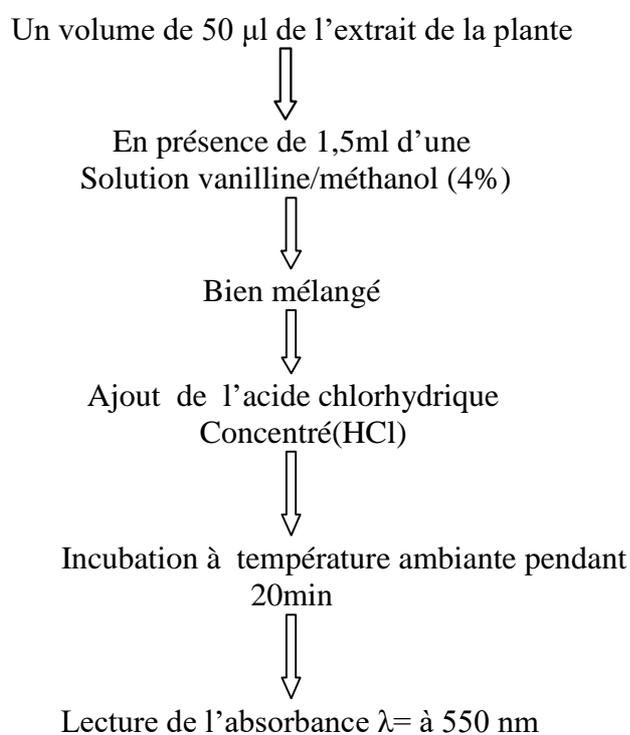


Figure II.5 : Protocole de dosage des tannins condensés.

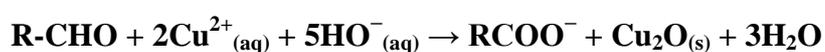
✓ **Expression des résultats**

Les teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode de vanilline décrite par **(R.Julkunen-Titto,1985)** .Les teneurs des tannins condensés est exprimée en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme de poids sec des pétales et feuilles. La quantification des tannins condensés est réalisée par l'exploitation d'une courbe d'étalonnage tracée ave un standard; la catéchine à différentes concentration et dans les mêmes conditions opératoires que les extraits végétaux. **Figure III.3 (Annexe II).**

II.5.1.4. Dosage des composés réducteurs de sucres (Réaction de Fehling)

✓ **Principe**

La liqueur de Fehling, initialement bleue, conduit à un dépôt de couleur rouge brique à chaud, et cela uniquement en présence d'un composé qui présente une fonction aldéhyde (tels les sucres réducteurs, comme le glucose, le galactose, le maltose...). Le test est aussi positif avec le saccharose si le milieu réactionnel est chauffé plus longtemps. La raison est que le saccharose s'hydrolyse en fructose et en glucose, et que ce dernier réagit avec les ions cuivre (II) de la liqueur. Au cours de la réaction, l'ion cuivre (II) oxyde l'aldéhyde pour donner un acide carboxylique sous sa forme basique (ion carboxylate), et un précipité rouge brique d'oxyde de cuivre(I) Cu_2O selon l'équation d'oxydoréduction **(Trease et Evans, 1987)** :



✓ **Protocole de dosage**

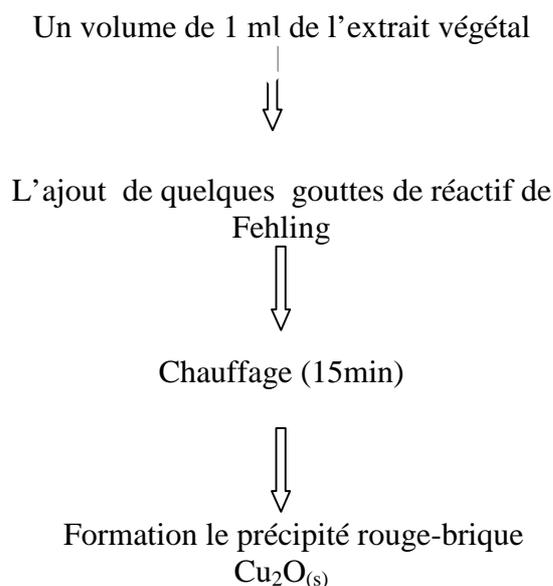


Figure II.6 : Protocole de dosage des sucres réducteurs par la Réaction de Fehling.

II.5.2. Caractérisation par chromatographie

II.5.2.1. Chromatographie sur couche mince (C.C.M)

✓ **Principe**

La chromatographie sur couche mince est la plus simple des méthodes chromatographiques. Le principal intérêt de la CCM est l'identification rapide des composés d'un mélange par leurs R_f (facteur de rétention) qui est défini comme le rapport de la distance parcourue par l'analyte (d_a) sur la distance parcourue par l'éluant (d_s). En contre partie, l'analyse est uniquement qualitative et ne permet pas le dosage d'un composé. Toutefois, ceci est de moins en moins vrai avec l'apparition de chromatographie sur couche mince haute performance (HPTLC) (Muanda et al,2011).

✓ **Analyse qualitative par chromatographie sur couche mince C.C.M**

L'analyse consiste à placer sur une feuille (papier, silice) une tache et de la laisser éluer en la trempant dans un solvant ou un mélange de solvant (appelé éluant), l'éluant diffuse le long du support (**figure II.7**).

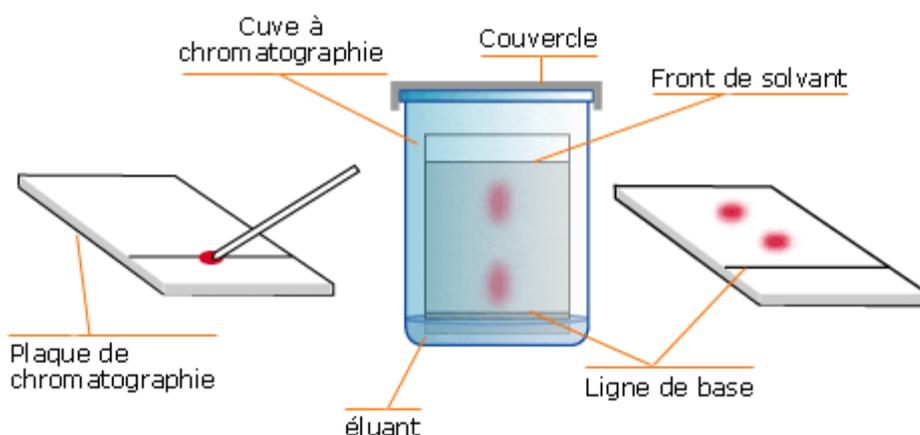


Figure II.7 Procédé de l'analyse par Chromatographie sur couche mince C.C.M.

II.5.2.2. Chromatographies sur colonne de silice

✓ **Principe**

La chromatographie sur colonne est une technique séparative analytique. Elle consiste à faire migrer les constituants à séparer sur une phase stationnaire à l'aide d'une phase mobile, cette méthode séparative permet l'identification et le dosage des différents composés d'un mélange en l'associant à des méthodes spectrophotométriques tel que Uv-Vis ou IR . La colonne en verre équipée d'un verre fritté et d'un robinet est remplie d'une poudre, généralement de l'alumine ou de la silice. L'éluant est un solvant ou un mélange de solvant. Selon la nature de l'éluant et du contenu de la colonne, certaines molécules sont plus facilement éluées que d'autres (**figure II.8**).(lydia hamouchen et al, 2021).

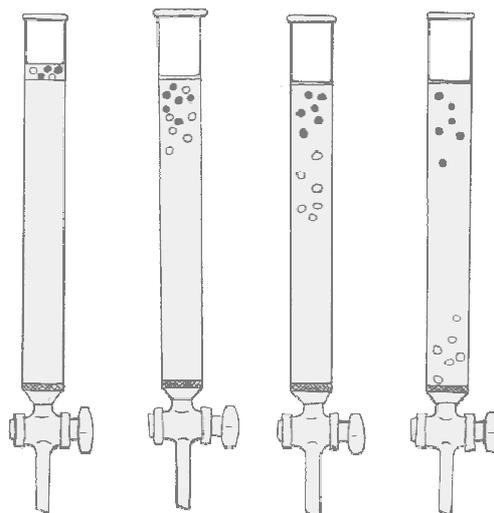


Figure II.8 : La chromatographie sur colonne.

II.5.2.3. Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

✓ Principe

L'HPLC est l'une des techniques les plus employées dans les laboratoires d'analyse chimiques. Elle permet l'identification, la séparation et le dosage de composés chimiques dans un mélange. Sa grande précision permet la recherche de traces et il est possible de la coupler à un spectromètre de masse pour une identification plus précise des composés analysés. Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique (Muanda et al, 2011). L'ensemble des composants d'une HPLC est représentés sur la **figure II.9.**

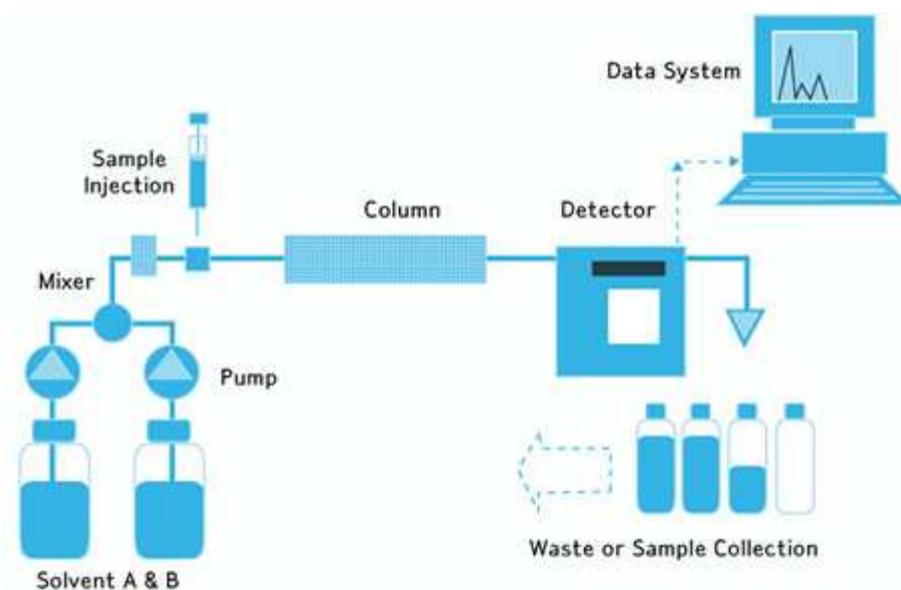


Figure II.9 : Les composants d'un appareil HPLC.

II.5.3. Caractérisation par Ultraviolet –Visible (UV-Vis)

La spectrophotométrie UV-vis est une méthode analytique qualitative et quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique en solution, plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncées par la loi de Beer-Lambert :

$$A = \epsilon \cdot l \cdot C.$$

A : Absorbance.

ϵ : Le coefficient d'absorption molaire en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$.

l : La largeur de cuve (1 cm).

C : La concentration de la solution en mol/L.

✓ Principe

Le principe repose sur l'absorption de la lumière par les espèces chimiques, l'appareil comporte une source de lumière blanche, un système dispersif permettant de sélectionner la longueur d'onde de la radiation et un système détecteur permettant la mesure de l'intensité lumineuse de la radiation monochromatique traversant la solution. Le spectrophotomètre

effectue une comparaison entre les intensités lumineuses incidentes et transmises et permet par l'intermédiaire d'un circuit électronique d'afficher l'absorbance.

Pour valider la loi de Beer-Lambert il faut travailler en lumière monochromatique, les solutions utilisées doivent être diluées, homogènes, et le soluté ne doit pas donner de réactions sous l'effet de la lumière incidente. (Silverstein et al., 1998).

Dans notre étude l'ensemble des mesures spectrophotométries UV-Visible sont réalisées sur un appareil Spectroscan50 (Figure II.10), les données sont traitées par le logiciel UV-Win .5. Des mesures réalisées au laboratoire d'analyse à l'université de Bejaia.



Figure II.10 : Appareil de l'UV visible-spectroscan 50

II.6. Etude des activités biologiques du coquelicot rouge (*Papaver Rhoeas L*)

II.6.1. Etude de l'activité anti-radicalaire in vitro par le Test au DPPH

✓ Principe

Le test DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante des molécules, en effet, le DPPH[•] se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables et la présence de ces radicaux DPPH[•] donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH[•] par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (Molyneux, 2004) figure II.11. Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 515nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (Popovici et al, 2010 ; Molyneux, 2004).

