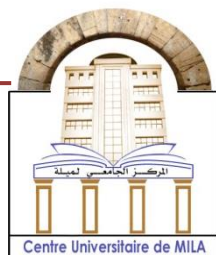


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Etude phytochimique et activité biologique des extraits de
Papaver rhoeas L.**

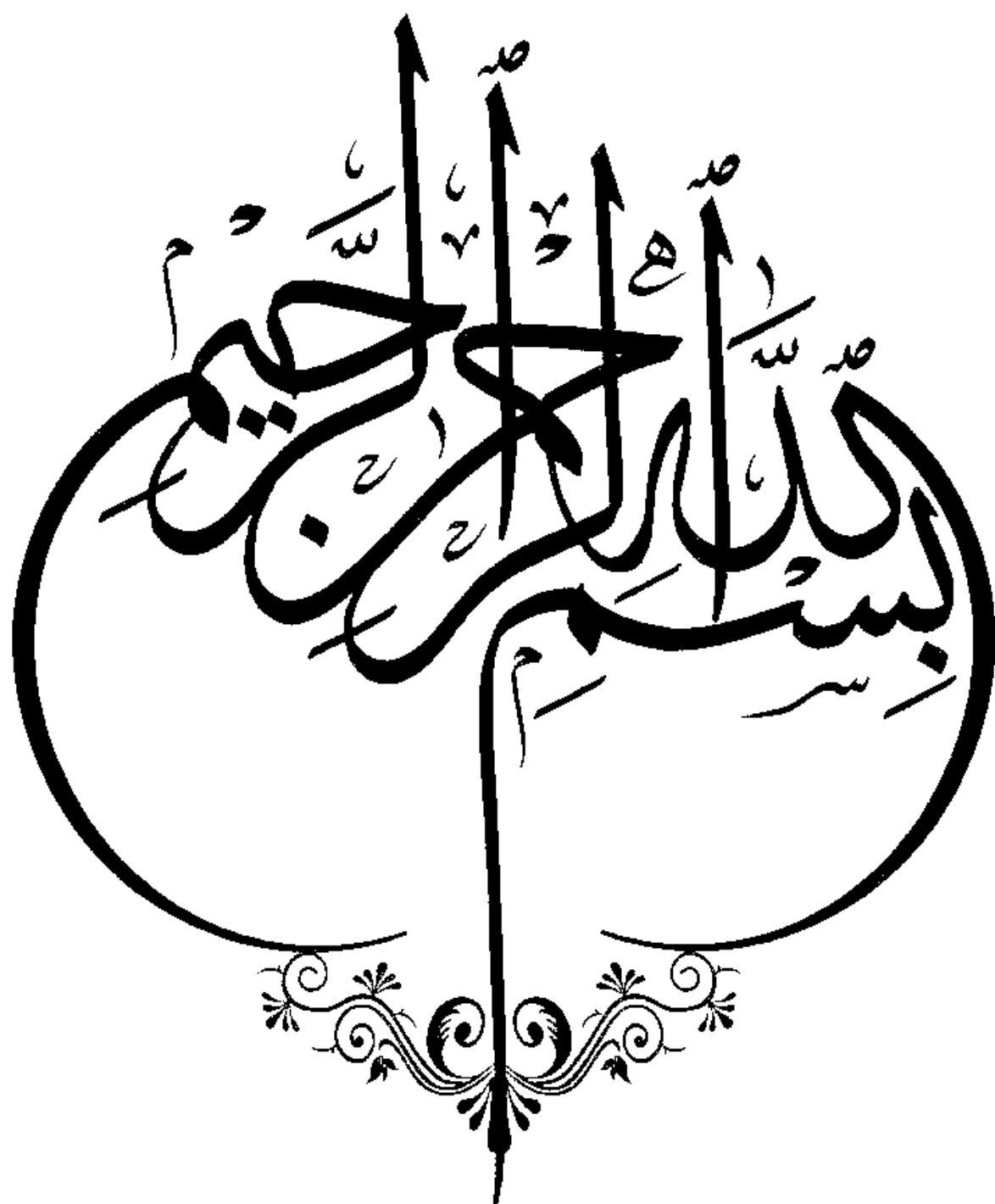
Présenté par :

- MERIKHI Feryal
- BELDI Amani

Devant le jury :

Boukazoula Fatima	(MCA) Centre universitaire de Mila	Présidente
Laghouati Ouafa	(MCB) Centre universitaire de Mila	Examinatrice
Bougueria Hassiba	(MCA) Centre universitaire de Mila	Promotrice

Année Universitaire : 2023 / 2024



Remerciement

Louange à Dieu, Seigneur des mondes, béni et exalté soit-il, à Lui seul revient la perfection. Que la prière et la paix soient sur notre Seigneur Mohammed, son Prophète et Messenger fidèle, ainsi que sur tous les autres prophètes et messagers. Je remercie Dieu Tout-Puissant pour nous avoir accordé la volonté, la santé et la patience tout au long de ces longues années d'étude, et pour m'avoir béni en me permettant de terminer cette recherche. Nous le remercions en nous inclinant, Lui qui nous a donné patience, persévérance, défi et amour pour faire de ce projet une connaissance utile.

"قال رسول الله -صلى الله عليه وسلم: " من لم يشكر الناس لن يشكر الله "

*À notre superviseure, **Dr. Bougueria Hassiba** : Nous vous adressons les plus belles expressions de gratitude et de reconnaissance avec des cœurs débordant d'amour, de respect et d'estime. Nous vous envoyons nos salutations les plus sincères et nos plus beaux remerciements avec toute notre affection et notre loyauté. Nous vous remercions pour tout ce que vous avez fait et pour les conseils que vous nous avez donnés lors de la supervision de cette recherche, et avant tout, pour la confiance que vous avez placée en nous. Pour cela, nous vous exprimons toute notre gratitude et notre reconnaissance.*

Nous remercions les membres du jury

*Mme. **Boukezoula Fatima** pour le grand honneur de présider le jury.*

*Mme. **Laghouati Ouafa**. d'avoir bien voulu d'examiner ce travail.*

Nous adressons nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à tous mes éminents professeurs, professeurs de l'Institut des Sciences Naturelles et de la Vie, qui m'ont enrichi, ne serait-ce que par un mot, dans la préparation de ce mémoire et qui ont contribué à ma formation tout au long de ces cinq années, en particulier le professeur superviseur.

Nous tenons à remercier les techniciens de laboratoire 08 du Centre Universitaire de Mila pour leur aide et le temps qu'ils nous ont accordé.

Nous souhaitons également exprimer notre sincère gratitude à tous les membres de notre famille et à nos amis pour leur amour et leur soutien.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué de quelque manière que ce soit à la réalisation de ce travail, de près ou de loin, ne serait-ce que par un mot ou une prière.



Décédas

A l'aide de DIEU tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

*♥ A mes Parents **Adb Alaziz** et **Nadia** ♥*

Qui au long de mon existence m'ont couvert d'amour et

D'affection et pour tous leurs sacrifices et efforts à faire

À moi ce que je suis. Qui a toujours m'encouragé durant mes études,

*♥ A mes Frères **Mahdi**, **Sifou**, **Mouemen** pour leur amour et leur soutien tout le long de mes études.*

♥ A toute ma famille

*♥ A ma chère amie **Nour Elhouda***

*♥ A mon binôme **Feryal***

♥ A tous mes enseignants du primaire, du secondaire et du supérieur



Amani



Dédicaces

"Louange à Allah qui nous a facilité les débuts, nous a permis d'atteindre les fins avec Sa générosité et Sa (وَأَخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنْ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ) و

Je dédie ma graduation, le fruit de mes efforts et ma joie tant attendue toute ma vie, aux mains pures qui ont enlevé de mon chemin les épines de l'échec, à ceux qui m'ont soutenue avec tout leur amour dans mes moments de faiblesse, à ceux qui m'ont tracé un avenir avec des lignes de confiance.

♥ À ma famille

♥ À celui qui a embelli mon nom avec les plus beaux titres, qui m'a soutenue sans limite et m'a donné sans contrepartie, mon premier soutien, **mon père** bien-aimé et le chéri de mon cœur, que Dieu ait son âme. Il a toujours rêvé de me voir diplômée et mon cœur porte sa prière, mes sentiments son manque et sa tristesse. Me voici partageant ma joie avec vous, j'espère que mes sentiments vous guériront et que vous serez fiers de ceux qui portent votre nom et prouvez que vous êtes le meilleur éducateur, le meilleur enseignant, le meilleur père et la meilleure perte.

♥ À celle pour qui le paradis est sous ses pieds et qui a facilité mes difficultés par ses prières, à la grande femme qui a toujours souhaité voir ce jour arriver, **ma chère mère**, « Dekkiche Naima », que Dieu la protège et lui accorde une longue vie.

♥ Aux bougies du dragon qui éclairent le chemin vers **mes chers frères et sœurs**, Inas, Aya, Rawan, Saber

♥ À ceux qui m'ont soutenue de loin, les membres de la famille.

♥ À **mes amies** de circonstance plutôt que d'années : Khadija, Naila, Nour elhouda, Manal, Nada, Wissam

♥ A mon binôme : Amani



Feryal

Résumé

Afin de contribuer à la promotion des plantes médicinales reconnues pour leurs propriétés thérapeutiques, nous avons sélectionné le *Papaver rhoeas* L., couramment utilisé en médecine traditionnelle pour diverses maladies. Notre étude se concentre sur l'analyse phytochimique, la quantification des polyphénols totaux, ainsi que l'évaluation des activités antioxydantes et antibactériennes. Les tests phytochimiques effectués dans cette étude ont mis en évidence la présence de diverses familles de métabolites secondaires, avec des concentrations variables selon la plante analysée. Après trempage dans le méthanol et l'éthanol, suivi d'une évaporation, un rendement d'extraction de 19 % a été obtenu pour l'extrait éthanolique et de 7 % pour l'extrait méthanolique. Le teneur totale de polyphénols dans l'extrait méthanolique obtenu par trempage, mesurée par des méthodes colorimétriques utilisant le réactif de Ciocalteu-Folin, était de $7,98 \pm 0,052$ mg EAG/g. L'efficacité antioxydante a été testée à l'aide de DPPH en utilisant l'acide ascorbique comme étalon. IC_{50} a été estimée à 0,07291 mg/ml pour notre plante. Enfin, l'efficacité antibactérienne de l'extrait méthanolique à différentes concentrations par la méthode de diffusion de disque sur milieu agar, a été testée sur quatre souches *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait méthanolique de *Papaver rhoeas* L. ne possède pas d'activité antibactérienne.

Mots clés : *Papaver rhoeas* L., screening phytochimique, polyphénols totaux, activité antioxydant, DPPH, activité antibactérienne.

ملخص

من أجل المساهمة في الترويج للنباتات الطبية المعروفة بخصائصها العلاجية، قمنا باختيار نبات الخشخاش الشائع (*Papaver rhoeas* L.) ، الذي يُستخدم عادة في الطب التقليدي لعلاج مختلف الأمراض. تركز دراستنا على التحليل النباتي الكيميائي، وقياس كمية الفينولات الكلية، بالإضافة إلى تقييم الأنشطة المضادة للأوكسدة والمضادة للبكتيريا. أظهرت الاختبارات النباتية الكيميائية التي أجريت في هذه الدراسة وجود عدة عائلات من المستقلبات الثانوية بتركيزات مختلفة حسب النبات المُحلل. بعد النقع في الميثانول والإيثانول، يليه التبخير، تم الحصول على نسبة استخلاص تبلغ 19% للمستخلص الإيثانولي و7% للمستخلص الميثانولي. بلغت نسبة الفينولات الكلية في المستخلص الميثانولي الناتج عن النقع، والتي قيسَت بواسطة طرق لونية باستخدام كاشف فولين سيكالتو، 7.98 ± 0.052 مجم حمض الجاليك/جم. تم اختبار الفعالية المضادة للأوكسدة باستخدام DPPH ، مع استخدام حمض الأسكوربيك كمقياس. وُجد أن تركيز IC_{50} يقدر بـ 0.07291 مجم/مل لنباتنا. أخيراً، تم اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص الميثانولي بتركيزات مختلفة باستخدام طريقة انتشار القرص على وسط الأجار، على أربع سلالات: *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Bacillus cereus*، *Staphylococcus aureus* أظهرت النتائج أن المستخلص الميثانولي لنبات الخشخاش الشائع *Papaver rhoeas* L. لا يمتلك نشاطاً مضاداً للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: الخشخاش الشائع، التحليل النباتي الكيميائي، الفينولات الكلية، النشاط المضاد للأوكسدة، DPPH، النشاط المضاد للبكتيريا.

Abstract

To contribute to the promotion of medicinal plants known for their therapeutic properties, we selected *Papaver rhoeas* L., commonly used in traditional medicine for various ailments. Our study focuses on phytochemical analysis, quantification of total polyphenols, as well as the evaluation of antioxidant and antibacterial activities. Phytochemical tests conducted in this study highlighted the presence of various families of secondary metabolites, with varying concentrations depending on the plant analyzed. After soaking in methanol and ethanol, followed by evaporation, an extraction yield of 19% was obtained for the ethanolic extract and 7% for the methanolic extract. The total polyphenol content in the methanolic extract obtained by soaking, measured by colorimetric methods using the Folin-Ciocalteu reagent, was 7.98 ± 0.052 mg GAE/g. Antioxidant efficacy was tested using DPPH, with ascorbic acid as a standard. IC_{50} was estimated at 0.07291 mg/ml for our plant. Finally, the antibacterial efficacy of the methanolic extract at different concentrations, tested by the disk diffusion method on agar medium, was assessed on four strains: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*. The results showed that the methanolic extract of *Papaver rhoeas* L. does not possess antibacterial activity.

Keywords: *Papaver rhoeas* L., phytochemical screening, total polyphenols, antioxidant activity, DPPH, antibacterial activity.

Liste des abréviations

A.A% : Activité anti radical

Abs : Absorbance

AAO : Activité antioxydant

ASC : Acide ascorbique

C : Concentration

CHCl₃ : Chloroforme

CuSO₄ : sulfate de cuivre

CaCl₂ : Calcium Chloride

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EAG/g.MS : Equivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche

E. Coli : *Escherichia coli*

H₂O₂ : Peroxydes d'hydrogène

H₂SO₄ : Acide sulfurique

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

KOH : Hydroxyde de potassium

Me : Masse de l'extrait après évaporation du solvant

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction

MH : Mueller Hinton

NaCl : Chlorure de sodium

NH₄OH : Ammoniaque

NaOH : Hydroxyde de sodium

OMS : Organisation mondiale de la Santé

P. a : *Pseudomonas aeruginosa*.

Pseudo : *Pseudomonas aeruginosa*

S.a : *Staphylococcus aureus*

PPT: Polyphenols totaux

P. Rhoeas L.: *Papaver rhoeas* L.

ROS: Reactive Oxygen Species

V/V : Rapport volume par volume

Liste des figures

Figure 1 : Coquelicots en fleurs dans le champ du Boufouh (Mila).	6
Figure 2: Aspect des différentes parties de la plante <i>Papaver rhoeas</i> L.....	7
Figure 3: <i>Papaver rhoeas</i> L.	9
Figure 4 : Alcaloïdes sélectionnés pour illustrer la structure chimique des différents types d'alcaloïdes présents dans le genre <i>Papaver</i>	11
Figure 5: Structures des composés phénoliques et principaux composés volatils identifiés dans les plantes de <i>Papaver</i>	11
Figure 6: Applications alimentaires de <i>Papaver rhoeas</i> L.....	14
Figure 7: Scènes animées avec des jouets d'enfants démodés	15
Figure 8: Structure chimique des polyphénols.....	20
Figure 9: Structure chimique des acides phénoliques	20
Figure 10: Structure des coumarines	21
Figure 11: Structure de base des flavonoïdes.....	23
Figure 12: Classe des flavonoïdes.....	24
Figure 13: Structure générale de tanins hydrolysables.	25
Figure 14: Structures des tanins condensés.....	25
Figure 15: Structure chimiques des quelques tanins hydrolysables.....	25
Figure 16: Structure des principaux anthocyanes	26
Figure 17: Structure de base des terpénoïdes	27
Figure 18: Structure chimique des stérols	28
Figure 19: Structure d'une molécule de quinone	28
Figure 20: Réaction d'élimination des radicaux libres.	31
Figure 21: Sites d'action des nutriments antioxydants (en rouge) et des enzymes antioxydantes (en noir)	33
Figure 22: Les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.....	34
Figure 23: Fréquence d'utilisation des méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	35
Figure 24: Déséquilibre entre les antioxydants et les radicaux libre	36
Figure 25: Stress oxydant.....	37
Figure 26: Principales circonstances pathologiques s'accompagnant d'un stress oxydant primitif ou secondaire.....	37
Figure 27: La formule des radicaux libre.	39
Figure 28: Neutralisation d'une radicale libre par un antioxydant.....	39

Figure 29: Différents Sources des ERO	40
Figure 30: Exemple de morphologies bactériennes.	42
Figure 31: Structure d'une cellule bactérienne	42
Figure 32: Différents modes d'action des antibiotiques	43
Figure 33: Le <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sous le microscope électronique.....	45
Figure 34: <i>Escherichia Coli</i> sous microscope électronique	46
Figure 35: Image MEB de <i>Staphylococcus aureus</i>	46
Figure 36: Les cellules de <i>B. cereus</i> obtenus par microscopie électronique à balayage.....	47
Figure 37: Le coquelicot (<i>Papaver rhoeas</i> L.).....	48
Figure 38: Localisation géographique du lieu de la récolte	49
Figure 39: Les fleurs de <i>Papaver rhoeas</i> L. avant et après séchage.	50
Figure 40: Différentes étapes de préparation de l'extrait éthanolique de <i>Papaver rhoeas</i> L..	51
Figure 41: Différentes étapes de préparation de l'extrait méthanolique de <i>Papaver rhoeas</i> L.	52
Figure 42: Différentes étapes de préparation de l'extrait aqueuse de <i>Papaver rhoeas</i> L.	53
Figure 43: Les étapes de préparation d'extrait Chloroformique	54
Figure 44: La mesure de la dilution de solution mère par spectrophotométrie.....	59
Figure 45: Dilution de la solution mère de l'acide gallique.....	59
Figure 46: Structure chimique du radical libre DPPH (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle).	60
Figure 47: Equation du radical DPPH transformé en DPPH	61
Figure 48: Préparation de la solution DPPH	61
Figure 49: Dilution de la solution mère de l'extrait.	62
Figure 50: La mesure de la dilution de solution mère par spectrophotométrie.....	62
Figure 51: Dilution de la solution mère de l'acide ascorbique.	63
Figure 52: La mesure de la dilution d'acide ascorbique par spectrophotométrie.	64
Figure 53: Différentes étapes de préparation de milieu MH (Mueller Hinton).	66
Figure 54: Différentes étapes de préparation de l'eau physiologie.....	67
Figure 55: Préparation des disques	67
Figure 56: L'ensemencement et L'incubation des souches bactériennes dans la gélose nutritive	68
Figure 57: Les suspensions préparées	68
Figure 58: Différentes concentrations des extraits méthanolique et éthanolique.....	69
Figure 59: Différentes étapes d'activité antibactérienne	70
Figure 60: Détermination de la zone d'inhibition par la méthode de diffusion des disques...	71

Figure 61: Rendement de l'extrait brut.	77
Figure 62: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	78
Figure 63: Pourcentage d'inhibition de la plante selon la concentration.	81

Liste des tableaux

Tableau 1 : Espèce répertoriée systématiquement par Franz Eugen Köhler en 1887	8
Tableau 2: Les différents groupes de composés phénoliques.....	19
Tableau 3: Structure des alcaloïdes.....	22
Tableau 4: principaux groupes d'antioxydants et sources alimentaires associées.....	33
Tableau 5: Espèces réactives de l'oxygène.....	38
Tableau 6: Évaluation de l'effet antibactérien selon le diamètre d'inhibition.....	71
Tableau 7: Les résultats de l'étude phytochimique des métabolites primaires.....	73
Tableau 8: Les résultats de l'étude phytochimique des métabolites secondaires.	73
Tableau 9: Rendement en extraits bruts.....	77
Tableau 10: Teneur en polyphénols totaux.....	78
Tableau 11: Effet extrait méthanolique sur l'IC ₅₀	81

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
ملخص	
Abstract	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1

Partie 1 : Etude bibliographique

I : Présentation sur les espèces étudiées

I.1	Historique.....	4
I.2	Aspect botanique de <i>Papaver rhoeas</i> L.	5
I.2.1	Description de famille Papaveraceae	5
I.2.2	Description de <i>Papaver rhoeas</i> L.	6
I.3	Aspect Biologique de <i>Papaver rhoeas</i> L.	8
I.4	Classification Botanique	8
I.5	Taxonomie.....	9
I.6	Les compositions chimiques	9
I.7	Origine de <i>Papaver rhoeas</i> L.....	11
I.8	Utilisations de <i>Papaver rhoeas</i> L.....	12
II	Métabolisme des plantes médicinales	16
II.1	Introduction	16
II.2	Métabolites primaire	17
II.2.1	Les acides aminés.....	17
II.2.2	Lipides.....	17
II.2.3	Glucide	18
II.3	Métabolites secondaire.....	18

II.3.1	Les composés phénoliques	19
III	Activité biologique.....	30
III.1	Activité antioxydant	30
III.1.1	Les antioxydants.....	30
III.1.2	Type des antioxydants	31
III.1.3	La localisation des antioxydants	32
III.1.4	Systèmes des défenses antioxydants	34
III.1.5	Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant (in vitro).....	35
III.1.6	Stress oxydatif	36
III.1.7	Espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	38
III.1.8	Les radicaux libres	38
III.2	Activité antibactérienne	40
III.2.1	Les principales substances antibactérienne	40
III.2.2	Les bactéries étudiées et leurs rôle pathologiques	44

Partie 2 : Etude expérimentale

I	Matériel et méthode.....	48
I.1	Matériel végétale	48
I.2	Matériels de laboratoires	49
I.3	Préparation du matériel végétal.....	50
I.4	Extraction des molécules chimique (Macération).....	50
II	Analyse qualitative (screening phytochimique).....	54
II.1	Caractéristiques des éléments nutritifs (métabolite primaire).....	55
II.2	Caractéristiques des métabolites secondaires.....	55
II.2.1	Identification des groupes chimiques à partir de l'extrait éthanolique	55
II.2.2	Identification des groupes chimique à partir de l'extrait aqueux	56
II.2.3	Identification des groupes chimique à partir de l'extrait Méthanolique	57
II.2.4	Rendement de l'extrait brut.....	57

III	Analyse quantitative.....	58
III.1	Détermination des polyphénols totaux (PPT) par colorimétrie (méthode de Folin-Ciocalteu).....	58
IV	Activités biologiques.....	60
IV.1	Etude de l'activité antioxydante.....	60
IV.1.1	Étude de l'Activité anti –radicalaire (DPPH).....	60
IV.2	Activité antibactérienne	64
V	Résultats et discussion	72
V.1	Analyse qualitative (screening phytochimique).....	72
VI	Analyse quantitative.....	76
VI.1	Rendement des extraits bruts	76
VI.2	Dosage des polyphénols totaux.....	78
VI.3	Activité antioxydant.....	80
VI.4	Activité antibactérienne	82
	Conclusion	86
	Référence bibliographie	
	Annexes	

Introduction

Depuis toujours, l'humanité a pu compter sur la nature pour répondre à ses besoins fondamentaux en alimentation, logement, habillement et médecine. Bien que le XXe siècle ait été largement consacré au développement de molécules synthétiques, l'exploration des sources naturelles pour trouver de nouveaux agents pharmacologiquement actifs a permis de découvrir de nombreux médicaments utiles, devenant essentiels dans le traitement de diverses maladies humaines (**Gurib, 2006**).

Les hommes et les plantes ont cohabité pendant des millénaires, et l'homme a appris à consommer différentes plantes, les appréciant pour leurs propriétés gastronomiques, nutritionnelles et médicinales. Cela signifie que le corps humain est souvent mieux adapté à la thérapie par les plantes qu'aux traitements chimiques. Ainsi, des traditions et rituels utilisant les plantes se sont développés sur chaque continent, se transmettant et s'enrichissant de génération en génération. Une plante est qualifiée de médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et utilisée exclusivement à des fins médicinales, en raison de ses propriétés préventives ou thérapeutiques vis-à-vis des maladies humaines ou animales. Les plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle possèdent des propriétés curatives attribuées à leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou à la synergie entre différents composants de la plante (**Moreau, 2003**).

Ces plantes médicinales constituent un précieux héritage pour l'humanité, étant de véritables usines chimiques naturelles produisant des substances biochimiques actives telles que des alcaloïdes, des huiles essentielles, des flavonoïdes et des tanins, qui répondent aux besoins sanitaires et vitaux de l'homme. Aujourd'hui, une majorité de la population mondiale, particulièrement dans les pays en développement, se soigne encore avec des remèdes traditionnels à base des plantes (**Ouis et Bakhtaoui, 2017**).

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est étroitement liée au développement des civilisations. On estime qu'environ 50 % des agents thérapeutiques actuellement utilisés proviennent de sources naturelles, bien que moins de 10 % des espèces végétales aient été étudiées pour leurs activités biologiques (**Linden, 1981**).

L'humanité a toujours cherché à mieux connaître les plantes, découvrant peu à peu leurs secrets et leurs propriétés bénéfiques et thérapeutiques. L'exploration de nouveaux mondes a également conduit à la découverte de nombreuses plantes inconnues auparavant. Depuis la fin du VIIIe siècle jusqu'à aujourd'hui, les avancées scientifiques et la révolution industrielle ont

permis d'expliquer les effets médicinaux des plantes et d'en extraire les principes actifs. Les progrès scientifiques actuels ouvrent de nouvelles perspectives pour la phytothérapie grâce à des méthodes de pointe permettant de comprendre les principes actifs des plantes, de découvrir de nouvelles propriétés et de créer des produits mieux adaptés aux besoins de la vie moderne (Sofowora, 1996).

L'utilisation de la phytomédecine est profondément ancrée dans notre culture, l'Algérie étant réputée pour la richesse de sa flore médicinale, qui comprend des centaines d'espèces végétales. C'est aussi un savoir-faire que nos ancêtres ont longuement expérimenté. Toutes les cultures et civilisations, de l'antiquité à nos jours, ont eu recours à la phytothérapie en raison de son efficacité, de son accessibilité, de sa disponibilité, de sa faible toxicité et de son acceptabilité (Akharaiyi et Boboye, 2010).

La plante choisie dans notre travail est *Papaver rhoeas* L. En médecine traditionnelle, elle est une place importante en raison de son indication thérapeutique.

Papaver rhoeas L. sont des herbes annuelles et pérennes, respectivement, et appartiennent à la Papaveraceae (Louis, 2008). L'origine exacte de la plante est encore inconnue, mais certains auteurs pensent qu'elle est originaire d'Europe, d'Afrique du Nord et d'Asie occidentale, et qu'elle est donc probablement originaire du bassin méditerranéen oriental (kadereit, 1990).

Cette espèce est utilisée comme plante ornementale en raison de ses belles et éblouissantes fleurs en forme de coupe de différentes couleurs, bicolores et semi-doubles (Louis, 2008) (Hosokawa et al., 2004) (Osalou et al., 2013). Des études chimiques ont montré que cette espèce contient divers alcaloïdes, dont l'oripavine et la thébaine (Sarin, 2003) (Shafiee et al., 1977). En outre, cette espèce est utilisée comme remède contre la toux, les ulcères d'estomac et les troubles mineurs du sommeil (Soulamani et al., 2001) (Gürbüz et al., 2003). Elle est également utilisée pour traiter les inflammations, les diarrhées, les troubles du sommeil, le soulagement de la douleur et pour réduire les signes de sevrage des opioïdes. La toxicomanie (Zargari, 1994) ce qui en fait une importante plante médicinale. En outre, les graines et les pétales rouges de *P. rhoeas* peuvent être utilisés comme aliments, les tiges sont couramment utilisées dans les salades et les pétales rouges pour produire du sirop de pavot (Ekici, 2014). Cependant, il a été démontré que *P. Rhoeas* provoque des intoxications dans de nombreux cas, notamment des crises du système nerveux central et une toxicité hépatique aiguë (Gonullu et al., 2014) (Günaydin et al., 2015). Des études chimiques ont établi la présence de rhoiadine (Kalav et Sariyar, 1989 ; Slavík et al., 1989), d'acide papavérique (Zargari, 1994),

de rhyogénine (**Rey et al., 1992**) et d'anthocyanes (**Matysik et Benesz, 1991**) comme principaux composés de l'extrait de papaver.

L'étude présentée ici, porte sur une étude phytochimique permettant d'identifier certains groupes chimiques bioactifs contenus.

Ce travail se compose de deux parties principales. Dans la première, nous proposons une synthèse bibliographique répartie en trois chapitres.