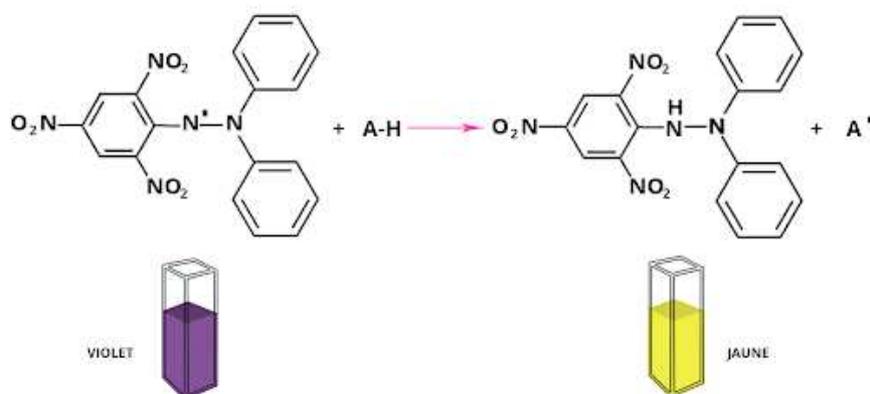


Figure II.11 : mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH.

✓ **Protocole**

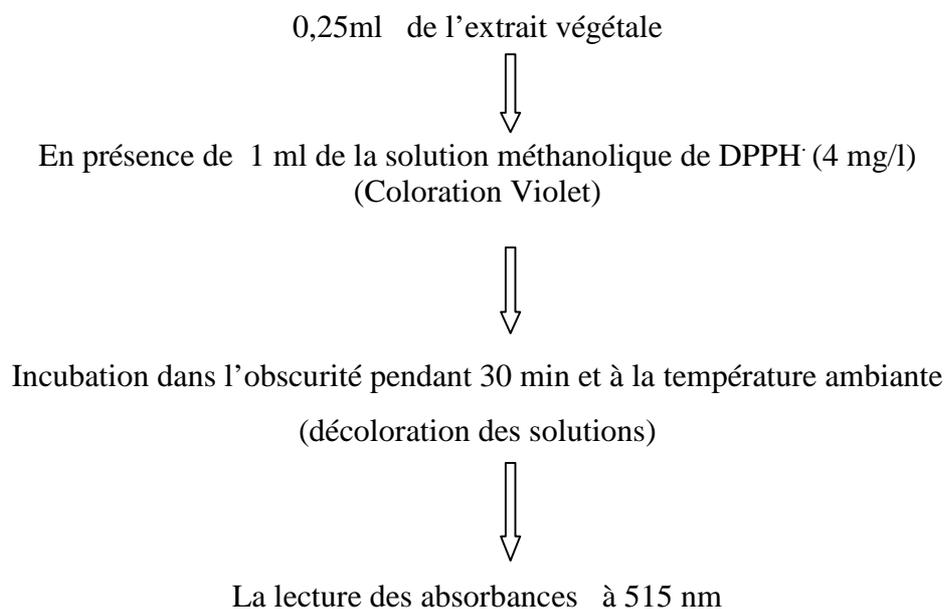


Figure II.12 : Pprotocole de dosage anti-radicalaire in vitro par le test au DPPH.

➤ En ce qui concerne le contrôle négatif, une solution méthanolique de DPPH, et le méthanol comme blanc.

L'activité anti radicalaire en utilisant la méthode DPPH est exprimée selon la relation suivante :

$$\text{Activité anti radicalaire: (\%)} = [(A_C - A_T) / A_C] \times 100$$

A_C: Absorbance du contrôle négative DPPH seul.

A_T: Absorbance de l'extrait en présence du radical DPPH.

L'efficacité antioxydant des extraits végétaux étudiés a été comparée avec un antioxydant puissant, à savoir la vitamine C (le contrôle positif).

✓ **Le test avec l'acide ascorbique (Le contrôle positif)**

L'évaluation de l'efficacité antioxydant des extraits aqueux des parties aériennes du coquelicot rouge a été réalisée en comparaison avec un antioxydant réputé puissant, la vitamine C (acide ascorbique).

✓ **Protocole d'analyse**

Une série de solutions de concentrations différentes de chaque extrait aqueux des parties aériennes (les pétales, les feuilles) et de l'acide ascorbique, (0,05, 0,1, 0,15, 0,175et 0,2g/l) ont été préparées en présence du radical DPPH. Avec le protocole décrit dans la **figure II.12**.

✓ **Expression de résultats**

L'exploitation de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique tracée dans les mêmes conditions d'analyse que les extraits végétaux a permis l'évaluation de l'efficacité antioxydante de ses dernières et aussi la détermination de **la concentration inhibitrice médiane (IC50)**.

✓ **Calcul des IC50**

L'IC50 représente la quantité de substance d'antioxydant nécessaire pour réduire 50% de la quantité de DPPH initialement présente. Elle est exprimée en µg/ml d'extrait végétal.

L'IC50 (%) est obtenue par l'équation de la droite moyenne du pourcentage de DPPH résiduel en fonction de la concentration en antioxydant. La plus forte activité anti radicalaire correspond à la fraction qui possède l'IC50 la plus faible. (**Zemmouri, 2015**).

$$IC_{50} (\%) = 50/a$$

a : représente la pente de la régression linéaire.

✓ **L'activité anti radicalaire (AAR)**

L'activité anti radicalaire (**AAR**) est considérée comme étant l'inverse de la valeur de IC_{50} trouvée.

$$AAR = 1/IC_{50}$$

AAR : Activité anti radicalaire.

IC₅₀ : La quantité de substance d'antioxydant nécessaire pour réduire 50%.

II.7. Activité antibactérienne des extraits végétaux de *Papaver Rhoeas L*

La concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la concentration la plus basse rapportée pour donner une inhibition complète des bactéries testées après 48 heures d'incubation (**Wan et al ,1998 ; Canillac et Mourey ,2001**).

Les plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne, ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles et les triterpenoïdes (**Rojas et al. ,1992**).

✓ **Souches bactériennes :**

Les souches bactériennes *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ont été choisies pour leurs pathogénicité et leurs implication fréquente dans de grave infections.

✓ **Protocole du test antibactérien**

Le protocole du test antibactérien est réalisé suivant des étapes décrites sur la **figure II.13**.

- Le milieu de culture utilisé dans ses tests est la Gélose Mueller Hinton, coulé dans des boîtes de pétri où on a ensemencé sur la surface entière la suspension bactérienne et à trois reprises en tournant la boîte à environ 60° après chaque application pour avoir une distribution égale de l'inoculum.
- Des disques stériles de papier Wattman N° 3 ont été imbibés délicatement avec les extraits végétaux (20 µl) repris au préalable avec le Diméthyle sulfoxyde (DMSO) (97mg/ml) et déposés sur la surface de la gélose, les boîtes sont ensuite incubées pendant 24 h à 37 °C.
- L'activité antibactérienne a été déterminée ensuite en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques avec une règle. **Référence**



Figure II.13 : Protocole du test antibactérien.

II.8.Préparation du sirop

Protocole

- ✓ Faire bouillir 80ml d'eau jusqu'à ébullition.
- ✓ Ajouter la matière végétale (8g) hors du feu et on la couvre
- ✓ Laisser macérer pendant 20 min en suite on filtre.
- ✓ Peser l'extrait+ le sucre.

La masse de filtrat= la masse du sucre



*Résultats et
Discussion*

III.1. Détermination du taux d'humidité dans les parties aériennes du coquelicot rouge *Papaver Rhoeas L*

Après séchage des pétales nous avons calculé le taux d'humidité pour chaque région, Le

Tableau III.1 résume les résultats obtenus des taux d'humidités :

Tableau III.1 : Taux d'humidité des pétales de *Papaver Rhoeas L*

Régions	El'kseur	Akbou	Barbacha
Taux d'humidité (%)	87,49	87,81	84,5

Le taux d'humidité de l'échantillon d'*P Rhoeas* a été déterminé puis représenté en histogramme (**figure.III.1**).

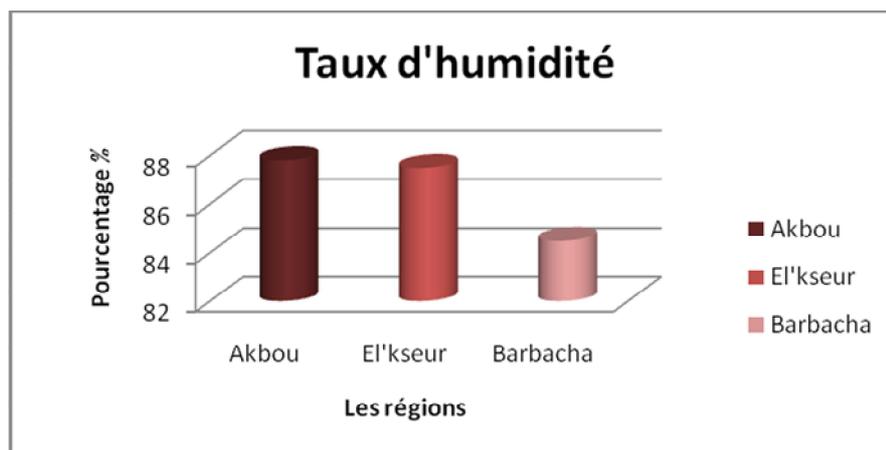


Figure III.1 : Taux d'humidité des pétales papaver Rhoeas L dans les différentes zones.

Taux d'humidité plus élevé est enregistré dans les deux communes à Akbou et à El'kseur due à la présence d'une rivière à côté du champ de la récolte du coquelicot.

Par contre à Barbacha exactement à khellil situé dans la montagne, le taux d'humidité est moins élevé et cela peut être expliqué par sa position géographique.

III.2.Rendement d'extraction

Les rendements d'extraction des composés phénoliques des différentes parties de la plante papaver rhoeas L (Coquelicot) dans l'eau par décoction et dans les différents solvants organiques par macération sont indiqués dans la **figure III.2**.

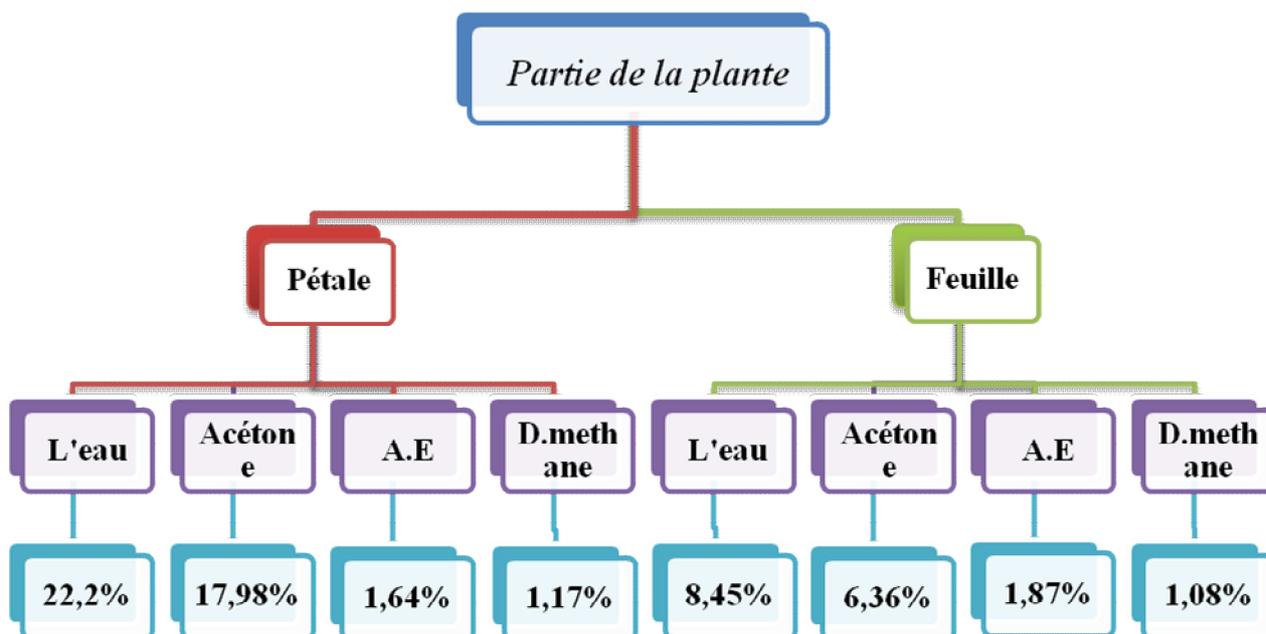


Figure III.2 : Les rendements d'extraction des différentes parties de papaver rhoeas L (Coquelicot) avec les différents solvants.