- Chapitre 1 : Une revue bibliographie générale sur la plante (*Papaver rhoeas* L.)
- Chapitre 2 : Métabolisme des plantes médicinales
- Chapitre 3 : L'étude de l'activité biologique (l'activité antioxydant et l'activité antibactérien)

La seconde partie est la partie expérimentale, Cette partie regroupe deux chapitres :

Chapitre I présente :

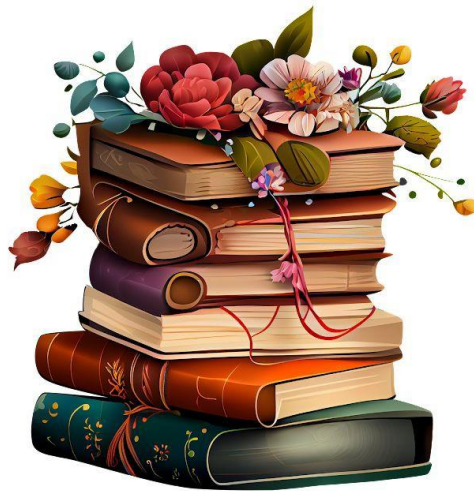
- Le matériel et les différentes méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail.
- Le screening phytochimique.
- L'étude de l'activité antioxydant et antibactérienne des extraits éthanolique et méthanolique de *Papaver rhoeas* L.

Chapitre II : est consacré à la présentation et la discussion des différents résultats expérimentaux obtenus au cours de ce travail.

Enfin, on a terminé par une conclusion générale sur les études réalisées et perspectives. Suivie des références bibliographiques trouvées à la fin du manuscrit.

Partie I

Etude bibliographique





Chapitre I

Présentation de l'espèce étudiée



I.1 Historique

Le pavot, connu sous le nom scientifique *Papaver rhoeas* L. incarne depuis des millénaires la beauté rustique et la tradition. L'artiste John Ruskin (1819-1900) le décrivait comme la fleur des champs la plus pure et la plus délicate **(Haughton, 1978)**. Parmi ses diverses appellations figurent le pavot des champs, la rose de maïs, le pavot des Flandres, le chancre, le champ rouge et le pavot rouge **(Bray, 1978 et Strange, 1977)**. La famille des Papavéracées, comprenant 26 genres et environ 200 espèces, est celle à laquelle appartient le pavot. *Papaver*, avec environ 100 espèces, constitue le genre le plus important au sein de cette famille **(Heywood, 1993)**.

En anglais écrit, l'orthographe du mot « poppy » a changé au fil des siècles. Il est apparu pour la première fois sous la forme de poppei en 700 après J.-C., puis popi et pappy. Le terme papaver date de 1516.

Enfin, en 1718, Matthew Prior (1664-1721), dans ses *Poems on Several Occasions*, parle du "pavot rougissant avec une teinte cramoisie". Le nom poppy apparaît pour la première fois en 1865 dans l'ouvrage *Land and Sea* de Phillip Henry Gosse (1810-1888). Il écrit : « À l'exception du coquelicot, on dit que ce pimpernel est la seule fleur écarlate que nous ayons » **(Simpson et Weiner ,1989)**.

Le coquelicot a trouvé son chemin jusqu'aux États-Unis sans obstacles majeurs. Les premières graines ont été semées dans les colonies, mais de nombreuses femmes les ont également introduites dans leurs propres jardins. Ainsi, il a fleuri dans les jardins de la Nouvelle-Angleterre et dans les premiers jardins de Williamsburg, en Virginie **(Haughton, 1978)**.

Le pavot de maïs a été cultivé en Égypte dès 1500 av. J.-C., utilisé à des fins médicinales et comme condiment. En Grèce, il était prisé comme charme d'amour, mais Hippocrate, célèbre médecin grec, l'a également utilisé comme remède (460-377 av. J.-C.). Plus tard, grec Galien (129 à environ 199 après J.-C), médecin de la cour de Marc Aurèle, a noté que les graines de pavot étaient un bon assaisonnement pour divers plats. Les Romains les utilisaient également à des fins magiques et pour soigner la mélancolie des amoureux **(Haughton, 1978)**.

Les légions romaines ont propagé le pavot en Europe, apparaissant là où les champs de céréales étaient cultivés. Il s'est ensuite étendu vers le nord, ses petites graines étant

souvent mélangées aux semences de céréales, traversant la Rhénanie jusqu'à la Flandre, puis la Manche jusqu'en Angleterre (**Haughton, 1978**).

Depuis que les champs de Flandre sont utilisés pour la culture des céréales, les coquelicots y poussent naturellement. Après la Première Guerre mondiale, ces fleurs ont éclos sur les champs de bataille, illustrant la persistance des graines même après une longue dormance. Nombreux sont ceux qui, en voyant ces coquelicots émerger parmi les rangées de croix blanches, se sont remémorés le temps où ces fleurs étaient présentes. Certains se sont rappelés un mythe flamand selon lequel les coquelicots écarlates naissaient là où tombaient les martyrs de l'Inquisition espagnole. Quelle que soit leur origine, leur apparition semblait presque miraculeuse après quatre années de guerre ayant laissé les champs stériles, marqués par les tranchées et les cratères d'obus. Puis, soudain, les coquelicots ont éclos, ornant les tombes innombrables de fleurs pourpres, sans qu'aucune main humaine ne les ait semées. Ainsi, le coquelicot est devenu l'emblème du Memorial Day (**Bray, 1978 et Haughton, 1978**).

I.2 Aspect botanique de *Papaver rhoeas* L.

I.2.1 Description de famille Papaveraceae

Les herbes annuelles, bisannuelles ou vivaces, parfois arbustives ou ligneuses, présentent un latex ou un latex aqueux dans toutes les parties sauf les graines. Leurs feuilles sont généralement alternes, rarement opposées ou verticillées, avec des nervures pennées ou palmées et sont souvent diversement divisées, sans stipules. Les plantes peuvent être glabres ou avoir un indumentum unicellulaire, multicellulaire et terminalement unisériel ou multicellulaires-multisériel, glandulaires ou églandulaires. Les fleurs peuvent être solitaires ou en grappes, corymbes, panicules ou ombelles, avec des bourgeons floraux souvent nodulaires avant l'ouverture. Les fleurs, généralement bisexuées, peuvent être actinomorphes ou rarement périgynes, avec des sépales et des pétales généralement caducs. Les étamines sont généralement libres et nombreuses, parfois en un verticille de 4 à 6 ou en 2 verticilles de 6. Les ovaires peuvent être syncarpes, avec de 2 à 20 carpelles uniloculaires ou rarement pluriloculaires. Les fruits sont généralement des capsules sèches déhiscentes, parfois indéhiscentes ou se divisant en méricarpes indéhiscentes, contenant des graines avec ou sans arille. Cette famille comprend 23 genres et environ 240 espèces, principalement répartis dans l'hémisphère

nord de l'Ancien et du Nouveau Monde, avec quelques espèces en Amérique du Sud et en Afrique du Sud (**Kadereit, 1993**).

Les fleurs des Papavéracées peuvent être simples ou regroupées en racèmes, corymbes, panicules ou ombelles avec des quantités variables de fleurs. Sauf chez *Macleaya* et *Bocconia*, la première fleur à s'ouvrir est toujours la terminale. Chez *Bocconia*, les fleurs à l'intérieur de chaque inflorescence se développent de manière synchronisée. De plus, l'efflorescence peut être basipétale le long de toute l'inflorescence dans la plupart des Papaveroideae, Eschscholioideae et Platystemonoideae, ou basipétale et acropétale à différents endroits chez les Chelidonioideae (**Günther, 1975 a, b**). Les inflorescences peuvent être bractéiformes ou ébractéiformes sur toute leur longueur, ou parfois bractéiformes en bas et ébractéiformes en haut (**Kadereit, 1993**).

I.2.2 Description de *Papaver rhoeas* L.

Papaver rhoeas L. une plante synanthropique à croissance rapide, est aisément identifiable par ses fleurs rouges vives et ses poils blancs qui couvrent son corps, à l'exception des capsules. Elle se caractérise par sa taille modeste, généralement inférieure à 80 cm, émettant une forte odeur et un latex blanc en cas de blessure. Ses racines pivotantes sont ramifiées (**Tutin et al., 1993**), ses tiges poilues sont rigides et souvent ramifiées, et elle produit une sève laiteuse (**Heywood, 1993**).



Figure 1 : Coquelicots en fleurs dans le champ du Boufouh (Mila).

Les fleurs vont d'un rouge écarlate profond à un rouge vif, parfois avec une touche de pourpre orangé et une marge blanche. Elles peuvent aussi présenter une tache noirâtre-pourpre à la base des pétales (**Heywood, 1993**). Elles poussent solitaires à partir de feuilles axillaires portées par des pédoncules ramifiés. Avant l'éclosion, les boutons floraux sont elliptiques et pendants, mais une fois épanouis, ils se redressent et les deux

sépales inférieurs tombent, permettant aux pétales de s'étendre. La corolle, composée de quatre pétales, est plus large que longue, légèrement crénelée sur le bord, souvent avec un point noir-violet à la base de chacun (**Mitich, 2000 ; Bown, 2014 ; Mabberley, 2008**).

Le fruit, d'une couleur variant du beige au brun, est une capsule lisse et globuleuse mesurant de 1 à 2 cm de large et presque le double en longueur (**Allan, 1978 ; Chancellor, 1986 ; Bray, 1978 ; Holm et al., 1997**).

Les stigmates reposent sur un réceptacle cylindrique qui devient visible après la chute des pétales, ressemblant à un couvercle avec des trous autour permettant aux graines de s'échapper. Ces graines, petites et foncées, ressemblant à des reins, sont très abondantes, avec des milliers de graines produites en moyenne. Une fois au sol, elles peuvent rester dormantes pendant de nombreuses années (**Mitich, 2000 ; Bown, 2014 ; Mabberley, 2008**).

Les étamines abondent et sont presque noires, libérant un pollen jaune clair pour la pollinisation par les insectes, malgré l'absence de nectar. Le pistil unique de la plante a un ovaire supérieur, pas de style et plusieurs stigmates formant un "disque stigmatique" divisé en sections par des rayons distincts (**Mitich, 2000 ; Bown, 2014 ; Mabberley, 2008**).

Les feuilles peuvent varier considérablement en forme et en taille, mais elles ont généralement une pointe terminale plus grande et plus large. En fonction de leur position sur la plante, les feuilles peuvent avoir différentes caractéristiques : les feuilles basales ont un pétiole ailé et peuvent mesurer jusqu'à 15 cm de long et 6 cm de large, tandis que les feuilles caulinaires sont sessiles. Les feuilles basales forment une rosette de feuilles pinnatipartites avec 7-9 segments lancéolés ou elliptiques et des bords dentés ou dentelés, tandis que les feuilles apicales sont plus petites mais plus disséquées (**Tutin et al., 1993**).



Figure 2: Aspect des différentes parties de la plante *Papaver rhoeas* L.

I.3 Aspect Biologique de *Papaver rhoeas* L.

Le coquelicot affectionne les sols récemment perturbés, tels que les champs cultivés, en particulier ceux de céréales d'hiver, ainsi que ceux de printemps, bien que son habitat ait été en grande partie affecté par l'utilisation d'herbicides. On le trouve naturellement dans les zones où les traitements sont moins fréquents, comme aux abords des champs, le long des haies, les bords des chemins, les talus, ainsi que dans divers milieux ouverts déjà perturbés tels que les remblais, les bords de routes, les zones de construction en milieu agricole, et les terrains vagues. Il préfère les sols frais, riches en eau, allant de limoneux à argileux, contenant du calcaire et des éléments nutritifs. Le coquelicot, une plante archéophyte, a tendance à devenir envahissante et a colonisé l'Europe centrale après les périodes glaciaires, ce qui la classe parmi les plantes hémérochores.

Les graines, sensibles à la lumière, germent près de la surface du sol et ne peuvent germer à une profondeur de plus de 1 à 1,5 cm. La période de floraison s'étend principalement du printemps à l'été, d'avril à août dans l'hémisphère nord, bien qu'une seconde floraison puisse parfois survenir en automne, vers la fin septembre. La germination des graines est favorisée par tout mouvement de terre, comme le labour. Un seul pied peut produire jusqu'à 50 000 graines, qui conservent leur capacité de germination dans le sol pendant une période allant généralement de 5 à 8 ans, voire plus de 80 ans selon certains auteurs (Hanf, 1982).

I.4 Classification Botanique

Tableau 1 : Espèce répertoriée systématiquement par **Franz Eugen Köhler en 1887**.

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Magnoliidae
Ordre	Papaverales
Famille	Papaveraceae
Genre	Papaver
Espèce	<i>Papaver rhoeas</i> L., 1753



Figure 3: *Papaver rhoeas* L. (Zemanek et al., 2009)

I.5 Taxonomie

Noms vernaculaires des taxons de la BDTFX par **Jean-François LÉGER - 2007.**

- Nom : *Papaver rhoeas* L.
- 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 : الخشخاش، شقائق النعمان (El' khachkhach)
- En kabyle : Waħrir ou jihfuḍ
- Espagnol : Amapola Común, Ababol, Amapol, Amapola
- Italien : Papavero comune, Rosolaccio

Deux hypothèses plausibles existent quant à l'origine du nom du genre. Selon l'une, il pourrait dériver du sanskrit papavira ou papavara, signifiant « jus pernicieux », en référence au latex. L'autre hypothèse se base sur les mots latins paparium ou papo, respectivement signifiant « pap » et « manger du pap », issus du mot celte papa. Cela suggère que le pavot était peut-être autrefois mélangé à la bouillie des nourrissons pour favoriser leur sommeil. Quant au nom de l'espèce, il dérive du grec ῥέω (rheo), signifiant « couler » ou « souffler », en lien avec la facilité avec laquelle les pétales sont emportés par le vent, ou encore du grec ῥέω (rheo), signifiant « couler » ou « souffler », ou même de ῥοιά (rhoia), signifiant grenade, en raison de la couleur rouge écarlate clair de la fleur partagée par les deux espèces (Tutin et al., 1993).

I.6 Les compositions chimiques

Plusieurs recherches ont confirmé la présence des principaux composés de l'extrait de *P. rhoeas*, notamment la roïdine et l'acide roïdique (Kalav et Sariyar, 1989 ; Slavik

et *al.*, 1989), l'acide papavérique (Zargari, 1994) et la roiginine (Rey et *al.*, 1992). De plus, 55 alcaloïdes ont été identifiés dans les parties aériennes de *P. rhoeas*, parmi lesquels figurent la benzophénathridine, la protoporphyrine, la benzylsuccinoline et l'aporphyrine (Oh et *al.*, 2018). D'autres composés incluent la salutaridine (type bromorphine), la coltropine (type protoporphyrine) et des dérivés de la rhodine (épiglucamine, glutaridine et roiginine) (Çoban et *al.*, 2017).

La couleur rouge des pétales de pavot est due à la présence d'anthocyanes, dont le cyanidol est le composant principal (Schauenberg et Paris, 1974). Des études complémentaires ont permis de déterminer la présence de rutine, de vitexine, de malvidine, de coumarine et de lutéolinidine dans les extraits hydro-alcooliques (Soulimani et *al.*, 2001). Deux nouveaux dépsides, l'acide 2-O-(3,4 dihydroxybenzoyl)-2,4,6-trihydroxyphénylacétique et l'acide 2-O-(4-hydroxybenzoyl)-2,4,6-trihydroxyphénylacétique ainsi que l'acide phydroxybenzoïque et son ester méthylique, l'acide protocatéchique, le 2-(4-hydroxyphényl)-éthanol, le 2-(3,4-dihydroxyphényl)-éthanol ont été isolés par (Hillenbrand et *al.*, 2004) à partir de pétales de pavot. En outre, les flavonoïdes kaempférol, quercétine, hypolaétine et lutéoline, ainsi que les glycosides flavonoïdes isoquercitrine, astragaline et hyperoside ont également été isolés à partir de l'extrait végétal au méthanol (Hillenbrand et *al.*, 2004).

Les recherches en phytochimie révèlent que les feuilles de *Papaver rhoeas* L. renferment divers flavonols tels que la quercétine, le kaempférol, la myricétine et l'isorhamnétine, ainsi que des minéraux comme le potassium, le sodium et le calcium. (Ghizlane et Aziz, 2016) (Trichopoulou et *al.*, 2000).

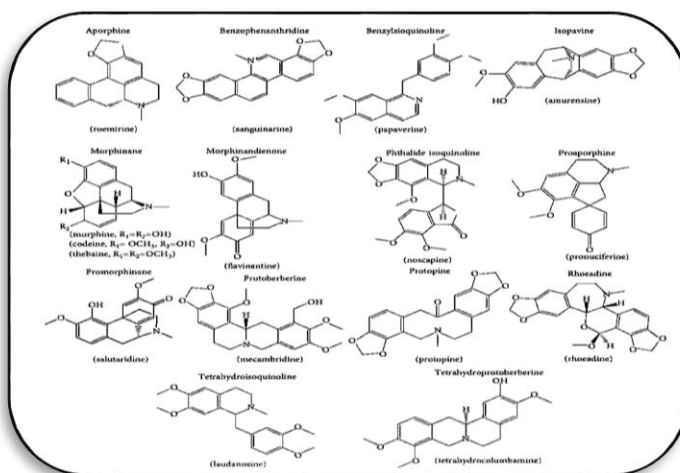


Figure 4 : Alcaloïdes sélectionnés pour illustrer la structure chimique des différents types d'alcaloïdes présents dans le genre *Papaver* (Butnariu et al., 2022).

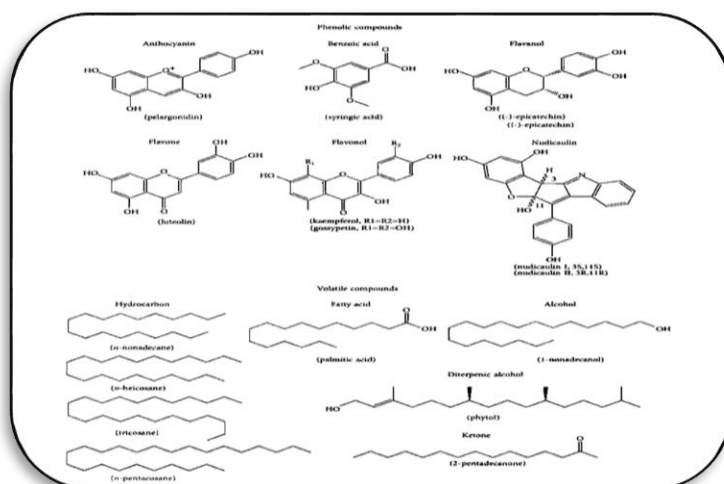


Figure 5: Structures des composés phénoliques et principaux composés volatils identifiés dans les plantes de *Papaver* (Butnariu et al., 2022).

I.7 Origine de *Papaver rhoeas* L.

Le pavot de maïs est une plante adventice répandue à travers le monde, naturalisée dans les champs partout. Bien que son origine exacte reste inconnue, certains suggèrent qu'elle pourrait provenir d'Europe, d'Afrique du Nord ou d'Asie occidentale. Il est donc probable qu'elle soit originaire du bassin méditerranéen oriental (Kadereit, 1990).

Le coquelicot, a été introduit par les Indo-Européens il y a environ 3 000 à 2 000 ans avant J.-C., en même temps que les céréales. Il existe quatre espèces de coquelicots : le grand Coquelicot (*P. rhoeas*), le coquelicot argemone (*P. argemone*), le coquelicot douteux (*P. dubium*) et le coquelicot intermédiaire (*P. hybridum*). Le grand Coquelicot est le plus répandu, reconnaissable notamment à sa capsule glabre et arrondie et à ses poils dressés sur la tige. C'est la seule variété qui peut éventuellement concurrencer les cultures.

Cette plante annuelle à floraison unique est présente partout et peut pousser sur différents types de sols. Bien qu'elle ne soit pas très exigeante en ce qui concerne son environnement, elle a du mal à rivaliser avec d'autres espèces et préfère les milieux ouverts et ensoleillés, tels que les champs moissonnés, les bords de route et les terrains abandonnés. Cependant, bien qu'elle se retrouve souvent dans des habitats rudéraux et en bordure de routes, elle a du mal à s'y développer et risque de disparaître en raison de la fragilité de son habitat (Olivereau, 1996).

I.8 Utilisations de *Papaver rhoeas* L.

➤ Utilisations médicales

Bien que les feuilles puissent être consommées, les graines de coquelicot sont généralement la partie la plus utilisée, souvent pour agrémenter le pain, les gâteaux et les salades. Cependant, il est important de ne pas se limiter à un usage décoratif des graines car elles sont riches en protéines (environ 21%) et en huile (environ 47%), qui peut être extraite (Earle et Jones, 1962). Les feuilles peuvent également être utilisées dans la préparation de soupes, d'omelettes ou de tartes salées, mais il est conseillé de les utiliser avec modération en raison des risques d'intoxication par les alcaloïdes. Les pétales sont principalement récoltés pour leur potentiel colorant rouge, et en externe, ils peuvent être infusés pour apaiser les peaux irritées et rouges (Mitich, 2000 ; Mabberley, 2008). Cette plante a été utilisée depuis l'Antiquité pour ses propriétés antitussives et expectorantes, particulièrement bénéfiques pour les personnes âgées et les enfants. En médecine chinoise, les fleurs sont prescrites pour traiter la jaunisse (Duke et Ayensu, 1985).

Elle possède des propriétés analgésiques légèrement apaisantes et sédatives grâce à la présence de rhéadine et de benzyloquinoline (Oh et al., 2018). Bien qu'elle partage certaines qualités avec l'opium, elles sont moins prononcées, et contrairement à celui-ci, elle n'entraîne pas de dépendance et ne contient pas de morphine. Les parties aériennes

servaient en infusion pour soulager les rhumatismes, tandis que les feuilles fraîches étaient utilisées comme tonique. Les pétales en sirop étaient pris comme calmant bronchique, contre la toux et les maux de gorge. Les pétales, mis à macérer au soleil avec du citron et de l'eau (à l'exception des parties noires), étaient utilisés comme immunotoniques, galactagogues et pour arrêter les saignements de nez (**Kültür, 2007**). L'ethnopharmacologie de la péninsule ibérique indique également son utilisation pour traiter la nervosité, l'insomnie, les troubles digestifs et respiratoires, la calvitie, les infections oculaires, ainsi que la rougeole (**Morales et al., 2014**).

➤ Utilisations alimentaires

Au 19ème siècle, les grandes pousses de *Papaver rhoeas* L. étaient occasionnellement consommées comme nourriture de famine (**Juhász, 2015**). La consommation de pavot s'est peut-être propagée dans l'ouest de la Hongrie depuis la Styrie et la Carinthie voisines, où la plante était utilisée comme légume et même dans des soupes. Les pétales de pavot étaient récoltés non seulement pour des remèdes populaires et des teintures pharmaceutiques, mais aussi pour colorer le fromage, les gâteaux et le vin (**Bokor et Gero", 1893**). Cette espèce était également cueillie par les enfants, qui aspiraient le nectar des longues épines des fleurs (**Bartha, 1937**).

Dans de nombreux pays européens, *Papaver rhoeas* L. avait des applications culinaires variées. En Italie, les jeunes feuilles de pavot sont encore consommées crues dans des salades composées, ou cuites dans des soupes de légumes, des omelettes et des pizzas (**Guarrera, 2003**) (**Motti et al., 2020**). Les graines de pavot y étaient également utilisées pour aromatiser le pain et les gâteaux (**Lucchetti et al., 2019**) (**Ranfa et Bodesmo, 2017**). De plus, le pavot était un ingrédient dans des boissons alcoolisées en Croatie et en Catalogne (**Łuczaj et al., 2019**) (**Gras et al., 2019**). En Croatie, les pétales de pavot servaient de colorant alimentaire (**Kosic et al., 2017**) , tandis qu'en Italie, ils étaient utilisés dans des cosmétiques comme le rouge à lèvres et le maquillage des joues (**Lucchetti et al., 2019**) (**Di sanzo et al., 2013**) (**Motti, et al., 2019**) ainsi que comme colorant textile grâce à leur couleur rouge vif (**Guarrera, 2006**).

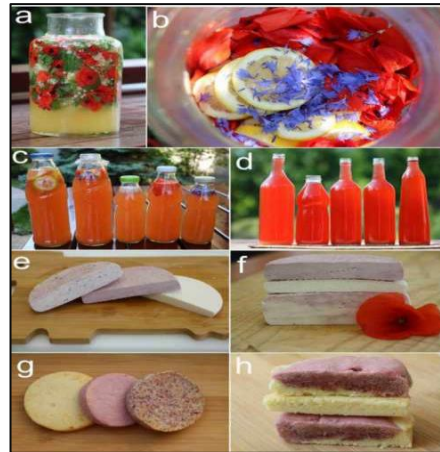


Figure 6: Applications alimentaires de *Papaver rhoeas* L. (Pinke et al., 2022).

➤ **Autres utilisation :**

Des coquelicots aux fleurs relativement grandes et aux couleurs éclatantes ont captivé l'attention de tous, y compris l'imagination des enfants. Cela était particulièrement vrai dans les foyers de petits exploitants, où grands-parents, parents et enfants plus âgés avaient l'habitude de créer divers types de "poupées de pavot" à travers le bassin des Carpates (Bartha ,1937) (Hamvai, 1968) (Sch"on, 2005). Selon (Ortutay, 1977), la confection de ces poupées commençait par un bourgeon de pavot. D'abord, on retirait le calice, puis on pliait les pétales et on les attachait à un brin d'herbe. Ainsi, on obtenait une poupée semblant porter une robe rouge (les pétales), avec l'ovaire et les étamines formant un collier. Avec quelques finitions supplémentaires, ces poupées pouvaient être transformées en personnages distincts.

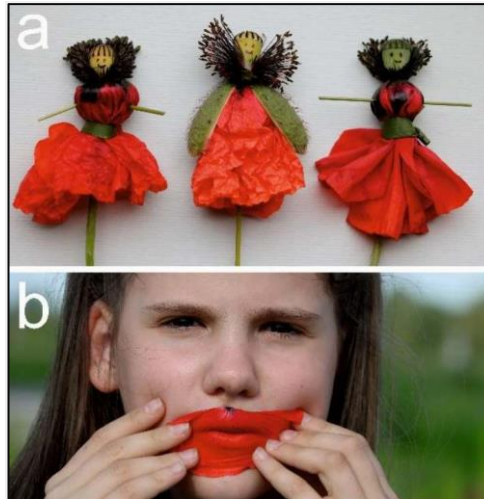


Figure 7: Scènes animées avec des jouets d'enfants démodés (Pinke et *al.*, 2022).

Chapitre II

Les éléments actifs d'une plante médicinale



Métabolisme des plantes médicinales

I.9 Introduction

Depuis des millénaires, l'humanité utilise les plantes trouvées dans la nature pour traiter et soigner diverses maladies (**Sanago, 2006**). La pratique de la phytothérapie remonte à des temps très anciens et suscite actuellement un intérêt croissant auprès du public. Selon l'Organisation mondiale de la santé (O.M.S., 2003), environ 65 à 80 % de la population mondiale recourt à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaires, principalement en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (**Basrai et al., 1997**).

La définition d'une plante médicinale est très simple. Il s'agit d'une plante utilisée pour prévenir, traiter ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des substances végétales dont au moins une partie a des propriétés thérapeutiques (**Farnsworth et al., 1986**).

La plante engage une activité métabolique intense, conduisant à la production de divers principes actifs. Ce métabolisme est intrinsèquement lié aux conditions de vie de la plante, qui doit résister à de nombreuses agressions environnementales, telles que des prédateurs et des microorganismes pathogènes. Ainsi, il est compréhensible que la plante développe un métabolisme spécifique lui permettant de synthétiser une variété de substances défensives, appelées métabolites secondaires (**Judd et al., 2002**).

Les plantes produisent des métabolites qualifiés de « secondaires » par contraste avec les métabolites primaires tels que les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés varient selon les espèces et, bien que leurs fonctions soient encore peu comprises, il est évident qu'ils jouent un rôle dans les interactions entre la plante et les organismes vivants environnants (**Krief, 2003**).

Les métabolites secondaires, des substances bioactives présentes dans les plantes médicinales, constituent les principaux agents responsables des activités biologiques et des vertus médicinales variées rapportés par les de la médecine traditionnelle au fil du temps. Aujourd'hui, les études quantitatives et qualitatives, ainsi que l'isolement et la modification chimique de ces métabolites secondaires, revêtent une grande importance pour permettre l'exploitation des pouvoirs biologiques et thérapeutiques contenus dans les extraits des plantes (**Stankovic, 2020**).

I.10 Métabolites primaire

Il est présent dans de nombreux organismes et constitue un type de métabolite directement impliqué dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule. Ce composé joue généralement un rôle physiologique dans cet organisme (**Beslama, 2015**). Ils constituent les éléments fondamentaux de la machinerie moléculaire de la cellule. Les glucides, les lipides et les acides aminés sont des exemples essentiels de métabolites primaires (**Hopkins, 2003**).

Ces métabolites sont divers en plusieurs types :

- Les acides aminés : source primaire de construction des protéines.
- Les glucides : source d'énergie, paroi cellulaire.
- Les lipides : source d'énergie, membranes cellulaires (**Boumerfe, 2020**).