La méthode d'extraction ainsi que la nature des solvants influent sur le rendement d'extraction ainsi que le type de métabolites extraits dans la plante (**Beisaga M., Pyrzynska.K**).

Dans le cas de Papaver Rhoëas L (Coquelicot) il a été constaté que le rendement d'extraction par décoction dans l'eau pour les pétales était 22,2 %. et pour Les feuilles et dans les mêmes conditions opératoires est de 8,45 % , l'extraction avec macération dans les solvants organiques a savoir l'acétone a donné un meilleur rendement pour les pétales 17.98% et pour les feuilles 6.36% en comparaison avec deux autres solvants organiques de polarité moindre comme l'Acétate d'éthyle ou le rendement est de 1.64% dans les pétales et 1.87% dans les feuilles, suivi par le Dichlorométhane avec 1.17% pour les pétales et 1.08% dans les feuilles.

Nos résultats peuvent être comparés avec ceux obtenus par **Hee Sun Yang et al. 2020** sur la même plante *Papaver rhoeas* où leurs travaux ont montré que le rendement d'extraction des fleurs entières était 19,37% et les feuilles 21,75%. Cette différence peut être attribuée à différents paramètres entre autre la méthode d'extraction, le solvant d'extraction, l'état et l'origine de l'échantillon en terme de provenance géographique, saison de collecte et aussi les conditions biotiques (espèce, organe et l'état physiologique) ainsi que le microclimat (**Ranalli et al., 2006 ; Falleh et al, 2008**) .

III.3. Résultats de l'identification qualitatives et quantitative de *Papaver Rhoeas* L

III.3.1. Identification qualitative

III.3.1.1. Les tests phytochimiques

Les résultats des tests phytochimiques des différents métabolites secondaires extrait des différentes parties de *Papaver rhoeas* L par décoction et macération et avec les différents solvants ont été résumés dans le **tableau III .2** :

Tableau III.2 : Résultats des tests phytochimiques.

❖ Pour les pétales

Organe	Solvants d'extractions	Métabolites secondaires testées	Observation	Résultats positif
Extrait des Pétales (de couleur rouge)	L'eau	Polyphénols		+++
		Flavonoïde		+++

		Tannins condensé		+++
		tannins gallique		+++
		Anthocyane		+++
		Composés réducteurs		+++
Acétone		Polyphénols		++
		Flavonoïde		++
		Tannins condensé		++
		tannins gallique		++
		Anthocyane		++
		Composés reducteurs		++

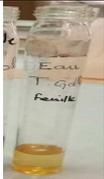
Chapitre III : Résultats et discussions

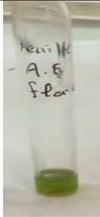
Acétate d'éthyle	Polyphénols		+
	Flavonoïde		+
	Tannins condensé		+
	tannins gallique		+
	Anthocyane	*	+
	Composés réducteurs		-
Dechloromethane	Polyphénols		++
	Flavonoïde		++

		Tannins condensé		++
		tannins gallique		++
		Anthocyane		+
		Composés réducteurs		+

❖ Pour les feuilles

	Solvants d'extractions	Métabolites secondaires testées	Observation	Résultats
Extrait des feuilles (de couleur vert)	L'eau	Polyphénols		+++
		Flavonoïde		+++
		Tannins condensé		+++

		tannins gallique		+++
		Anthocyane		++
		Composés réducteurs		++
	Acétone	Polyphénols		++
		Flavonoïde		++
		Tannins condensé		++
		tannins gallique		++
		Anthocyane		+
		Composés réducteurs		+
			Polyphénols	

	Acétate d'éthyle	Flavonoïde		+
		Tannins condensé		+
		tannins gallique		+
		Anthocyane		+
		Composés réducteurs		+
	Dichlorométhane	Polyphénole		+
		Flavonoïde		+
		Tannins condensé		+

		tannins gallique		+
		Anthocyane		+
		Composés réducteurs		+

La réponse positive des tests photochimiques dans les extraits de *P. Rhoas L* avec des réactifs spécifiques à chaque type de métabolite a confirmée la présence de métabolites secondaires importants de par leurs activité thérapeutique tel que les polyphénols, les flavonoïdes, ainsi que les tannins (condensés et galliques). Leur concentration varie avec la nature du solvant ainsi que la méthode d'extraction. Il a été clairement remarqué que l'eau suivi par l'acétone sont des solvants polaires efficace pour l'extraction d'une large gamme de métabolites secondaire. (Grauso et al, 2009). Par contre acétate d'éthyle et le dichlorométhane restent des solvants potentiels pour l'extraction de certains métabolites mais moins efficace que l'eau et l'acétone.

III.3.1.2. Chromatographie sur couche mince (C.C.M):

Pour une caractérisation partielle des différents extraits de *Papaver Rhoas L*, une chromatographie sur couches minces (CCM) a été réalisée avec le système solvant : méthanol/l acétate d'éthyle / d'eau désilée : (35ml /10ml /5ml) permettant d'avoir une bonne séparation et une visibilité acceptable des spots. L'ensemble des résultats de l'analyse C.C.M sont représentés dans le **tableau III**.

Tableau III.3 : Des résultats de l'analyse C.C.M e l'extrait des pétales de *Papaver Rhoas L*

<i>Extrait</i>	<i>R_f</i>	<i>Fluorescence à 366 nm</i>	<i>Métabolites</i>
Extrait aqueux des Pétales	0.038	Bleu	Tannins condensé
	0.92	Orange	flavonoïdes
	0.98	Rouge	polyphénols

L'analyse par chromatographie sur couche mince (C.C.M) est une méthode de séparation et de caractérisation qui permet l'identification partielle des principales familles de métabolites secondaires à savoir les polyphénols, les flavonoïdes, et les tannins qui fluoresce respectivement dans le domaine de l'ultraviolet en bleu, orange, et rouge(**Grauso L, Emrick S, Bonanomi G, Lanzotti V (2019)**) Dans les extraits des différentes parties de *Papaver Rheoas L*, il a été observé la présence de spots dans le domaine du visible entre autre une tache rouge caractéristique de la couleur des pétales qui correspond au anthocyanines où le cyanidol qui est le composant majoritaire (**Schauenberg P, Paris F (1977)**) et des spots observable dans l'ultraviolet à $\lambda=365\text{nm}$ avec des fluorescences différentes et propre à chaque espèce, les tannins condensés avec $R_f=0.083$, les polyphénols sont représentées par une tache avec un $R_f=0.98$ et les flavonoïdes avec $R_f=0.92$. Ces rapports frontaux sont en accord avec ce qui a été décrit dans la littérature (**Nikolaos S, et al 2013**).**Figure III.1 (annexe III)**

III.3.1.3. Chromatographie sur la colonne de silice

Une autre manière d'évaluation qualitative est la chromatographie sur colonne, l'éluant utilisé est le même que celui pour la CCM, le volume de l'éluant emportant chaque constituant de l'extrait végétal aussi appelé fraction est récupéré et analysée par Uv-Vis, les spectres Uv-Vis des fractions récupérées figurent dans **annexe III**.

L'identification spectral Uv-Vis de la première fraction sortie de la colonne **figure III.2(annexe III)** montre deux pics d'absorbances à 256.7 nm et 370 nm, qui peuvent correspondre à des polyphénols (**Catauro et al (2015)**).

Concernant la fraction 2, **figure III.3 (annexe III)** un pic d'absorbances 270 nm, qui peuvent correspondre à des flavonoïdes (**Kafley et al (2006)**).

Le spectre Uv-Vis de la fraction 3, **figure III.4 (annexe III)** indique la présence de deux pics d'absorbances à 208nm et 315 nm, qui peuvent correspondre à des tanins (**Medina et al (2017)**).

III.3.2. L'analyse quantitative

III.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins

La quantification de l'ensemble des métabolites secondaires présents dans les différents organes de *Papaver Rheoas L*, extraits par les différents solvants sont résumés dans le **tableau III.4**

Tableau III.4 : Teneur en phénols totaux, flavonoïdes et tanins dans les différents organes de *Papaver Rheoas L*

Partie de la plante	Solvants d'extractions	Phénols totaux (mg Eq AG/ g MS)	Flavonoïdes (mg Eq Q /g MS)	Tanins condensés (mg Eq C / g MS)
Pétales	Eau	206,57	116,80	94, 32
	Acétone	165.25	93,44	69,19
	Acétate d'éthyle	46,67	23,86	15,84
	Dichlorométhane	26,16	13,87	9,15
Feuilles	Eau	204.71	108.6	86,74
	Acétone	154.06	81,77	53,64
	Acétate d'éthyle	15.71	8,16	0,95
	Dichlorométhane	12.88	6 ,54	0 ,89

Une des caractéristiques des polyphénols, qu'ils partagent généralement avec l'ensemble des métabolites secondaires, est de montrer une répartition très inégale chez les différentes espèces végétales et, pour une même espèce, selon la variété et le stade d'évolution physiologique (**Macheix J.J et all 2005**).

Les résultats de l'analyse quantitative montrent que les différents organes de *Papaver Rheoas L*, renferment des quantités non négligeables en substances actives polyphénoliques,

avec une différence importante entre elles selon la nature de l'organe (pétales ou feuilles) et aussi le solvant et la méthode d'extraction.

Il a été constaté d'après les résultats du **tableau III.4** que la teneur en polyphénols est plus élevée dans les pétales par rapport aux feuilles et pour les différents solvants. L'eau dans ce cas présente une meilleure extraction de ses métabolites 206,57 (mg EqAG/ g MS) pour les pétales, et 204.71 (mg Eq AG/ g MS) pour les feuilles, suivi par l'acétone 165.25 (mg EqAG/ g MS) pour les pétales et 154.06 (mg Eq AG/ g MS) dans l'extrait des feuilles ensuite l'acétate d'éthyle et le dichlorométhane (**figure III.7**). Cette différence peut être expliquée par l'affinité des composés phénoliques pour les solvants polaires (**Ebrahimi N.S et all 2008**). Les résultats de notre étude restent semblables à celle menée par (**Gehin A, et all 2000 ; Bouterfas, 2011**) où les teneurs les plus élevées des composés phénoliques totaux, ont été notées en premier lieu dans les extraits des pétales puis les feuilles (pétales >feuilles).

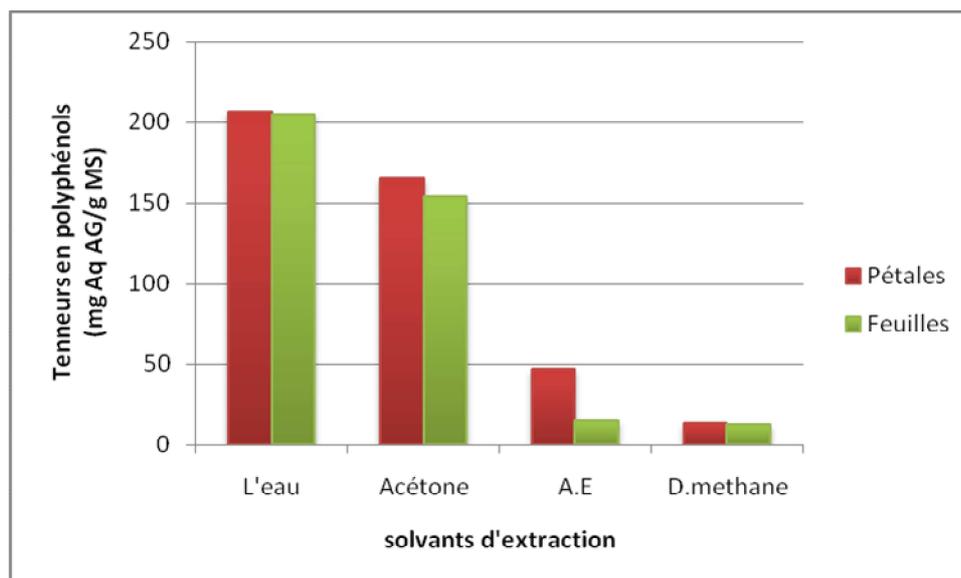


Figure III. 7 : Teneurs en poly phénols totaux des extraits étudiés (mg EqAG/ g MS).