I.10.1 Les acides aminés

Les acides aminés protéiques portent ce nom car ils constituent les "briques" nécessaires à la formation des protéines. Ce "jeu de construction" est identique des bactéries aux organismes supérieurs (**Stryer, 1988**), bien que la construction diffère en termes de séquences et de modifications post-traductionnelles. Ils jouent un rôle crucial dans les plantes, participant à tous les métabolites, à la constitution des protéines végétales, ainsi qu'à la synthèse des vitamines. Certains acides aminés ont des processus réactionnels spécifiques dans les plantes, entraînant des effets particuliers comme l'assimilation des nutriments, la production d'énergie, et la signalisation en cas de stress (**Heller et al., 2004**).

Il existe 20 acides aminés, tous ayant une structure de base identique : une fonction acide carboxylique et une fonction amine, toutes deux portées par le même carbone. La fonction amine étant en alpha de la fonction acide, on les appelle acides α -aminés ou α -aminoacides. Ils se distinguent par la nature de leur chaîne latérale (ou radical). Plus de 300 acides aminés ont été inventoriés, mais seuls 20 constituent les protéines naturelles (**Moussard, 2006**).

I.10.2 Lipides

Les lipides constituent une famille hétérogène de molécules organiques insolubles dans l'eau et les solvants polaires, mais solubles dans les solvants apolaires tels que le chloroforme (**Peter, 2008**). Ils se distinguent par la présence d'au moins un acide gras ou

une chaîne grasse dans leur structure (**Touitou, 2006**). Les lipides peuvent être présents sous forme solide, comme les cires, ou sous forme liquide, comme les huiles (**Bonichon, 2017**).

I.10.3 Glucide

Les glucides, parfois appelés hydrates de carbone, sont des composants des organismes vivants. Cependant, **Alais et Linden (1997)** indiquent que ce terme est inapproprié car la formule générale $C_n(H_2O)_n$ ne s'applique pas à tous les glucides. Ils sont principalement des composés organiques carbonylés (aldéhydiques ou cétoniques), polyhydroxylés et peuvent également être carboxylés ou aminés (**Bruneton, 1999**).

(**A Weil, 2005**) distingue les oses simples et les osides, dont l'hydrolyse produit plusieurs oses. La majorité des substances organiques sont des glucides, principalement synthétisés par les plantes. Ils constituent, avec les lipides et les protéines, une part significative de l'alimentation des animaux et des humains (**Hopkins, 2003**).

Les glucides, également appelés hydrates de carbone en raison de leur formule générique $C_n(H_2O)_n$, sont des molécules organiques caractérisées par des chaînes carbonées portant des groupements hydroxyles, des fonctions aldéhydes ou cétoniques, et parfois des fonctions carboxyle ou amine (**Touitou, 2006**).

Ce groupe comprend les sucres simples, appelés oses (monosaccharides) et leurs dérivés (sucres acides, sucres nucléotides), ainsi que des composés macromoléculaires formés d'assemblages, les holosides (diholosides ou disaccharides, polyholosides ou polysaccharides) (**Richter, 1993**).

I.11 Métabolites secondaire

Les métabolites secondaires, qui présentent des structures chimiques souvent complexes, sont très diversifiés et varient considérablement selon les espèces (**Cuendet, 1999**).

Les métabolites secondaires sont des molécules formant de nombreux composés dont le rôle exact dans la plante reste largement inconnu. Leur présence limitée à certaines espèces suggère qu'ils ne participent pas au métabolisme général et n'ont pas de fonction directe dans les activités vitales de la plante (**Guignad, 2000**). Ces métabolites dérivent des produits du métabolisme des glucides, des lipides et des acides aminés (**Richter, 1993**).

On en dénombre plus de 200 000, classés en différentes catégories chimiques telles que les terpènes et stéroïdes, les alcaloïdes, les saponosides, et les composés phénoliques (Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006).

I.11.1 Les composés phénoliques

Selon (Beta et al., 2005), les composés phénoliques, ou polyphénols (PP), sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire. Ces molécules, largement répandues dans le règne végétal, se trouvent dans toutes les parties des plantes supérieures : racines, tiges, feuilles, fleurs et fruits (Boizot et Charpentier, 2006). Elles possèdent plusieurs groupements phénoliques, parfois associés à d'autres fonctions, et comptent au moins 9000 structures différentes (Bahorun, 1998).

Pour un chimiste, un composé phénolique se distingue par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est attaché au moins un groupe hydroxyle, qu'il soit libre ou intégré dans une autre fonction telle que l'éther, l'ester ou l'hétéroside. De son côté, un phytochimiste considère un composé phénolique comme un dérivé non azoté dont les cycles aromatiques proviennent principalement du métabolisme de l'acide shikimique et/ou d'un polyacétate (Belguidoum, 2012)

Les polyphénols revêtent une importance croissante en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé. Leur rôle d'antioxydants naturels suscite un intérêt croissant pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. En outre, ils sont utilisés comme additifs dans les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Ben Slimane et Bourasse, 2010).

Tableau 2: Les différents groupes de composés phénoliques (Macheix et al., 2005).

Nom de groupe	Squelette carboné
Phénol simple	C ₆
Acide hydroxybenzoïque	C ₆ -C ₁
Acide phénolique	C ₆ -C ₃
naphtoquinones	C ₆ -C ₄
Stilbènes	C ₆ -C ₂ -C ₆
Flavonoïdes	C ₆ -C ₃ -C ₆
lignanes	(C ₆ -C ₃) ₂
Ignines	(C ₆ -C ₃) _n
Tannins	(C ₁₅) _n

La structure générale des polyphénols :

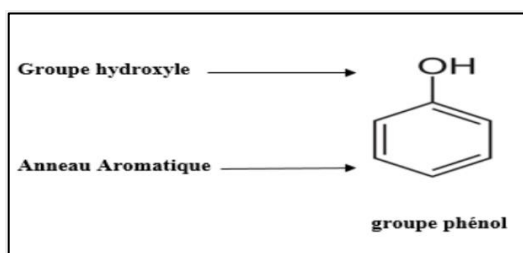


Figure 8: Structure chimique des polyphénols (Sobiesiak, 2017).

I.11.1.1 Les acides phénoliques

Selon (Laraoui, 2007), les acides phénoliques se divisent en deux sous-groupes : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques.

- **Acides hydroxybenzoïques** : comprennent l'acide salicylique et l'acide gallique. Ces substances phytochimiques possèdent des effets probiotiques, antioxydants, chélateurs et anti-inflammatoires. Leur toxicité est très faible, car ils sont considérés comme non toxiques.
- **Acides hydroxycinnamiques** : incluent l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide chlorogénique.

Acides phénoliques					
acides benzoïques	R2	R3	R4	R5	acides hydroxycinnamiques
acide p-hydroxybenzoïque	H	H	OH	H	acide p-coumarique
acide protocatéchique	H	OH	OH	H	acide caféique
acide vanillique	H	OCH ₃	OH	H	acide férulique
acide gallique	H	OH	OH	OH	
acide syringique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	acide sinapique
acide salicylique	OH	H	H	H	
acide gentisique	OH	H	H	OH	

Figure 9: Structure chimique des acides phénoliques (Chira et al., 2008).

I.11.1.2 Coumarine

Historiquement, le nom de coumarine provient de « cumaru », un terme issu d'une langue amazonienne. Les coumarines ont été isolées pour la première fois en 1820 et se trouvent dans plusieurs plantes (**Santana et al., 2006**).

Les coumarines sont des substances naturelles et synthétiques connues depuis longtemps, suscitant un grand intérêt en raison de leurs potentielles applications biologiques. Ces composés, qui contiennent neuf atomes de carbone, possèdent le noyau 2H1-benzopyran-2-one, dérivé de la cyclisation de l'acide cis-cinnamique oxygéné en C² (**Borges et al., 2005**).

Les effets des coumarines sur le développement des plantes varient selon leur concentration et l'espèce concernée. Dans les cellules, elles se présentent principalement sous forme glycosylée, une forme de stockage qui prévient les effets toxiques sur la cellule et la croissance des plantes. Certaines coumarines, induites par des stress abiotiques et biotiques, possèdent une activité antimicrobienne, comme les furanocoumarines du persil (**Midoun ,2011**).

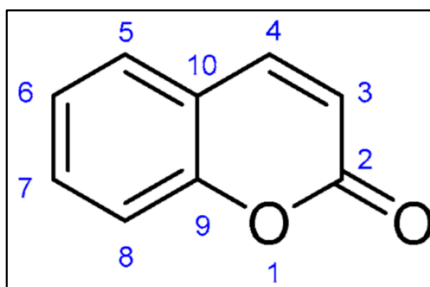


Figure 10: Structure des coumarines (**Cowan, 1999**).

I.11.1.3 Les Alcaloïdes

Le terme "alcaloïde" a été introduit par W. Meisner au début du XIXe siècle. La définition généralement acceptée des alcaloïdes est celle de Winterstein et Trier en 1910.

Un alcaloïde est un composé organique naturel, généralement d'origine végétale, présentant une structure hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome. Il possède une structure moléculaire complexe, est souvent basique, et a des propriétés physiologiques marquées même à faible dose (**Bruneton, 1999 ; Zenk et Juenger, 2007**).

Le terme « alcaloïde » est presque synonyme de « drogue ». Parmi les 20 drogues d'origine végétale les plus commercialisées, 10 sont des alcaloïdes, comme la morphine

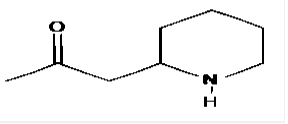
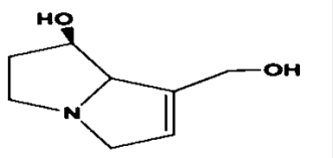
et la codéine présente dans le latex du pavot, ainsi que certains poisons tels que la ciguë (**Balandrin et al., 1985**). Il existe plus de six mille alcaloïdes connus, et ce nombre ne cesse de croître (**Judd et al., 2002**).

Le rôle biologique principal des alcaloïdes est celui de phagodéterrents : leur amertume et leur toxicité dissuadent les herbivores (**Guignard, 2000**).

En général, on classe les alcaloïdes comme suit :

- **Les alcaloïdes vrais** : Les alcaloïdes sont des composés toxiques dotés d'un large spectre d'activités biologiques. Dérivés d'acides aminés, ils contiennent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. On les trouve dans les plantes, sous forme libre, sous forme de sel, ou comme N'oxyde (**Berkal et Bouchama, 2016**).
- **Les Pseudoalcaloïdes** : Les Pseudoalcaloïdes possèdent généralement toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne dérivent pas d'acides aminés (**Berkal et Bouchama, 2016**).
- **Les proto-alcaloïdes** : Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'atome d'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle. Ils présentent un caractère basique et sont synthétisés in vivo à partir d'acides aminés. Souvent appelés « amines biologiques », ils sont solubles dans l'eau (**Berkal et Bouchama, 2016**).

Tableau 3: Structure des alcaloïdes (**Badiaga, 2011**).

Structure	Exemple
1 seul cycle contenant l'atome d'azote.	
2 cycles contenant l'atome d'azote	 Rétronécine

I.11.1.4 Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent le groupe le plus important des polyphénols (**Orzechowski et al., 2002**). Considérés comme des pigments presque universels chez les végétaux (**Bruneton, 1999 ; Guignand, 2000**), ils sont présents dans tous les organes de la plante et font ainsi partie intégrante de l'alimentation humaine (**Barbosa, 2007**).

Ils produisent des couleurs allant du jaune clair au jaune or (**Akroum, 2011**).

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires dotés d'un squelette de flavone composé de 15 atomes de carbone, organisés en une séquence C₆-C₃-C₆, avec deux cycles benzéniques (A et B) reliés par un cycle pyrane à trois atomes de carbone (C). La présence d'un groupe catéchol sur le cycle B du cycle pyrane, ainsi que le nombre et la position des groupes hydroxyle sur ce groupe catéchol, peuvent influencer la capacité antioxydante des flavonoïdes (**D'Amelia et al., 2018**).

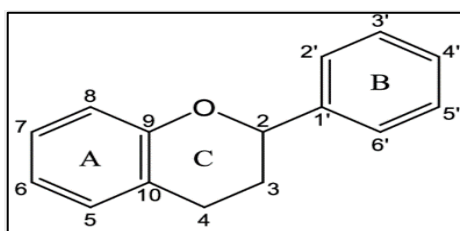


Figure 11: Structure de base des flavonoïdes (**Lhuillier-, 2007**).

Les flavonoïdes sont largement présents dans les plantes, les fruits et les graines. Ils jouent un rôle essentiel dans la coloration, le parfum et la saveur. Chez les plantes, les flavonoïdes remplissent diverses fonctions, telles que la régulation de la croissance cellulaire, l'attraction des insectes pollinisateurs et la protection contre les stress biotiques et abiotiques (**De Luna et al., 2020**).

Ils peuvent être classés en six grandes catégories selon leur structure : les flavan-3-ols, les flavones, les flavonols, les flavanones, les isoflavones et les anthocyanes (**Šamec et al., 2021**).

Ces composés peuvent se trouver sous une forme libre, appelée aglycone, ou sous forme d'hétérosides, c'est-à-dire liés à des oses et à d'autres substances (**Akroum, 2011**).

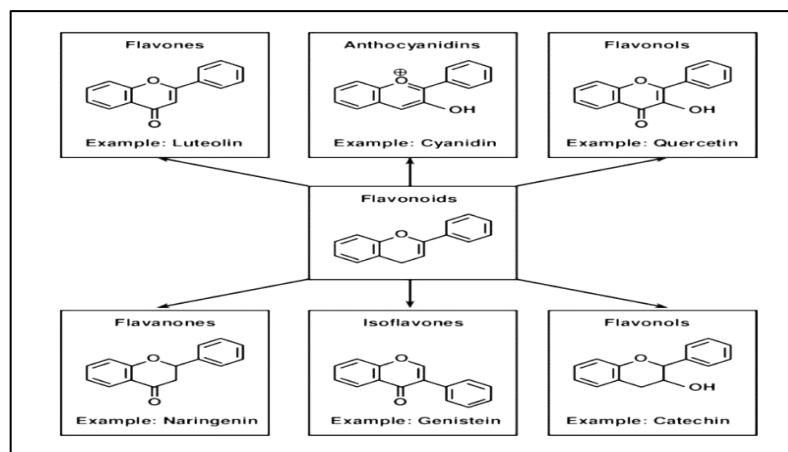


Figure 12: Classe des flavonoïdes (Das et Gezici ,2018).

I.11.1.5 Tanins

Les tanins forment une famille complexe de substances actives présentes dans toutes les parties des plantes (écorces, racines, feuilles, etc.) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Ce sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da. Les tanins se divisent en deux groupes distincts en fonction de leur structure : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Brunet, 2008).

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénoliques. Ils se décomposent facilement en oses et en acides phénoliques grâce à l'action des enzymes tannases. Selon la nature de l'acide phénolique, on distingue les tanins galliques et les tanins ellagiques (Paris et al., 1981).

➤ Tanins hydrolysables

Ils sont composés d'une molécule glucidique estérifiée par l'acide gallique ou l'un de ses dérivés (acide ellagiques, acide m-digallique), ce qui leur vaut parfois le nom de pyrogalliques et d'ellagitannins. Ils se décomposent facilement par hydrolyse chimique ou enzymatique. Les tanins galliques et ellagiques sont typiques des angiospermes dicotylédones (Bruneton, 2009).

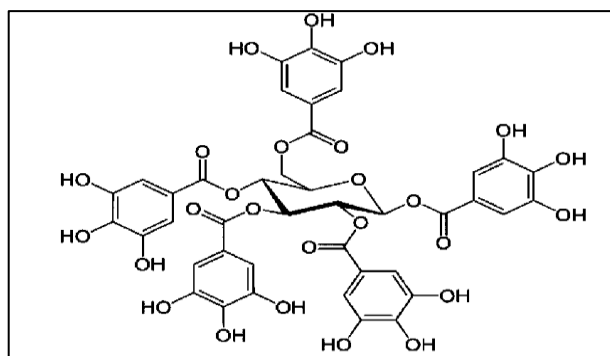


Figure 13: Structure générale de tanins hydrolysables (Hopkins, 2003).

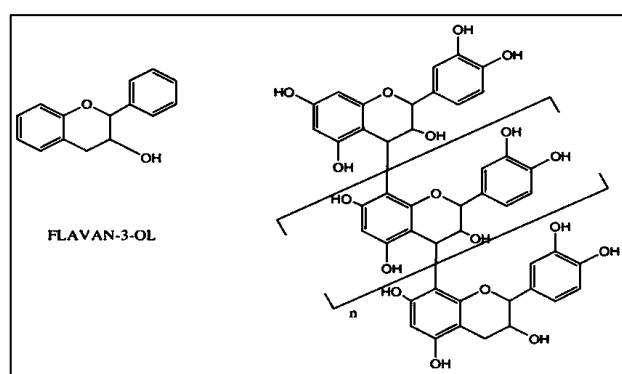
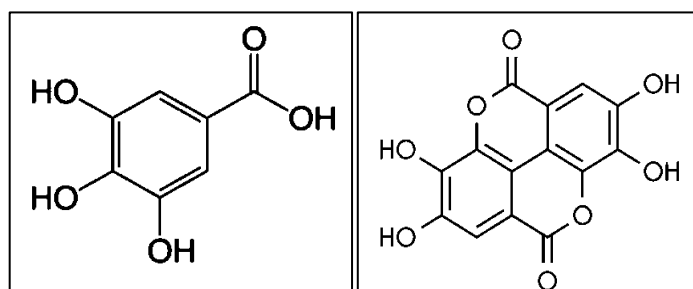


Figure 14: Structures des tanins condensés (Achat, 2013).



Acide gallique

Acide ellagique

Figure 15: Structure chimique des quelques tanins hydrolysables (Chaturvedula et Prakash, 2011).

➤ Tanins condensés (proanthocyanidines)

Les tanins condensés, également appelés proanthocyanidols ou tanins « catéchiques », sont formés par la polymérisation de molécules de flavanes élémentaires (telles que les flavanes ol-3, flavane ol-4, et flavane diol-3,4). Ces composés ont été isolés ou identifiés

dans tous les groupes de végétaux, y compris les gymnospermes et les fougères (Bruneton, 2009).

I.11.1.6 Anthocynes

Le terme anthocyane, dérivé des mots grecs "anthos" (fleur) et "cyanus" (bleu), désigne des pigments importants des plantes vasculaires capables d'absorber la lumière visible, ce qui les rend détectables à l'œil nu (Kong et al., 2003).

Ces pigments sont responsables des couleurs vives orange, rose, rouge, violet et bleu des fleurs et des fruits de nombreuses plantes (Turker et al., 2004 ; Valls et al., 2009).

La structure de base des anthocyanes est constituée d'anthocyanidines, comportant deux cycles hydrocarbonés aromatiques liés par un cycle hétérocyclique contenant de l'oxygène. Lorsqu'elles sont liées à un sucre, elles sont appelées anthocyanines. Ces sucres peuvent être des monosaccharides tels que le glucose, le galactose, le rhamnose, le fructose et l'arabinose, ou une combinaison de trois ou quatre monosaccharides (Farahmandazad, 2015).

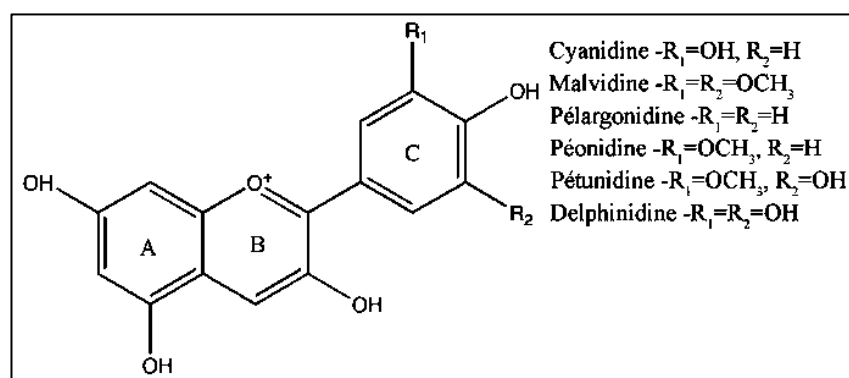


Figure 16: Structure des principaux anthocyanes (Labbé et al., 2008).

I.11.1.7 Terpénoïdes

Également appelés terpènes, ces composés constituent un vaste groupe de métabolites secondaires et sont des hydrocarbures naturels de structure cyclique ou à chaîne ouverte (Hellal, 2011).

Les plantes synthétisent en effet plus de vingt-deux mille dérivés isopréniques, qui présentent une grande diversité de structures, de propriétés physiques et chimiques, ainsi que d'activités biologiques (**Conolly et Hill, 1992**).

Ils répondent généralement à la formule générale (C_5H_8) (**Seenivasan, 2006**), leur caractéristique structurelle principale étant la présence d'unités isopréniques à 5 atomes de carbone dans leur squelette (**Hernandez-Ochoa, 2005**).

Les précurseurs de tous les isoprénoïdes sont le pyrophosphate d'isopentényle (IPP) et son isomère allylique, le pyrophosphate diméthylallyl (DMAPP), avec près de 40 000 structures moléculaires différentes (**Yu et Utsumi, 2009**). Ces composés forment une classe importante de produits secondaires, souvent hydrophobes, parfois volatils, et liés par une origine commune (**Seaman, 1982**).

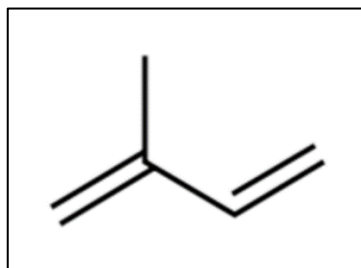


Figure 17: Structure de base des terpénoïdes (**Wichtl et al., 2003**).

I.11.1.8 Stéroïdes

Les stéroïdes, présents aussi bien dans les plantes que dans les animaux, sont des composés essentiels pour les organismes vivants. Les stéroïdes génériques, caractérisés par des cycles 17-H hydrogénés partiellement ou totalement, sont remarquablement puissants, agissant à des concentrations très faibles. Typiquement, dans les stéroïdes, les groupes méthyle se situent en C-10 et C-13, tandis que la chaîne latérale alkyle se trouve en C-17. Lorsque le groupe hydroxyle est en C-3, on les classe sous le terme légèrement différent de "stérols". Ces composés, qu'ils soient stéroïdes ou stérols, jouent divers rôles dans le corps et sont utilisés en médecine pour des applications telles que les glycosides cardiaques, les contraceptifs oraux, l'hormonothérapie substitutive et le traitement du cancer (**Patadiya, 2020**).

I.11.1.9 Stérols

Les stérols, composés tétracycliques comprenant 27 à 29 atomes de carbone, se trouvent à la fois sous forme libre (80%) et estérifiée. Ils sont issus de la saponification

des esters d'acides gras (**Giuffrè et al., 2012**). Ces stérols sont des alcools de triterpènes, du type scalène, résultant de la condensation opposée de deux farnésyldiphosphates (en C₁₃) (**Heller et al., 2004**).

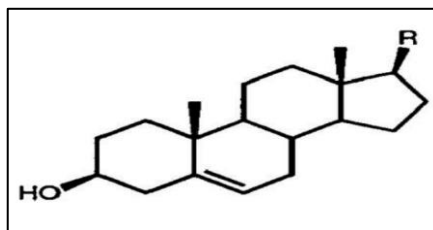


Figure 18: Structure chimique des stérols (**McMullen et al., 1995**).

I.11.1.10 Les Quinones

Les quinones sont des composés largement répandus dans divers règnes de la nature, que ce soit végétal, animal ou microbien. On les divise en deux catégories principales : les benzoquinones et les naphtoquinones. Les quinones naturelles se caractérisent par la présence de leur cycle conjugué avec les doubles liaisons d'un noyau benzénique pour les benzoquinones, ou d'un système aromatique polycyclique condensé tel que le naphthalène, l'anthracène, le 1,2-benzanthracène, le naphtodianthrène, le pérylène ou le phénanthrène. (**Bruneton, 1999**).

Ces composés colorés sont responsables du phénomène de brunissement observé dans les fruits et légumes lorsqu'ils sont coupés ou endommagés (**Cowan, 1999**).

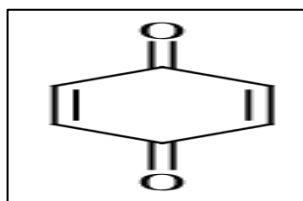


Figure 19: Structure d'une molécule de quinone (**Cowan, 1999**).

I.11.1.11 Saponosides

Les saponines, présentes dans de nombreuses plantes, tirent leur nom de leur capacité à mousser en solution aqueuse. Elles se composent d'un groupe aglycone de nature triterpénique ou stéroïdique, ainsi que d'une ou plusieurs chaînes glycosidiques (**Sparg et al., 2004**).

Les Saponosides, également connus sous le nom de saponines, sont des Terpènes glucosylés. Ils peuvent être des stéroïdes glycosylés, des stéroïdes, des Alcaloïdes glycosylés ou des hétérosides triterpéniques. Ils peuvent également être présents sous forme d'aglycones, appelés Sapogénines, qui sont des composés terpéniques ne contenant pas de glucides (**Hopkins, 2003**).

Chapitre III

Les activités biologiques



Activité biologique

I.12 Activité antioxydant

Ces dernières années, l'activité antioxydante des plantes médicinales a particulièrement retenu l'attention en raison de son rôle dans la prévention des maladies chroniques telles que les maladies cardiaques, le cancer, le diabète, l'hypertension et la maladie d'Alzheimer, grâce à sa capacité à combattre le stress oxydatif (**Meddour et al., 2013**).

I.12.1 Les antioxydants

Dans un système biologique, un antioxydant est défini comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient significativement l'oxydation de ce substrat (**Halliwell, 1995 ; Halliwell et Gutteridge, 1999**). Ces substances peuvent neutraliser ou réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme, maintenant ainsi des concentrations non cytotoxiques au niveau cellulaire. Les antioxydants peuvent être des systèmes enzymatiques ou non enzymatiques (**Mohammedi, 2013**), et ils permettent de maintenir des niveaux non cytotoxiques de ROS (espèces réactives de l'oxygène) dans les cellules. L'organisme réagit constamment à cette production continue de radicaux libres (**Favier, 2003**).

Ces substances sont utilisées pour prévenir le vieillissement, ainsi que de nombreuses maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, et l'inflammation causée par la production excessive de radicaux libres. Elles sont également utilisées dans les aliments pour prévenir le rancissement ou la décoloration, souvent dus à l'oxydation provoquée par l'oxygène de l'air, la lumière, la chaleur et certaines enzymes (**Scarim et al., 2019**).

Les antioxydants sont très diversifiés et comprennent de petites molécules liposolubles (comme la vitamine E et le β -carotène) ou hydrosolubles (comme la vitamine C et l'acide urique), ainsi que des protéines à activité enzymatique (comme le superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, la catalase, etc.) ou non enzymatique (comme les séquestrants de métaux). Ils peuvent être d'origine endogène ou exogène, et peuvent être des composés naturels ou synthétiques (**Guo et al., 2006**).

Exemples des molécules antioxydants :

Parmi les molécules antioxydantes, on trouve :

- Des minéraux comme le sélénium et le zinc
- Des molécules complexes telles que les polyphénols, les flavonoïdes, la coenzyme Q10 et les caroténoïdes
- Des vitamines telles que E, C et A
- Des enzymes telles que la glutathion peroxydase et le superoxyde dismutase (SOD), qui assurent une protection naturelle contre les dommages oxydatifs dans le corps. La glutathion peroxydase, en tant que sélénoprotéine, souligne l'importance du sélénium dans la lutte contre les radicaux libres (**Haleng et al., 2007**).

I.12.2 Type des antioxydants

Le système de défense antioxydant L'organisme dispose de plusieurs systèmes de défense antioxydants très efficaces pour réduire la concentration d'espèces oxydantes. Ce système est divisé en deux grandes catégories :

- **Antioxydants enzymatiques :**

Pour protéger ses tissus contre les agressions des radicaux libres, l'organisme humain utilise des systèmes enzymatiques, tels que les superoxydes dismutases, les catalases et les glutathion peroxydases (**Milane, 2004**), ces enzymes antioxydants éliminent les radicaux libres par des réactions spécifiques, comme illustré dans la figure suivante (**Halliwell, 1994**).

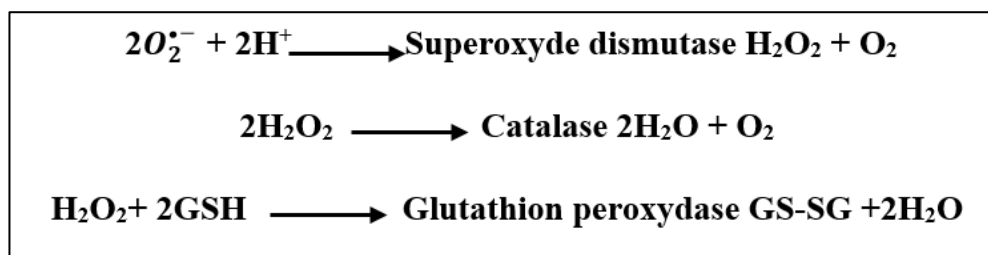


Figure 20: Réaction d'élimination des radicaux libres.