Les résultats du dosage des flavonoïdes dans les différentes parties de la plante montrent clairement que l'extrait aqueux représente des teneurs très élevées en flavonoïdes ; 116 (mg Eq Q /g MS) pour les pétales et 108,6 (mg Eq Q /g MS) dans les feuilles par contre avec les autres solvants organiques le taux élevé des flavonoïdes a été trouvé dans les feuilles. Pour l'acétone

par exemple 93,44 (mg Eq Q /g MS) dans les pétales contre 81,77 (mg Eq Q /g MS) dans les feuilles la même chose a été constaté pour les autres solvants ; l'acétate d'éthyle et le dichlorométhane (**figure III.8**).

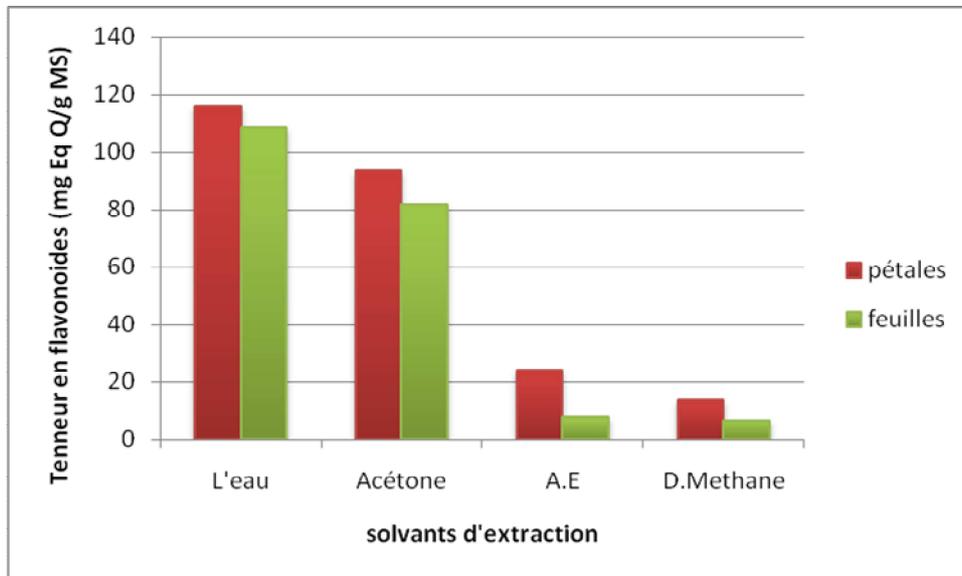


Figure III .8 : Teneurs en flavonoïdes dans les extraits étudiés (mg Eq Q/ g MS).

Concernant la teneur en tanins condensés, dans notre étude, le meilleur taux est remarqué dans les extraits aqueux 94.32 (mg Eq Q /g MS) dans les pétales et 86.74 (mg Eq Q /g MS) dans les feuilles. Les extraits végétaux avec les solvants organiques (acétone, acétate d'éthyle et dichlorométhane) montrent aussi que la teneur des tannins dans les fleurs est toujours plus importante que dans les feuilles (**figure III.9**).

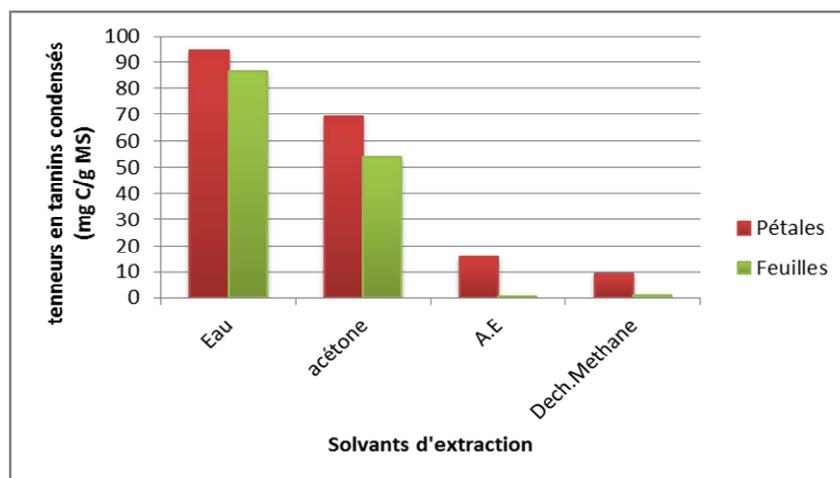


Figure III.9 : Teneurs en tannins condensés dans les extraits étudiés (mg EqAG/ g MS).

III.4. Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

Les chromatogrammes de l'ensemble des composés phénoliques contenu dans les extraits de pétales et feuilles obtenus à 290nm sont représentés respectivement dans **Les figures III.4 et III.5 (Annexe II)**

La couleur rouge des pétales de coquelicot est due à la présence de flavonoïdes et plus spécifiquement anthocyanes, dont le cyanidol est le principal composant (Schauenberg et Paris 1977), représenté par un($t_r=1.737$), **figure III.4(Annexe II)**. Des études complémentaires ont permis de déterminer la présence de la rutine, de vitexine, de malvidine, de coumarine et de lutéolinidine dans les extraits hydro-alcooliques (Soulimani et al, 2001), le pic avec ($t_r= 3.585$) **figure III.4 (Annexe II)** peut être attribué à la quercétine, (Hillenbrand et al. 2004). La présence de l'hypolétine et la lutéoline, ainsi que les glycosides flavonoïdes, l'isoquercitrine, l'astragaline et l'hyperoside. l'astragaline et l'hyperoside ont été isolés de l'extrait végétal de la plante (Hillenbrand et al. 2004). Concernant les feuilles les flavonoïdes sont représentés avec ($t_r = 1.738$) **figure III.5 (Annexe II)**, les acides organiques peuvent être représentés par un pic avec ($t_r=0.15$) Grauso et al. (2019). Les alcaloïdes sont les métabolites les plus représentatifs des Papavéracées elles peuvent être représentés par le pic avec ($t_r=10.571$). Le principal alcaloïde isolé des parties aériennes d'un échantillon de *P. rhoeas* s'est avéré être la(+)-rhoéadine. Les alcaloïdes mineurs étaient l'allocryptopine, la protopine, la coulteropine, la berbérine, la coptisine,(-)-sinactine,

(+)-isocorydine, (+)-roemerine, et (+)-rheagenine, sanguinarine (Slavik 1978) ; (Pfeifer et Banerjee 1964) ; les composés phénoliques peuvent être attribués au pic avec ($t_r=5.26$) **figure III.5(annexe II)** (Grauso et al. (2019).

III.6. Résultats des Tests de l'activité biologique des extraits de *Papaver Rhoeas L*

III.6.1. Résultats de l'activité anti radicalaire in vitro des extraits de *Papaver Rhoeas L*

L'activité anti radicalaire des extraits végétaux des pétales et des feuilles de *Papaver Rhoeas L* dans les différents solvants est représentée respectivement sur la **figure III.10**, la **figure III.11**. Il a été clairement constaté que les extraits aqueux et organiques des pétales et des feuilles présentent une activité anti radicalaire importante, et cette efficacité évolue dans l'ordre suivant : eau > acétone > acétate d'éthyle > dichlorométhane. Le meilleur taux d'inhibition est alloué aux extraits aqueux ; 82,3% pour les pétales et 54,25 % pour les feuilles, cette efficacité a été mise en avant par un test comparatif avec un antioxydant puissant à savoir l'acide ascorbique **figure III.10**. Et le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration. Les résultats de notre investigation restent similaires à ceux de (Morales et al, 2014) en effet, l'analyse de l'extrait de *Papaver Rhoeas L* traditionnellement utilisée en Espagne pour ses aspects nutritionnels importants a montré la présence de la vitamine C (sous forme d'acide ascorbique et d'acide déhydroascorbique), la vitamine E (tocophérols et tocotriénols) et des acides organiques.

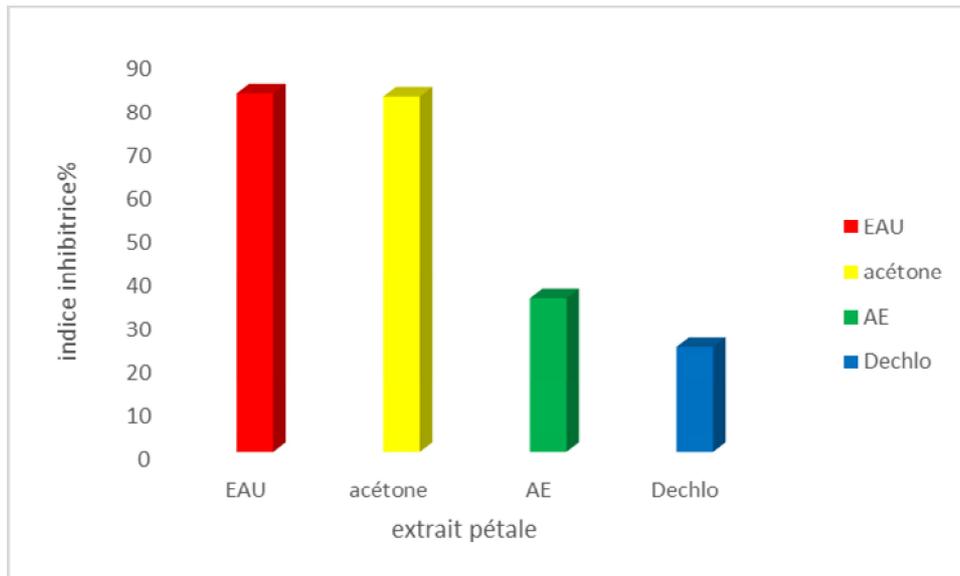


Figure III.10 : Représentation des activités antioxydant des extraits des pétales de Papaver Rhoas L dans les différents solvants.

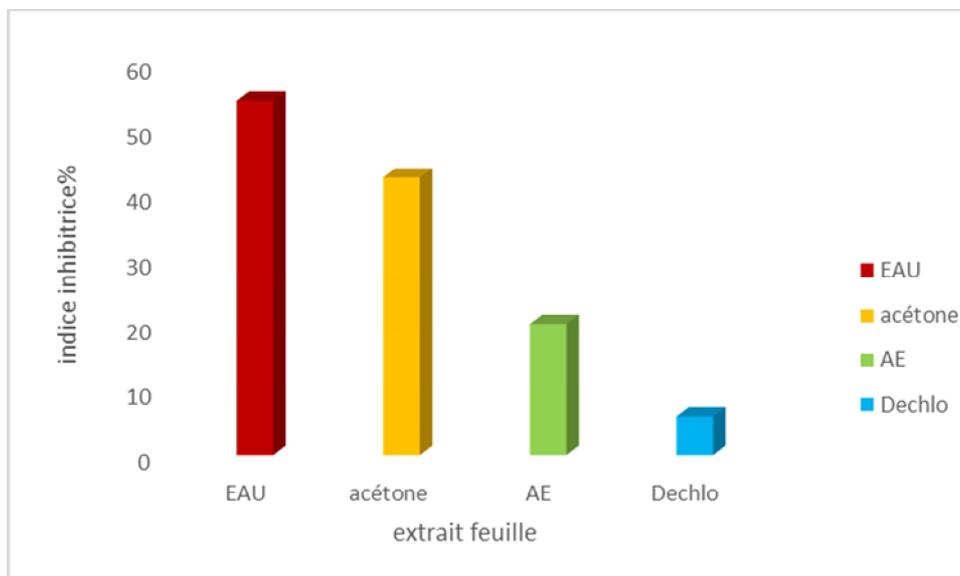


Figure III.11 : L'activité anti radicalaire des extraits des feuilles de Papaver Rhoas L dans les différents solvants.