Les antioxydants non enzymatiques

Certaines molécules chimiques de faible poids moléculaire agissent comme antioxydants, mais leur rôle n'est pas catalytique. Elles se divisent en deux catégories :

les antioxydants non enzymatiques endogènes (synthétisés par les cellules eucaryotes) et les antioxydants non enzymatiques exogènes (provenant de l'alimentation) (**Sharifi et al., 2020**).

Antioxydantes non enzymatiques endogènes

Ces enzymes jouent un rôle crucial dans la défense antioxydante. Ce système de défense se compose de trois enzymes antioxydantes majeures : les superoxydes dismutases (SOD), les glutathions peroxydases (GPx) et la catalase (CAT) (**Chetibi et Diab, 2016**), ainsi que la bilirubine, l'acide urique, la coenzyme Q, la mélatonine et l'acide lipoïque (**Sharifi et al., 2020**). Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires (**Lehucher-Michel et al., 2001**).

Les antioxydants non enzymatiques exogènes

Ces molécules exogènes, contrairement aux enzymes antioxydantes, capturent un seul radical libre par molécule. Pour être réutilisée, chaque molécule d'antioxydant doit être régénérée par d'autres systèmes (**Dacosta, 2003**). Les antioxydants secondaires, généralement, inhibent les facteurs qui initient l'oxydation. Ils comprennent une large gamme de substances chimiques diverses qui empêchent l'oxydation des lipides par différents mécanismes, sans transférer le radical libre sous sa forme non radicalaire (**Miller et al., 1996**).

Dans cette catégorie, on trouve : les caroténoïdes, l'ubiquinol, la vitamine E, la vitamine C, le glutathion (GSH), l'acide urique, l'acide alpha-lipoïque (**Delattre et al., 2005**), l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes et les composés phénoliques (**Kohen et Nyska, 2002**).

I.12.3 La localisation des antioxydants

Localisations cellulaires des antioxydants :

Les antioxydants peuvent être classés en molécules liposolubles ou hydrosolubles. En fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques, leur localisation préférentielle au sein des cellules varie : les substances liposolubles se trouvent principalement dans les membranes cellulaires, tandis que les substances hydrosolubles sont présentes dans le cytosol et/ou le milieu extracellulaire. Ils sont particulièrement efficaces contre les radicaux libres présents dans leur milieu respectif (**Machlin et al., 1988**).

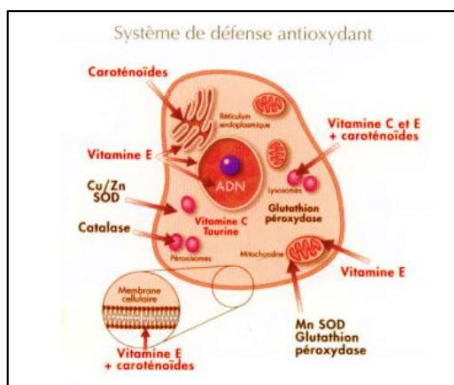


Figure 21: Sites d'action des nutriments antioxydants (en rouge) et des enzymes antioxydantes (en noir) (Opara ,2002).

Localisations alimentaires :

Les antioxydants se trouvent principalement dans les fruits et légumes. Ils sont également présents dans de nombreux autres aliments que nous consommons quotidiennement (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Tableau 4: principaux groupes d'antioxydants et sources alimentaires associées (Koechlin, 2006).

Groupes principaux	Exemple d'antioxydants	Aliments
Vitamines	Vitamine E	Huiles végétales, amandes, noix, noisettes, brocoli, épinard, avocat, asperge, crevette, crabe.
	Vitamine C	Agrumes (citron, orange, pamplemousse...), cassis, fraises, melon, persil, kiwi, poivron, brocoli.
	Vitamine A	Foie, thon, beurre, fromage, œuf, laitages.
Caroténoïdes	Lycopènes	Tomates, papaye, abricot, goyave, melon Lutéine.
	Béta-carotène	Carotte, persil, abricot, poivron, orange, épinard.

	Lutéine et zéaxanthine	Brocolis, épinards, chou vert, maïs, poivron rouge, pois verts, kaki, navet, laitue, courgette.
Polyphénols	Tanins	Lentilles, thé, raisin
	Flavonoïdes	Chocolat, légumes (persil, chou, laitue, endive, poireau), fruits (orange, cerise, cassis, mûre, myrtilles), huile de pépin de raisin, thé
	Acides phénoliques	Café, fruits

I.12.4 Systèmes des défenses antioxydants

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à une concentration relativement faible, de rivaliser avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher leur oxydation (**Dröge, 2002**). Cette définition fonctionnelle englobe de nombreuses substances, y compris des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, ainsi que de petites molécules hydrosolubles ou liposolubles. Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (**Delattre et al., 2005**).

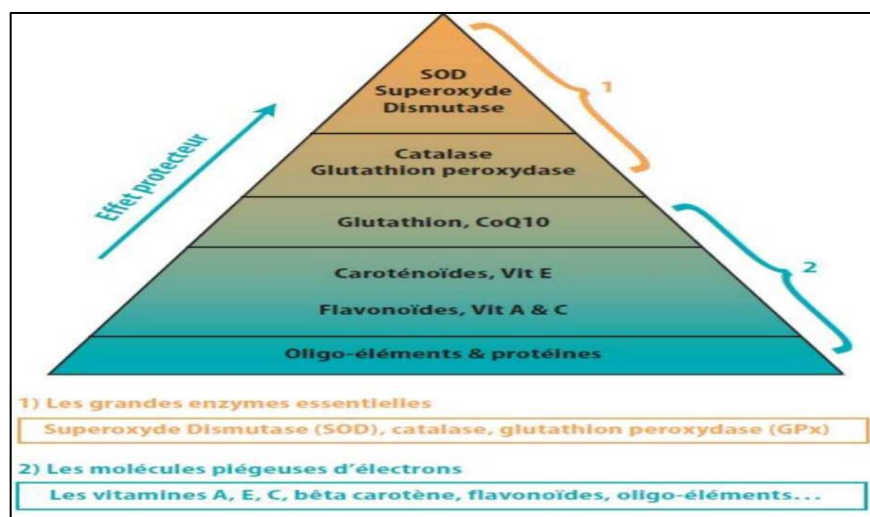


Figure 22: Les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (**Menvielle-Bourg, 2005**).

I.12.5 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant (in vitro)

Pour évaluer l'activité antioxydante, plusieurs techniques sont utilisées, chacune nommée en fonction du matériau servant de source de radicaux libres. Par exemple, on peut citer : ORAC (oxygen radical absorbance capacity), FRAP (Ferric reducing antioxidant power), TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), ABTS (2,2-azinobis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) et DPPH⁺ (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), etc... (Georgeva et al., 2010).

Ces tests peuvent être divisés en deux catégories : ceux qui mesurent le transfert d'électrons ou d'hydrogène vers un radical coloré stable et facile à détecter (comme DPPH et FRAP), et ceux qui impliquent une compétition entre l'antioxydant et une cible à protéger (comme les pigments ou les lipides), tels que l'Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC), la décoloration du β -carotène et de la crocine (Kabouche et Bensouici, 2015). Il est important de noter que les différentes méthodes produisent des résultats variés et doivent être utilisées de préférence pour comparer des produits similaires (Georgeva et al., 2010). Selon l'étude d'Alam et al., 2013, 19 méthodes sont actuellement utilisées pour estimer in vitro la capacité antioxydante d'un échantillon, la méthode DPPH étant la plus couramment employée.

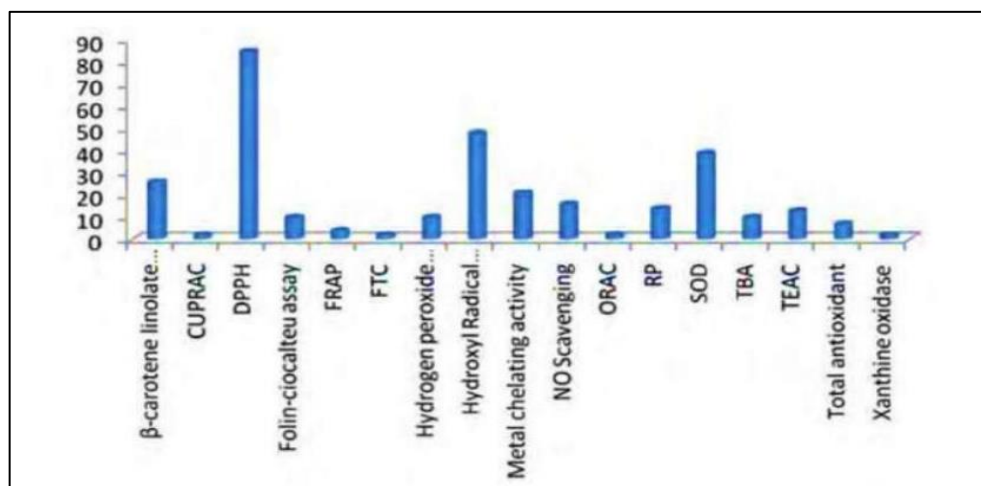


Figure 23: Fréquence d'utilisation des méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante (Alam et al., 2013).

I.12.6 Stress oxydatif

Après la découverte des radicaux libres dans les systèmes biologiques il y a un peu plus de 55 ans, Harman et ses collaborateurs ont proposé en 1956 l'hypothèse selon laquelle l'accumulation de dommages moléculaires et cellulaires causés par les radicaux libres centrés sur l'oxygène serait responsable du vieillissement. En 1991, Sies a défini le stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives de l'oxygène (ERO), en raison d'un déséquilibre résultant soit d'une production accrue d'ERO, soit d'une diminution de la capacité de défense antioxydante (Fetoni et al., 2019).

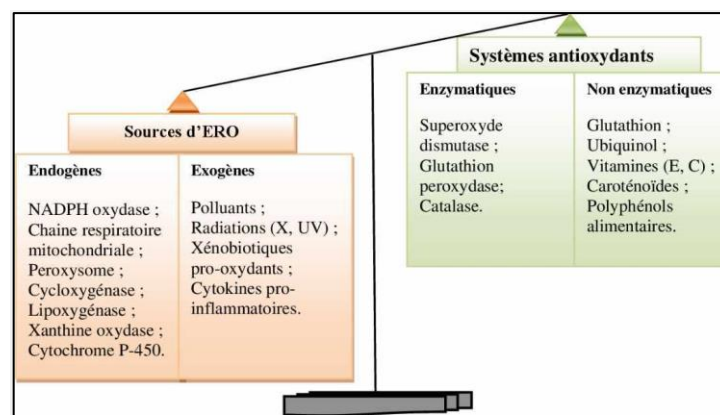


Figure 24: Déséquilibre entre les antioxydants et les radicaux libre (Shimizu, 2004).

I.12.6.1 Définition de stress

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de détruire les radicaux libres produits en excès, maintenant ainsi un équilibre entre les oxydants et les antioxydants. Cependant, dans certains cas, en raison d'une surproduction de radicaux ou d'une diminution des capacités antioxydantes, un déséquilibre peut survenir entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme, entraînant ce que l'on appelle le stress oxydatif (Bendif, 2017). Ce déséquilibre peut être dû à une surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, à un déficit nutritionnel en antioxydants, ou à une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (Haïoun et al., 2015).

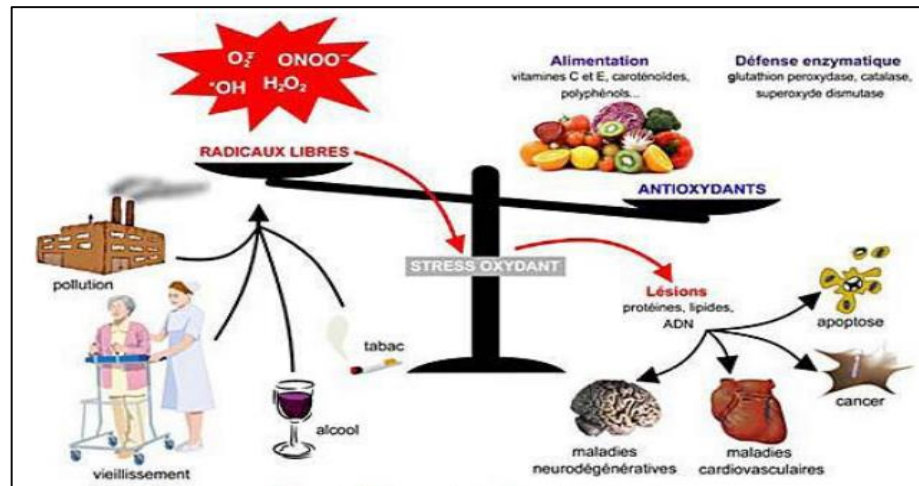


Figure 25: Stress oxydant (Ďuračková, 2008).

I.12.6.2 Conséquences biochimiques du stress oxydatif et les Maladies associées :

Le stress oxydatif est la cause initiale de plusieurs maladies, notamment le cancer, l'œdème pulmonaire, le vieillissement accéléré, le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

La production excessive de radicaux libres entraîne des lésions directes des molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides), ainsi que des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés, notamment lors de l'oxydation des lipides (Harris, 2002).

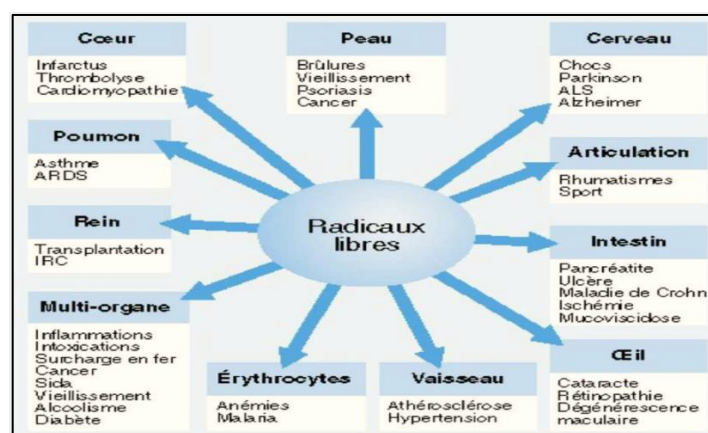


Figure 26: Principales circonstances pathologiques s'accompagnant d'un stress oxydant primitif ou secondaire (Favier, 1997).

I.12.7 Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Parmi les espèces radicalaires les plus notables figurent les espèces réactives de l'oxygène (ERO), des radicaux libres dérivés de la molécule d'oxygène par l'addition d'un électron. Les principales ERO incluent le radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle ($\bullet OH$), et le monoxyde d'azote ($NO^{\bullet}$). Il existe également des dérivés oxygénés réactifs non radicalaires, tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxydinitrite ($ONOO^-$), qui présentent une toxicité significative (Gutteridge et Halliwell, 1993 ; Jacques et André, 2004).