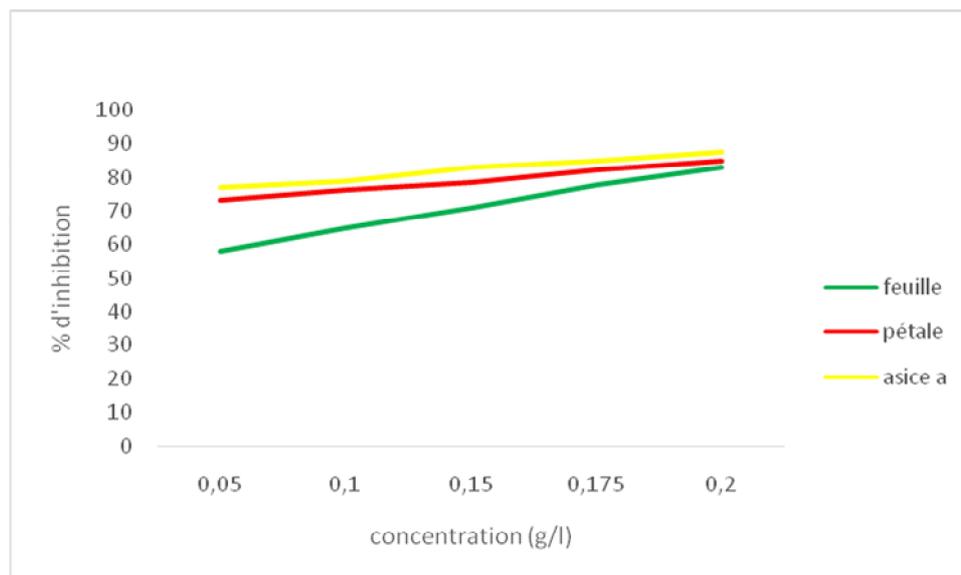


Figure III .12 : Etude comparative de l'activité anti oxydante des extraits aqueux des parties aériennes de *Papaver Rhoeas L* et acide ascorbique

En effet le *Papaver Rhoeas L* est riche en composés doués d'activité antioxydante tels que: les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, ces différents constituants exercent ses actions antioxydantes en inhibant la production de l'anion superoxyde, l'hydroxyle, comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes (**Bruneton, 1999**).

Cernant l'IC50 la quantité de substance d'antioxydant nécessaire pour réduire 50% de la quantité de DPPH initialement présente).il a été remarqué que l'extrait aqueux des pétales présente un IC50(0,57) inférieur à celui des feuilles (0,62), sachant qu'une valeur IC50 inférieure reflète une meilleure action protectrice qui dans notre cas est octroyé aux pétales et cette efficacité est confirmée par le AAR (l'activité anti radicalaire).

III .6.2. Résultats de l'activité antibactérienne

L'ensemble des résultats du test de sensibilité microbienne pour les deux types de bactérie (**Staphylococcus aureus (gram+)** et **Escherichia coli (gram-)** aux extraits (pétales et feuilles) sont regroupés dans le tableau **III.1(annexe III)**. Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois mesures. L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait étudié (pétales ou feuilles). Le diamètre de la zone d'inhibition est relatif à la sensibilité de la bactérie à cet extrait testé et elle diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre.

Tableau III.5 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne par les différents extraits bruts étudiés

Souches bactériennes	pétales	feuilles
Staphylococcus aureus (gram+)	5.95±0.08mm	6.62±0.06mm
Escherichia coli (gram-)	-	6.67±0.07mm

Les tests antibactériens (**tableau III.5**) confirment l'efficacité des extraits des parties aériennes(feuilles et pétales) de *Papaver Rhoeas L* contre le *Staphylococcus aureus*(gram+) avec une zone d' inhibition 6.62±0.06mm pour l' extrait des feuilles et 5.95±0.08 pour l' extrait des pétales (**figure III.13**). Par contre l'extrait aqueux de ses dernières ne semble avoir aucune efficacité contre *Escherichia coli* (gram-) en comparaison avec l'extrait des feuilles 6.67±0.07mm (**figure III.14**). les extraits aqueux des pétales et des feuilles semble êtres riches en métabolites secondaires avec des propriétés antibactériennes (flavonoides, polyphenols et tannins) (**tableau III.5**), cette efficacité varies selon la nature de de la bactéries, la réponse positive pour le *Staphylococcus aureus*, et le *Escherichia coli* (gram-) fait du *Papaver Rhoeas L* une plante très recommandé pour le traitement bactérien.

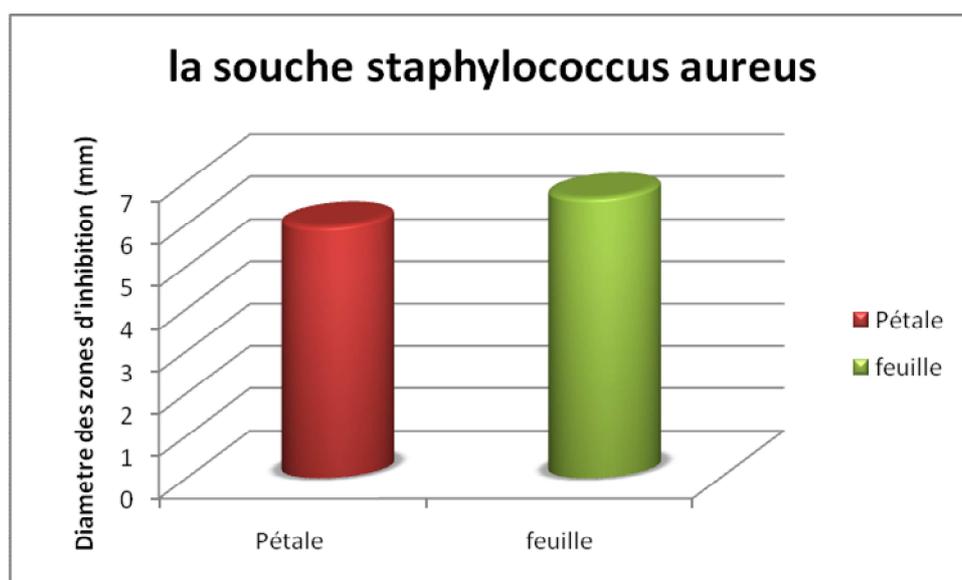


Figure III.13 : histogramme de comparaison entre les deux parties de la plante contre inhibition de la souche staphylococcus aureus.

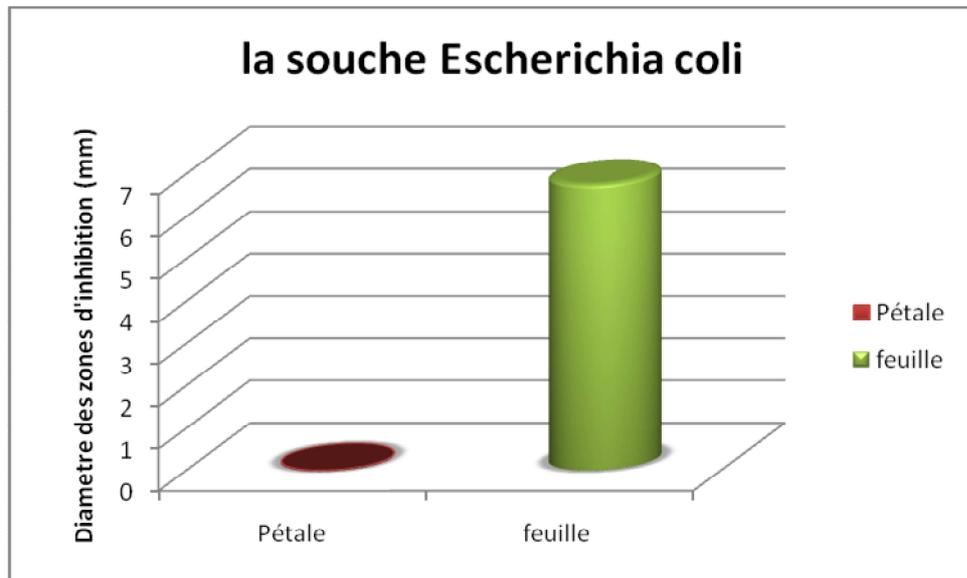


Figure III.14 : histogramme de comparaison entre les deux parties de la plante contre inhibition de la souche Escherichia coli.

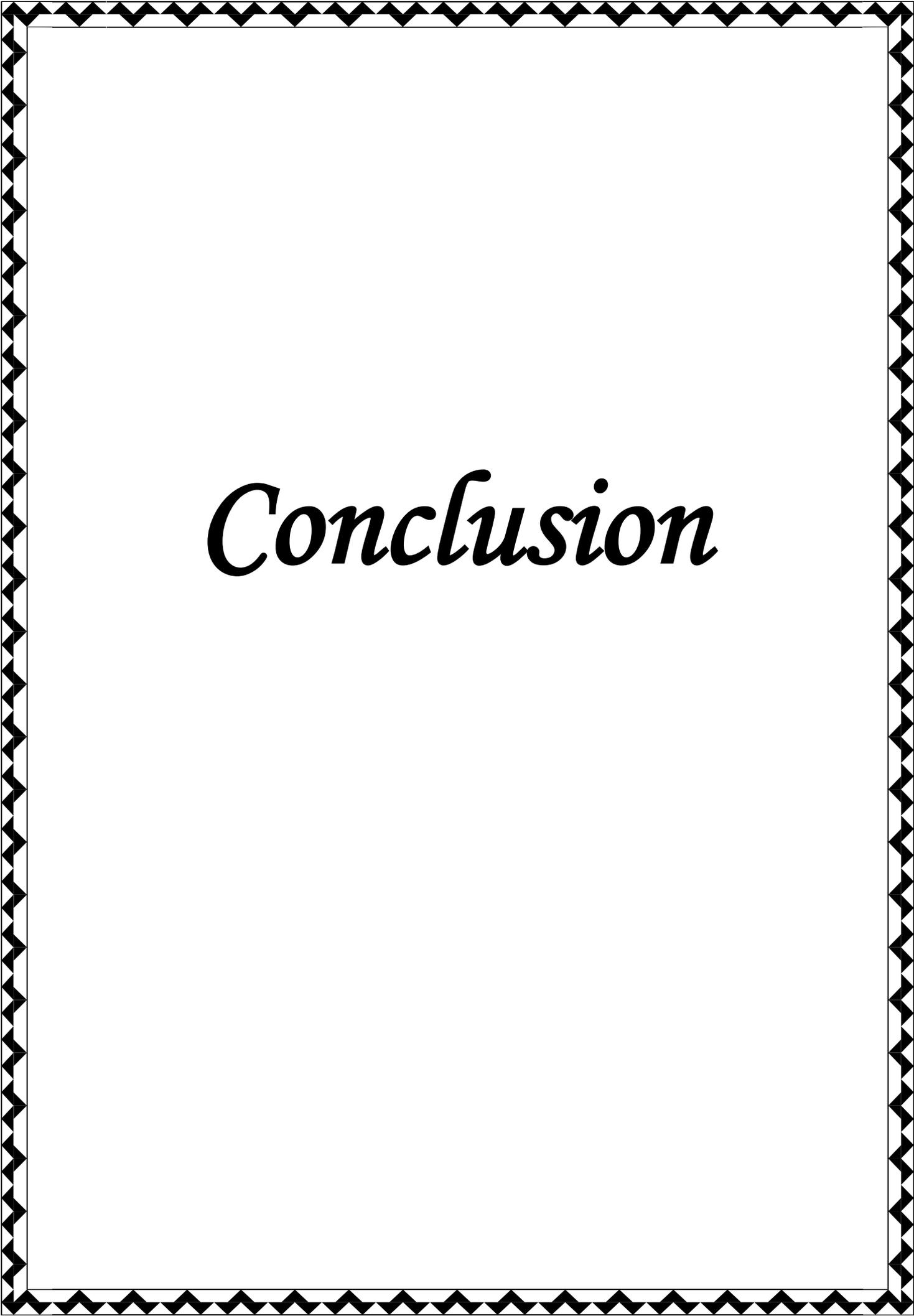
III.7. Confection d'un sirop antioxydant et antibactérien et sédatif à base d'extrait de pétales de Papaver Rhoeas L " oxsedabacoq

Posologie

- **Antitussif** : pour adulte 1c.s(4 fois/jours).
pour enfant 2 c.s(2 fois / jours).
- **Sédatif** : pour adulte 1 c.s (1 foi / jours) avant le coucher.
pour enfant $\frac{1}{2}$ c.s (1fois/jour) avant le coucher.



Figure III.15 : Sirop OXSEDABACOQ



Conclusion

Conclusion et perspectives

Dans notre étude l'identification qualitative par la méthode phytochimique, les méthodes spectrophotométriques et chromatographiques ont confirmées la présence de ses métabolites et dont la concentration varie selon la nature de l'organe (feuilles et pétales) .

Les solvants et les méthodes d'extractions jouent un rôle prépondérant dans la sélectivité des métabolites extraits, il a été constaté dans notre cas que l'extraction aqueuse avec décoction présente un rendement intéressant en comparaison avec les solvants organiques.

Les tests antibactériens entrepris dans notre étude ont confirmés l'efficacité antibactérienne des extraits de *Papaver Rhoeas L* contre le staphylocoque et l'Escherichia coli, et l'activité antioxydante des extraits de pétales et de feuilles a été aussi largement démontrée.

La richesse de cette plantes de métabolites secondaires avec des activités thérapeutiques diversifiés nous a inspiré à confectionné un sirop thérapeutique a effet antioxydant,antibactérien, et aussi un sédatif pour adultes et pour enfants.

Et comme perspectives, sachant que cette plante est riche en métabolites a grand effet thérapeutique ça serait intéressant d'élargir l'étude antibactérienne sur d'autres bactéries de gram + et voir l'efficacité des extraits aqueux de cette dernière sur des bactéries de gram (-) autres que la Escherichia coli.

Aussi faire une étude antivirale des extraits de *Papaver Rhoeas L* et entre autre sur la covid 19 et la confection éventuelle d'un sirop anti covid 19.



Revue

bibliographique

Références

A

Achat. S., 2013. Polyphénols de l'alimentation: extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques. Thèse en Co-tutelle de du grade de Docteur en Science Biologique, Option Sciences Alimentaires. Collaboration interuniversitaire, Université Abderrahmane Mira – Béjaia et Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. p 25.

Aidoud. A, Sammoudi. R., 2016. Plantes médicinales anti rhumatismales du Sahara Algérien. Mémoire de Master en Sciences Biologiques, Option Immunologieapprofondie. Université 8 Mai 1945 - Guelma. p 9.

Attou. A., 2011. Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Rutachalepensis*(fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire de Magister en biologie, Option Produits naturels: activité biologique et synthèse. Université AboubekrBelkaid - Tlemcen, pp 11-14.

B

Bouchouka. E, 2016. Extraction des polyphénols et étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de doctorat en Biochimie appliquée. Université Badji Mokhtar - Annaba, pp 20-24.

Bown D, 2008 The Royal Horticultural Society Encyclopedia of herbs and their uses. Dorling Kindersley, London.

Bohui. P.S.G; Adima. A.A; Niamke. F.B; N'Guessan. J.G., 2018. Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles des plantesmédicinales.*Journal of Société Ouest--Africaine de Chimie*, 46, 50-58.

Bruneton. J., 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3e Édition Tec and Doc. Paris. (Collection Lavoisier), ISBN: 978-2-7430-0315-9, 1120p.

Bruneton. J., 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4e Édition Tec and Doc. Paris. (Collection Lavoisier), ISBN: 978-2-7430-1188-8, 1292p.

Beisaga M., Pyrzynska K. Stability of Bioactive Polyphenols from Honey during Different Extraction Methods .J. food chemistry 2013; 136:46-54

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C. et Pinkas M., (1996).Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneim-Forsch/Drug Research*, 46: 1086-1108.

Bouterfas K (2011) Etude de *Marrubium vulgare* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale) autoécologie, histologie, quantification de quelques polyphénols et évaluation du pouvoir antimicrobien des flavonoïdes. Mémoire de magister, université de Sidi Bel Abbès, 244 p.

Boudiaf, K., (2006) Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister .Setif.

B.Sun, JM.Richardo-da-Silvia, I.Spranger, "Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins" J. of Agriculture and Food Chemistry, 1998, Vol. (46), page : 4267.

C

Cabanel. S., 2013.*Houttuynia cordata* Thunberg Saururaceae. Thèse du grade de Docteur en Pharmacie. Université Toulouse III Paul Sabatier - France. P 38-102.

Cowan. M.M., 1999 Plant products as antimicrobial agents. *Journal of American Society for Microbiology*, 12 (4), 564-582.

Catauro, Mhelina et papale, Ferdinando et Bollino, Flavia et Piccolella, Simona et Marciano, Sabina et Nocera, Paola et Pacifico, Severina.(2015).Silica/quercetin sol-gel hybrids as antioxidant dental implant materials. *Science and technology of advanced Materials* 16.10.1088/1468-6996/16/3/035001.

D

Duke JA, Ayensu ES (1985) Medicinal plants of China, Medicinal plants of the world. Reference Publications, Algonac

E

EL gharra. H., 2009. Polyphénols: food sources, properties and applications. *Journal of Food Science and Technology*. 44, 2512-2518.

Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A, Yousefzadi M. Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food Chem.*, 2008, 110(4), 927-931.

F

François Couplan, Les plantes et leurs noms, Éditions Quæ, 2012 (ISBN 275921799X, EAN 978-2759217991), p. 48.

Fatemi SM, Pashaei-Rad S, Faghieh-Monzavi Z, Salimi SH, Kamalinegad M (2006) Effects of *Papaver rhoeas* extract on the acquisition and expression of morphine-induced conditioned place preference in mice. *J Ethnopharm* 103:420–424

Fieldpoppy » [\[archive\]](#), sur *Centerchem* (consulté le 20 février 2016).

Fleurentin J., Weniger B., Eds Ouest France, 2018. Bohui Pacôme Serge Gouegoui, Augustin Amissa Adima¹, Florence Bobelé Niamké¹, Jean David N’Guessan² (2018). Etude comparative de trois méthodes d’extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 046 : 50 – 58.

G

Gehin A, Guyon C, Nicod L (200) Glyphosate-induced antioxidant imbalance in HaCaT: The protective effect of Vitamins C and E. *Environ Toxicol Pharmacol* 22: 27–34.

Grauso L, Emrick S, Bonanomi G, Lanzotti V (2019) Metabolomics of the alimurgic plants *Taraxacum officinale*, *Papaver rhoeas* and *Urtica dioica* by combined NMR and GC–MS analysis. *Phytochem Anal* 30:535–54.

Grauso L, Emrick S, Bonanomi G, Lanzotti V (2019) Metabolomics of the alimurgic plants *Taraxacum officinale*, *Papaver rhoeas* and *Urtica dioica* by combined NMR and GC–MS analysis. *Phytochem Anal* 30:535–546),

Gehin A, Guyon C, Nicod L. Glyphosate-induced antioxidant imbalance in HaCaT: The protective effect of Vitamins C and E. Environmental Toxicology and Pharmacology. 2000; 22: 27-34.

Guignard, J.-L. (1996). Biochimie végétale. Masson, Paris, 255 p

H

H.P.S.Makkar, "In Quantification of tannins in tree foliage" Working document, FAO/IAEA, Vienna, 2000.

Hillenbrand M, Zapp J, Becker H (2004)Deposides from the petals of *Papaver rhoeas*. *Planta Med* 70:380–382.

Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M. (2002) Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*.

Hopkins (2003). *Physiologie végétale*. 1ere édition Espagne de Boeck P : 26 268 281 282 281.

Hoffman, L. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes, Thèse de doctorat. Strasbourg. 245p.

H.P.S.Makkar, "In Quantification of tannins in tree foliage" Working document, FAO/IAEA, Vienna, 2000.,P.Schofield, D.M. Mbugua, A.N.Pell, "Analysis of condensed tannins" a review. Anim. FeedSci. Technol. 2001, Vol. (91), page : 21.

K

Kholkhal. F., 2014. Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus*ssp et *coloratus* et *ssp* *speciliatus*. Thèse de doctorat en biologie, Option Produits naturels, Aspects nutritionnels et Activités Biologiques. Université Abou bekrBelkaid - Tlemcen, pp 18-22.

Ku'ltu'r S, (2007) Medicinal plants used in Kırklareli province (Turkey). *J Ethnopharm* 111:341–364.

L

Laouini. S., 2014. Etude phytochimique et activité biologique d'extraits des feuilles de *Phoenix deactyliferal*. dans la région du sud d'Algérie (la région d'Oued Souf). Thèse de doctorat en Chimie Industrielle, Option Génie chimique. Université Mohamed Khider - Biskra, pp 39-92.

L .Lagnika, "*Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises*" Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, **2005**, page :249.

Lamnaouer Driss, *Plantes médicinales du Maroc : Usages et toxicité, (2002).*

M

Mabberley DJ (2008) *Mabberley's Plant-book: a portable dictionary of plants, their classification and uses.* Cambridge University Press, Cambridge.

Mitich LW (2000) Corn poppy (*Papaver rhoeas* L.) 1. *Weed Technol* 14:826–829.

Molyneux, P., (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarim J .Sci .Technol*, 26, 211 – 219.

MonzaviZ, Salimi SH, Kamalinegad M (2006) Effects of *Papaver rhoeas* extract on the acquisition and expression of morphine-induced conditioned place preference in mice. *J Ethnopharm* 103:420–424

Matysik, G., Benesz, M., 1991. Thin-layer chromatography and densitometry of anthocyanins in the petals of red poppy during development of the flowers. *Chromatographia* 32, 19–22.

Martin Hanf, *Les adventices d'Europe : leurs plantules, leurs semences,* BASF, 1982, 496 p., p. 382-383 asin= B006TWM54M.

Macheix JJ, Fleuriet A and Jay-Allemand C. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 2005, p. 4-5.

Muanda N. F., Koné D., Dicko A., Soulimani R., Younos C. 2009. Phytochemical composition and antioxidant capacity of three Malian Medicinal plant parts.

ECAM doi:10.1093/ecam/ nep109: 1 - 8.

Morales P, Ferreira ICFR, Carvalho AM, Sa´nchez-Mata MC, Ca´mara M, Ferna´ndez-Ruiz V, Pardo-de-Santayana M, Tardi´o J (2014) Mediterranean non-cultivated vegetables as dietary sources of compounds with antioxidant and biological activity. *LWT Food Sci Technol* 55:389–396

N

Nikolaos S, Christodoulakis NS, Tsiarta M, Fasseas C (2013) Leaf structure and histochemical investigation in *Papaver rhoeas* L. (Corn poppy, field poppy). *J Herbs Spices & Med Plants* 19:119–131

Negi P.S, Jayaprakasha G.K., et Jena B.S., (2003). Antioxydant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food Chemistry*, 80:393-397.

P

P.Schofield, D.M. Mbugua, A.N.Pell, "Analysis of condensed tannins" a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2001**, Vol. (91), page : 21.

Pfeifer S, Banerjee SK (1964) Red-colored alkaloids of the genus *Papaver*. *Pharmazie* 19:286–289.

R

Richard. A., 2012. Synthèse bibliographique de la phytothérapie et de l'aromathérapie appliquées à la dermatologie. Thèse du grade de Docteur Vétérinaire.

Université Claude-Bernard, Lyon I - France. p 22-31.

R.Julkunen-Titto, "Phenolic constituents in the leaves of northern willows methods for the analysis of certain phenolics" *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 1985, Vol. page: 213

Rojas A., Hernandez L., Pereda-Miranda R., and Mata R. (1992). Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 35: 275-283.

S

Saidi. I., 2019. Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des Fabaceae: *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès: extraction des substances bioactives. Thèse de doctorat en Science biologique, Option Enzyme, Microorganismes et Bio-industries. Université Djillali Liabès – Sid Bel Abbés. pp 4-29.

Schauenberg P, Paris F (1977) Guide des plantes médicinales. Delachau et Niestlé, Paris

Sahraei H, Fatemi SM, Pashaei-Rad S, Faghieh-Monzavi Z, Salimi SH, Kamalinejad M (2006) Effects of *Papaver rhoeas* extract on the acquisition and expression of morphine-induced conditioned place preference in mice. *J Ethnopharm* 103:420–424

Soulimani R, Younos C, Jarmouni-Idrissi S, Bousta D, Khalouki F, Laila A (2001) Behavioral and pharmacotoxicological study of *Papaver rhoeas* L. in mice. *J Ethnopharmacol* 74:265–274.

Slavik J (1978) Characterization of alkaloids from the roots of *Papaver rhoeas* L. *Collect Med Leg Toxicol Med* 43:316–319.

Stefanova T, Nikolova N, Michailova A, Mitov I, Iancovii, Zlabinger GI, Neychev H. 2007. Enhanced resistance to *Salmonella enterica* serovar typhimurium infection in mice after coumarin treatment. *Microbes and infection.* 9 :7-14.

Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier. p : 02-11

T

Tutin TG, Halliday G, Beadle M (eds) (1993) *Flora Europaea*. Cambridge University Press, Cambridge

TREASE R E., EVANS W.C., 1987- *Pharmacognosie, Billiaire Tindall*. 13 th edition. London : 61-62.

V

V.L.Singleton, J.R.Rossi, "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphothungstic acid" Am. J. Enol. Vitic,**1965**, Vol. (16), page : 144

Valnet, J., 1992. Phytothérapie, sixthéd. Maloine, Paris, France.

W

Williams, J.T., Christie, M.J., Manzoni, O., 2001. Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. *PhysiologicalReviews* 81,299–343.

Wan J, Wilcock A, Coventry MJ (1998) The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonashydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *J. Appl. Microbiol.* 84: 152-158.

Z

Zemmouri. H., 2015. Etude des activités biologiques et effets comparatifs de *Borago Officinalis* et *Urticadioica* sur l'inflammation bronchique dans un modèle d'asthme expérimental chez les rats de la souche wistar. Thèse de doctorat en Biochimie appliquée. UniversitéBadji Mokhtar - Annaba, pp 23-26.

Zargari, A., 1994. *Medical Plants*, vol. 1. Tehran University, Tehran, pp.91–102.

Sites web

<https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Papaveraceae.html>

<https://partagedugout.wordpress.com/les-comestibles/le-coquelicot/>(Flavigny,1753).

Annexe

Annexe I

Tableau II.1 : Les réactifs et leurs propriétés.

REACTIF	FORMULE CHIMIQUE	MASSE MOLAIRE (g/mol)	PURTE %
Acetate d'éthyl	C ₄ H ₆ O ₂	88,11	99,8
Acetonitrile	C ₂ H ₃ N	41,05	/
Acide Chlorhydrique	HCl	36,46	35_38
Acide sulfurique	H ₂ SO ₄	98.079	/
Carbonate de Sodium	Na ₂ CO ₃	105.98	99.8
Chlorure d'Aluminium	AlCl ₃	133.34	95_98
Chlorure de fer III	FeCl ₃	162,2	/
Chlorure de Sodium	NaCl	58.44	
Dichloromethane	CH ₂ CL ₂	84,93	100
Eau distillé	H ₂ O	18	/
Ethanol	C ₂ H ₆ O	46,07	96
Folin-ciocalteu	/	/	/
Hydroxyde de sodium	NaOH	39.997	/
Methanol	CH ₃ OH	375.13	99
Nitrite de sodium	NaNO ₂	68,9953	99
Vanilline	C ₈ H ₈ O ₃	152,15	99

II. Préparations des Réactifs :

Le réactif Folin-ciocalteu : (1 ml réactif dans 10ml de H₂O).

Vanilline : 1 g de vanilline complété avec 100ml de H₂O.

FeCl₃ 0.1% : dissoudre 0.1 g de la poudre dans une fiole.

Na₂CO₃ 7,5% : dissoudre 7,5 g de la poudre dans une fiole.

AlCl₃ 2% : dissoudre 2 g de la poudre dans une fiole.

Annexe II

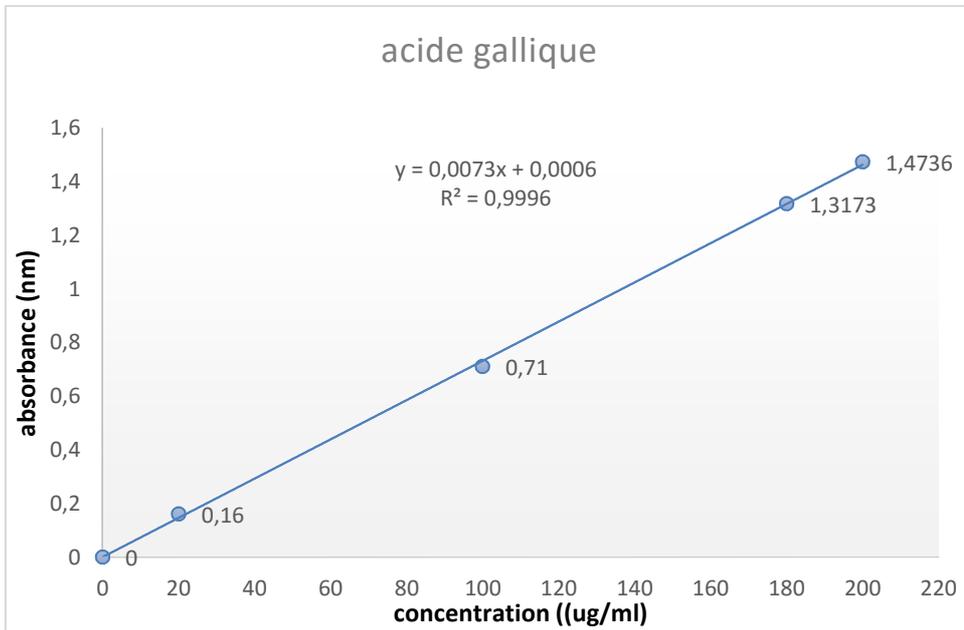


Figure III.1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

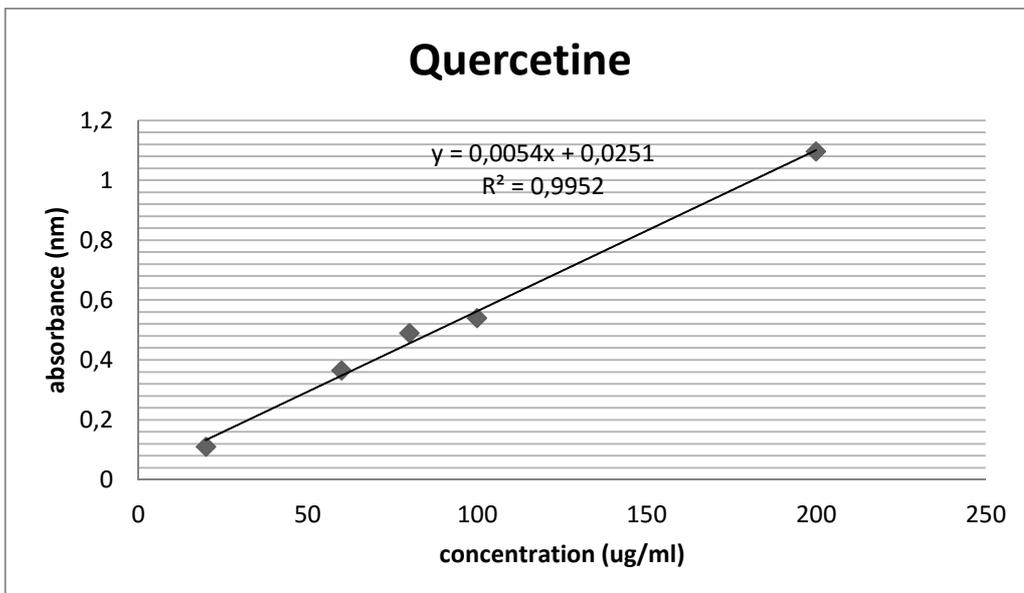


Figure III.2 : courbe d'étalonnage de la quercetine

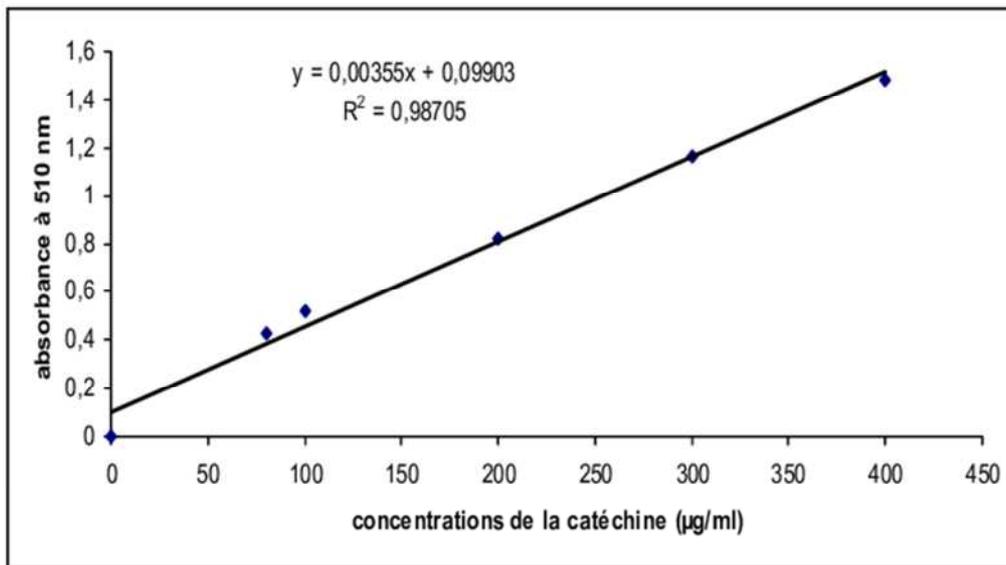


Figure III .3 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

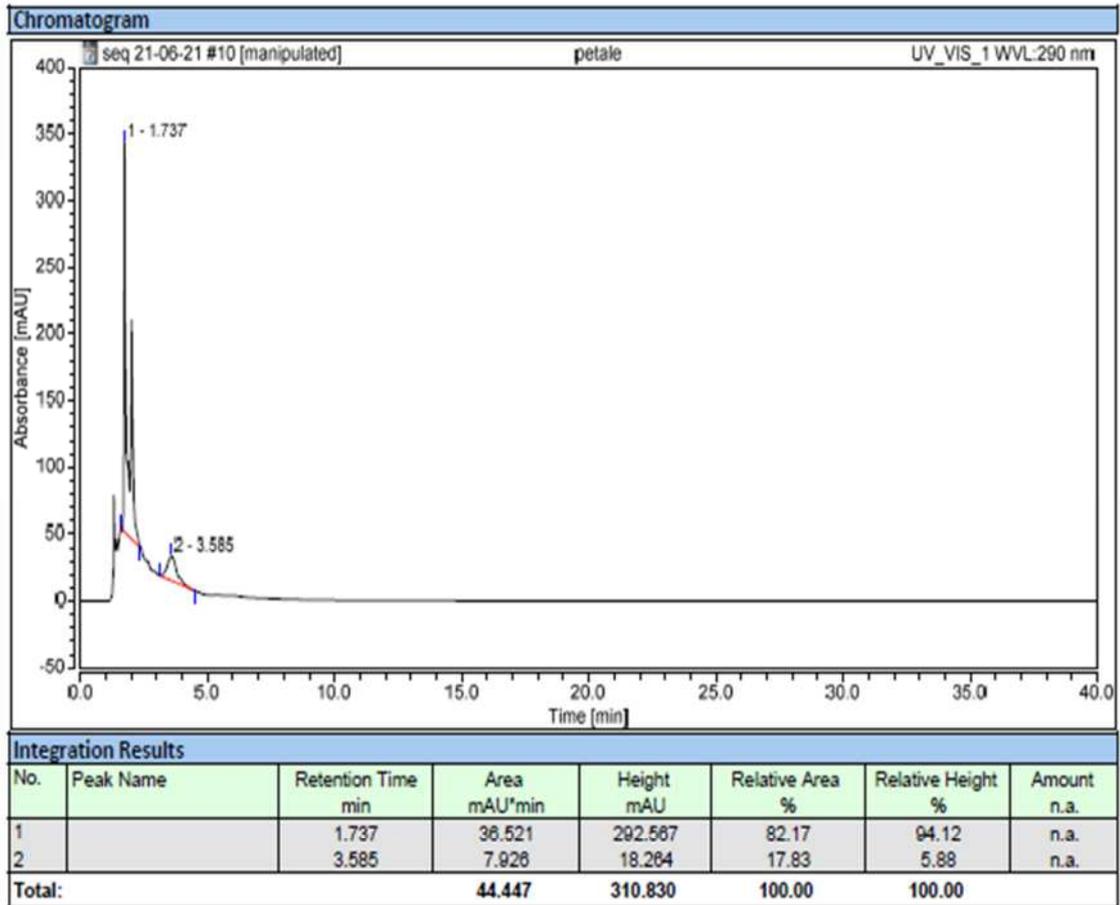


Figure. III.10 : profil chromatographique de l'extrait aqueux des pétales du coquelicot.

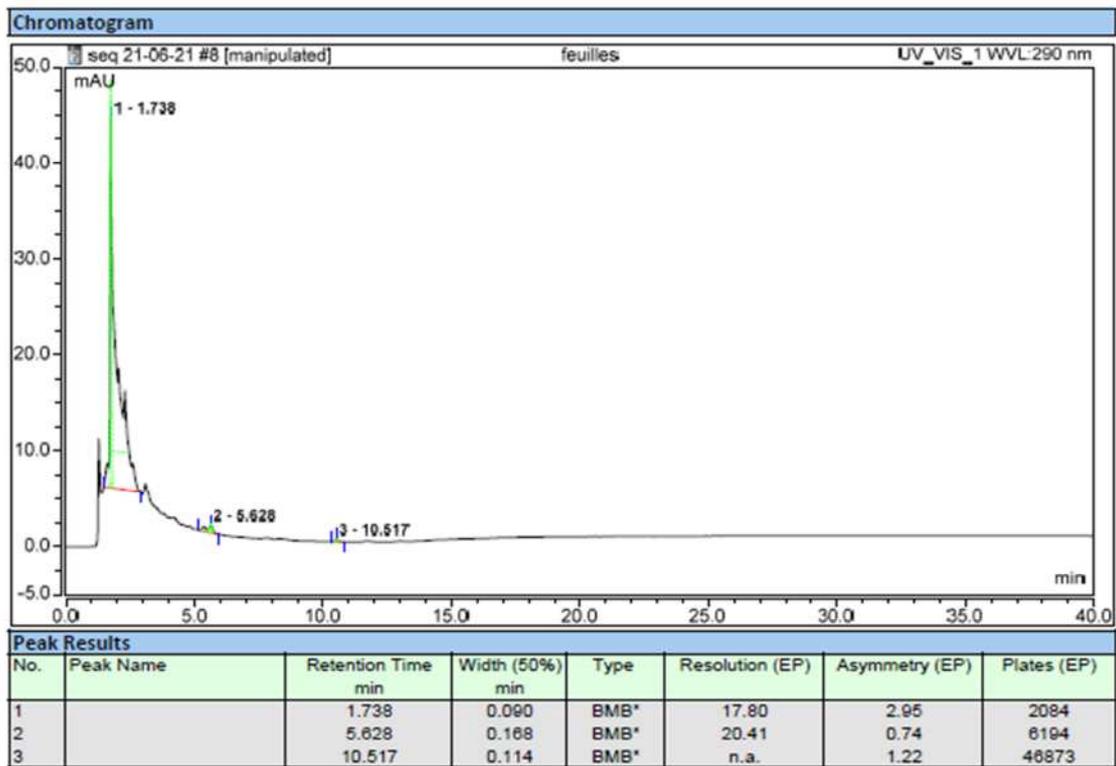


Figure III.11 : profil chromatographique de l'extrait aqueux des feuilles du coquelicot.

Annexe III



Figure III .1 : Plaque CCM de l'extrait aqueux des pétales.

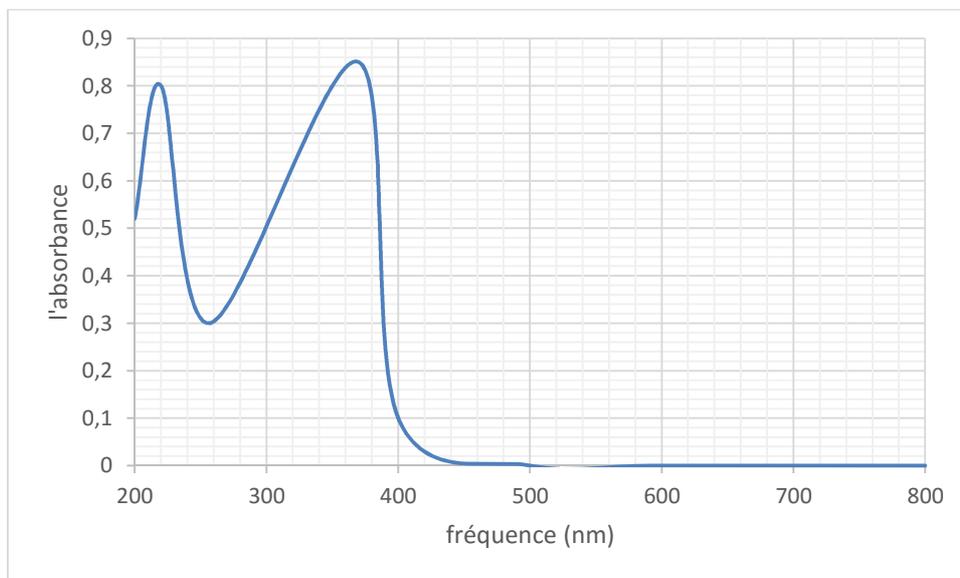


Figure III.2: Fraction 1

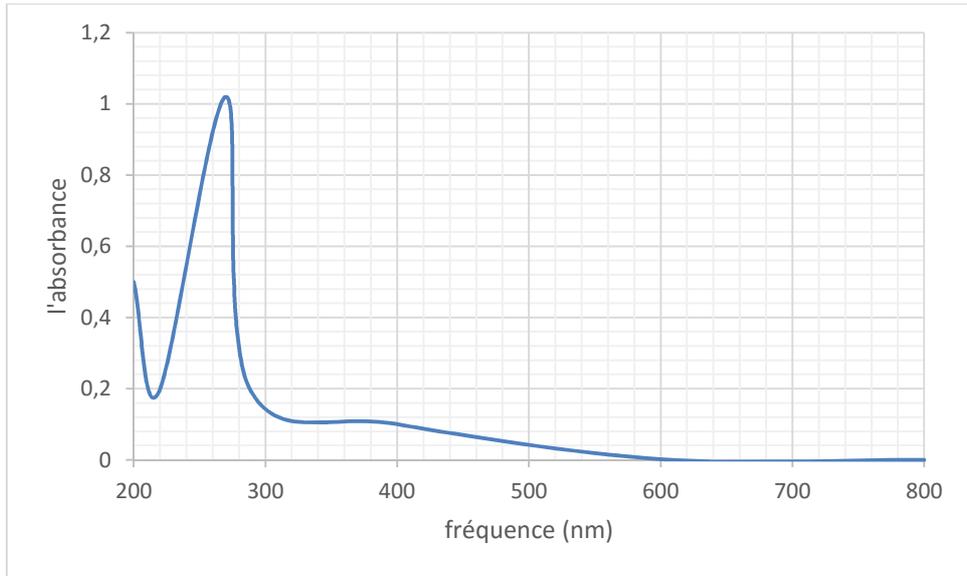


Figure III.3: Fraction 2

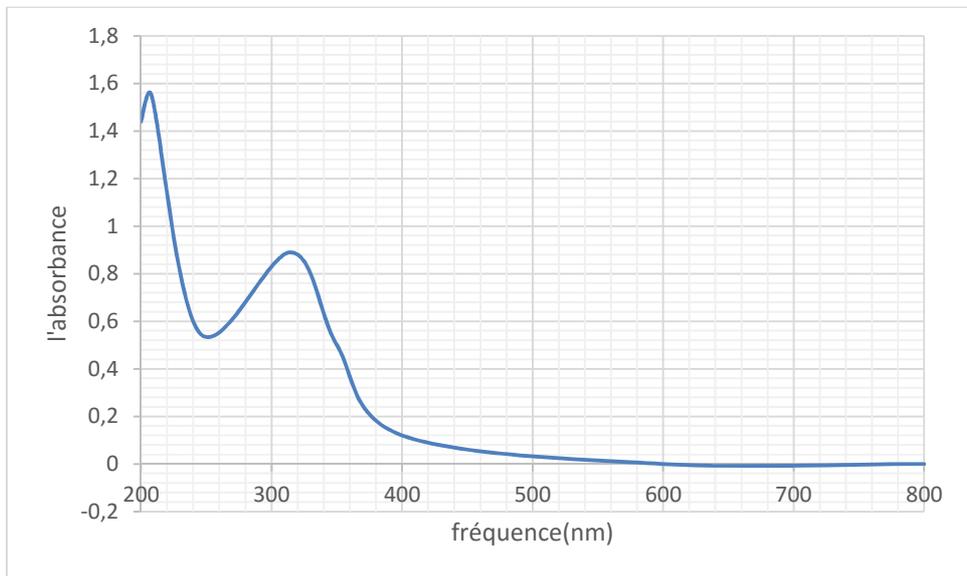


Figure III.4: Fraction 3.

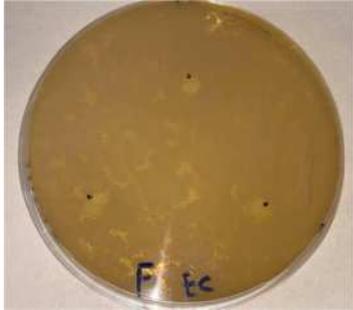
<i>Partie de la plante</i>	<i>staphylococcus aureus.</i>	<i>Escherichia coli</i>
Pétale		
feuille		

Tableau III.1 : différente zone d'inhibition de la plante sur les deux souches bactériennes.

Résumé

Dans la médecine populaire, l'extrait de *Papaver Rhoeas* L est beaucoup utilisé pour le traitement d'un large éventail d'inflammations internes et externes, il est utilisé sous forme de tisane, d'infusion, de sirop, ou teinture. L'objectif de notre étude est l'extraction par deux différentes méthodes et avec des solvants de polarité différente des métabolites secondaires que renferment les parties aériennes de *Papaver Rhoeas* L ainsi que l'évaluation de leurs activités antioxydantes et antibactériennes. Les identifications qualitatives et les estimations quantitatives par les différentes méthodes photochimiques, spectrophotométriques et chromatographiques ont confirmées la présence et le dosage de métabolites biologiquement actifs tel que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins et dont la concentration varie selon la nature de l'organe (feuilles et pétales). Les tests antibactériens ont confirmés l'efficacité antibactérienne des extraits de *Papaver Rhoeas* L contre le staphylocoque et l'*Escherichia coli*, et l'activité antioxydante des extraits de pétales et de feuilles ont été aussi largement démontrée. Un sirop a effet antioxydant, antibactérien et sédatif à base d'extrait de pétales de *Papaver Rhoeas* L a été confectionné le "oxsedabacoq".

Abstract

In folk medicine, *Papaver Rhoeas* L extract is widely used for the treatment of a wide range of internal and external inflammation, it is used as herbal tea, herbal tea, syrup, or tincture. The objective of our study is the extraction by two different methods and with solvents of different polarity secondary metabolites contained in the aerial parts of *Papaver Rhoeas* L as well as the evaluation of their antioxidant and antibacterial activities. Qualitative identifications and estimates quantitative by the various photochemical, spectrophotometric and chromatography confirmed the presence and dosage of metabolites biologically active ingredients such as polyphenols, flavonoids and tannins and whose concentration varies according to the nature of the organ (leaves and petals). Antibacterial tests confirmed the effectiveness antibacterial extracts of *Papaver Rhoeas* L against staphylococcus and *Escherichia coli*, and the antioxidant activity of petal and leaf extracts have also been largely demonstrated. A syrup with antioxidant, antibacterial and sedative effect based on extract of petals of

Papaver Rhoeas L was made the "oxsedabacoq".

المخلص

في الطب الشعبي، يستخدم مستخلص *Papaver Rhoeas L* على نطاق واسع في علاج مجموعة واسعة من الالتهابات الداخلية والخارجية، يتم استخدامه على شكل شاي أعشاب، شاي أعشاب، شراب، أو صبغة. الهدف من دراستنا هو الاستخراج بمقدار اثنين طرق مختلفة ومع المذيبات ذات الأيضات الثانوية ذات القطبية المختلفة الواردة في الأجزاء الهوائية من *Papaver Rhoeas L* وكذلك تقييمها الأنشطة المضادة للأكسدة والبكتيريا. التعريفات والتقديرية النوعية الكمي من خلال مختلف الكيمياء الضوئية والطيفية و أكد اللوني وجود وجرعة المستقبلات بيولوجيا المكونات النشطة مثل البوليفينول والفلافونويد والعفص والتي يختلف تركيزها باختلاف طبيعة العضو (الأوراق والبتلات). أكدت الاختبارات المضادة للبكتيريا الفعالية المستخلصات المضادة للبكتيريا من *Papaver Rhoeas L* ضد المكورات العنقودية والإشريكية القولونية ، كما أن النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات الأوراق والأوراق كان أيضًا إلى حد كبير مبرهن. شراب ذو تأثير مضاد للأكسدة ومضاد للبكتيريا ومهدئ يعتمد على خلاصة بتلات.

تم صنع *Papaver Rhoeas L* في "oxsedabacoq".