Tableau 5: Espèces réactives de l'oxygène (Kohen et Nyska, 2002).

Espèces non radicalaires	Espèces radicalaires
Oxygène singulet 1O_2	Anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$
Peroxydinitrite $ONOO^-$	Radical hydroxyle $OH^{\bullet}$
Peroxyde d'hydrogène H_2O_2	Monoxyde d'azote $NO^{\bullet}$
Acide hypochlorique $HOCl$	Radical alkoxy $RO^{\bullet}$
Peroxyde organique $ROOH$	Radical peroxy $ROO^{\bullet}$

I.12.8 Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des entités chimiques (espèces, atomes, molécules ou fragments moléculaires) qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur la couche périphérique du squelette moléculaire. Ces électrons célibataires sont produits par un apport d'énergie suffisant pour les séparer et ont tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules afin de gagner en stabilité, ce qui déstabilise ces autres molécules (Bendif, 2017).

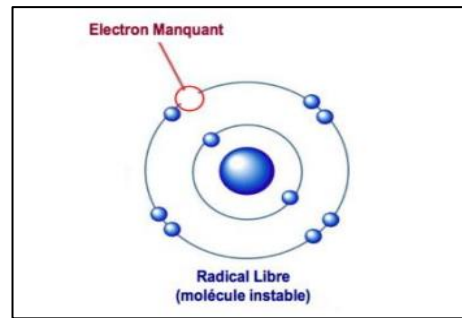


Figure 27: La formule des radicaux libre.

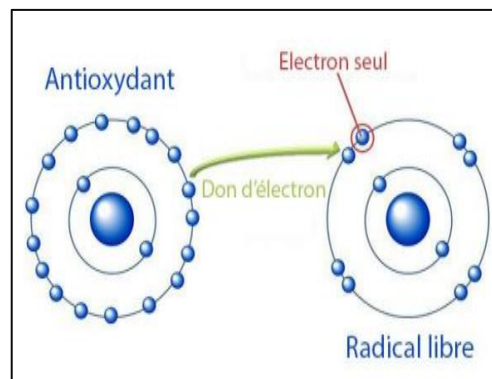


Figure 28: Neutralisation d'une radicale libre par un antioxydant (carange, 2010).

I.12.8.1 Source des radicaux libres

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) peuvent être produites par des agents physiques comme les rayonnements, ainsi que par des réactions chimiques et surtout enzymatiques. En effet, toute réaction impliquant de l' O_2 et un système réducteur de transfert d'électrons est susceptible de libérer des ERO. Par exemple, la chaîne respiratoire est une source importante de production d'ERO. D'autres activités enzymatiques, comme celles des NADPH oxydases lors de l'inflammation et des cytochromes P450 pendant la détoxification des xénobiotiques, génèrent également des ERO. Ainsi, la mitochondrie, la membrane plasmique et le réticulum endoplasmique sont les principaux sites de libération des ERO. Les sources de production des ERO, tant endogènes qu'exogènes, sont nombreuses.

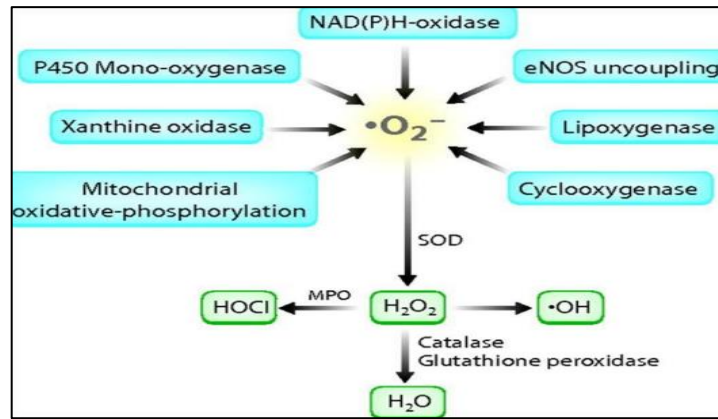


Figure 29: Différents Sources des ERO (Sachse et Wolf, 2007).

I.13 Activité antibactérienne

Dès la naissance, l'homme entre en contact avec des micro-organismes qui colonisent progressivement sa peau et ses muqueuses. Pour résister à ces micro-organismes, divers moyens sont mis en œuvre. On peut schématiquement les classer en trois groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ou innée) et l'immunité acquise (Kaufmann, 1997).

L'activité antimicrobienne des huiles et des extraits de plantes a particulièrement servi de base à de nombreuses applications, notamment en pharmacie, en médecine, en thérapie naturelle et dans la conservation des aliments (Sağdıç et al., 2002).

I.13.1 Les principales substances antibactérienne

I.13.1.1 Les bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes d'une adaptabilité remarquable, responsables de maladies graves ou bénignes. Elles peuvent survivre et se multiplier dans divers environnements, et certaines forment des spores capables de persister pendant des décennies.

Certaines bactéries ne peuvent survivre que par un contact étroit avec leur hôte humain. Si la plupart se répliquent en quelques heures ou jours, d'autres croissent beaucoup plus lentement, entraînant des infections chroniques difficiles à traiter. En plus de coloniser une grande variété d'habitats, les bactéries possèdent un potentiel élevé d'adaptation génétique.

Souvent, elles contiennent de l'ADN plasmidique, capable de transférer du matériel génétique au sein de la même espèce ou entre espèces différentes. Cette adaptabilité génétique peut augmenter leur pouvoir pathogène ainsi que leur résistance aux antibiotiques **(Tony et Paul, 1999)**.

L'étude des bactéries est essentielle pour combattre les maladies, car elles sont responsables de certaines maladies graves et de nombreuses affections bénignes. La prévention et le contrôle de ces maladies reposent largement sur le travail des bactériologistes, que ce soit en médecine humaine, vétérinaire ou en agriculture. Bien que les bactéries pathogènes soient importantes, elles ne représentent qu'une petite fraction de la population bactérienne. La majorité des bactéries sont peu ou pas dangereuses, et beaucoup sont extrêmement bénéfiques pour l'Homme. Par exemple, certaines produisent les antibiotiques qui ont révolutionné les traitements médicaux, tandis que d'autres sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour fabriquer du beurre, du fromage et du yaourt **(Singleton, 1999)**.

1) Morphologie

Pendant de nombreuses années, la bactérie a été perçue comme "un sac d'enzymes" en raison de la résolution insuffisante du microscope optique, qui ne permettait pas de révéler les détails de sa structure. Ainsi, l'observation des bactéries se limitait à reconnaître la forme des cellules (sphérique ou coccoïde, cylindrique ou en bâtonnet, spiralée ou hélicoïdale), leurs dimensions (variant selon les espèces de 0,1 μm à 600 μm , les Entérobactéries mesurant 2 à 3 μm de long, certaines Spirochaeta atteignant entre 30 et 500 μm) et les arrangements ou groupements qu'elles forment (en grappe, en chaînette, en paire ou diplocoque, en palissade ou paquet d'épingles chez les Corynébactéries). Ces caractéristiques définissent la morphologie bactérienne, critère essentiel de reconnaissance et d'identification, jouant un rôle très important dans le diagnostic **(Leclerc et al., 1995 ; Pocidalo, 1989)**. Les traits morphologiques représentent une stratégie d'adaptation et de survie ; dans les environnements aquatiques ou terrestres, on trouve des bactéries amorphes, ovoïdes, cubiques, étoilées ou filamenteuses, qui peuvent se regrouper en amas, en paires, en rosettes, en réseaux, en cubes, ou en corps fructifiant **(Leclerc et al., 1995)**.

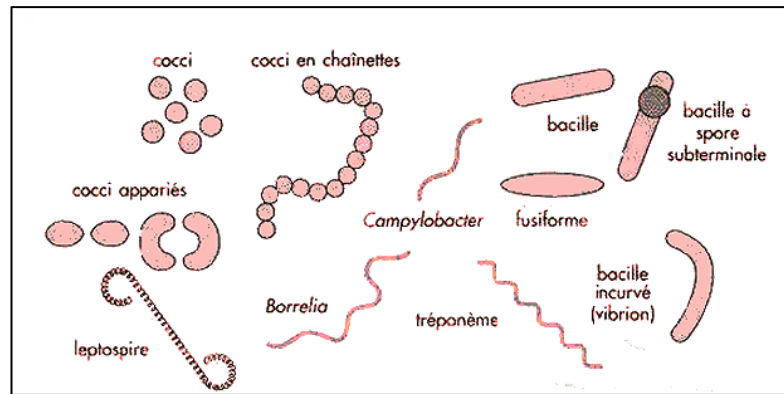


Figure 30: Exemple de morphologies bactériennes (Hart et Shears ,1997).

2) Structure d'une cellule bactérienne

La cellule bactérienne semble entourée d'une enveloppe rigide, la paroi, qui entoure une seconde enveloppe plus fine et plus fragile, la membrane plasmique. Le cytoplasme, situé en dessous, est généralement très homogène et contient principalement des ribosomes, parfois des substances de réserve. Il ne contient aucun des organites présents dans les cellules eucaryotes (comme le réticulum endoplasmique, les mitochondries, etc.). Ces structures (paroi, membrane, cytoplasme et chromosome bactérien) sont essentielles à la cellule et toujours présentes. D'autres structures peuvent s'ajouter, telles que la capsule (enveloppe la plus externe), les flagelles, les pili ou fimbriae, et les spores, formes de résistance présentes uniquement chez certaines espèces bactériennes. Enfin, les plasmides, des ADN extra-chromosomiques circulaires capables d'autoréplication, peuvent également être présents (Prescott *et al.*, 2003 ; Hart et Shears, 1997). Le schéma suivant illustre l'organisation générale de la structure d'une cellule bactérienne.

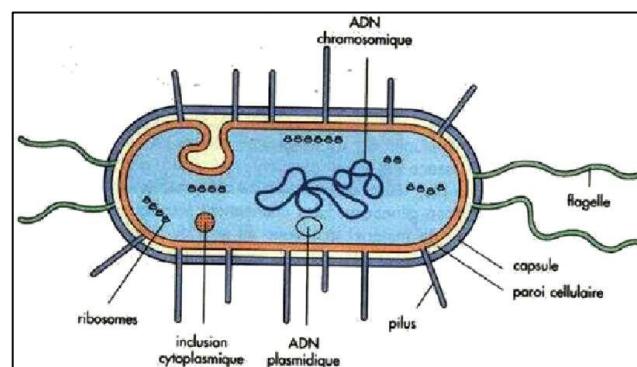


Figure 31: Structure d'une cellule bactérienne (Hart et Shears ,1997).

3) Mécanismes de défense contre les bactéries

Dès la naissance, l'homme entre en contact avec des bactéries qui colonisent progressivement son revêtement cutané-muqueux. Pour résister à ces bactéries, divers moyens sont déployés. On peut les regrouper en trois catégories : les barrières anatomiques (la peau et les muqueuses), les mécanismes de résistance naturelle (ou innés), et l'immunité acquise. Les défenses contre les bactéries reposent d'abord sur les barrières cutané-muqueuses, puis sur les mécanismes naturels qui impliquent des récepteurs solubles (comme le complément) et membranaires, capables de reconnaître des motifs spécifiques souvent présents sur les bactéries. Ces mécanismes permettent de recruter et d'activer les cellules phagocytaires. L'immunité acquise, qui se développe plus tard, fait intervenir des récepteurs clonaux sur les lymphocytes. Elle se manifeste par la production d'anticorps (efficace surtout contre les pathogènes extracellulaires) et une réponse cellulaire (efficace contre les pathogènes intracellulaires). L'immunité acquise possède une mémoire, une propriété fondamentale pour la vaccination (Kaufmann, 1997 ; Sendl et al., 1992).

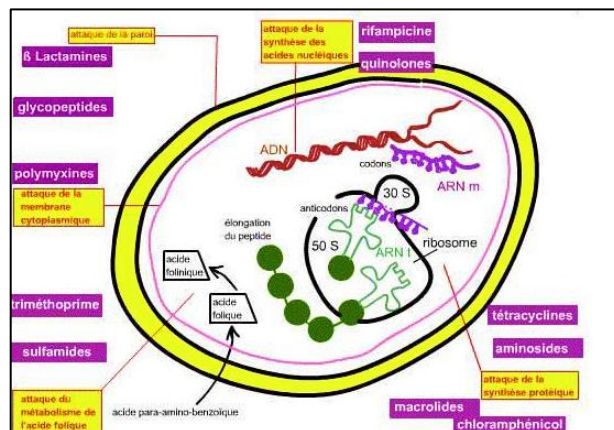


Figure 32: Différents modes d'action des antibiotiques (Lavigne, 2007).

I.13.1.2 Les antibiotiques

Un antibiotique est défini comme toute substance chimique produite par des micro-organismes capable d'inhiber ou de détruire les bactéries et autres micro-organismes. L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre d'action. Plus un antibiotique détruit de types de bactéries différents, plus son spectre est large (Mehdi, 2008).

Il existe deux catégories d'antibiotiques : les antibiotiques à effet bactériostatique, qui inhibent la croissance bactérienne en ralentissant puis en arrêtant la multiplication des bactéries, et les antibiotiques bactéricides, qui détruisent les bactéries en les lisant (Boulahbal, 2002).

Mode d'action des antibiotiques :

Les antibiotiques entravent spécifiquement les processus métaboliques essentiels des bactéries sensibles, arrêtant ainsi leur croissance, souvent de manière temporaire (effet bactériostatique) mais parfois de manière permanente (effet bactéricide).

Il existe plusieurs types d'antibiotiques, chacun agissant selon des mécanismes différents :

- Les antibiotiques qui modifient la perméabilité de la membrane plasmique.
- Les antibiotiques qui inhibent la synthèse des protéines.
- Les antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne.
- Les antibiotiques qui agissent sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs (Meziani, 2012 ; Mammeri et Amiens, 2013).

I.13.2 Les bactéries étudiées et leurs rôle pathologiques

I.13.2.1 Bactéries gram négatives

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie Gram-négative, en forme de bâtonnet, asporogène et monoflagellée. Elle a une apparence nacré et dégage une odeur semblable à celle du raisin ou de la tortilla. *P. aeruginosa* se développe bien à des températures allant de 25°C à 37°C, et sa capacité à croître à 42°C permet de la distinguer de nombreuses autres espèces de *Pseudomonas*. *P. aeruginosa* est un microorganisme omniprésent capable de survivre dans une variété de conditions environnementales. Elle cause non seulement des maladies chez les plantes et les animaux, mais aussi chez les humains, entraînant des infections graves chez les patients immunodéprimés atteints de cancer et chez les patients souffrant de brûlures sévères et de fibrose kystique (FK) (Wu et al., 2015)

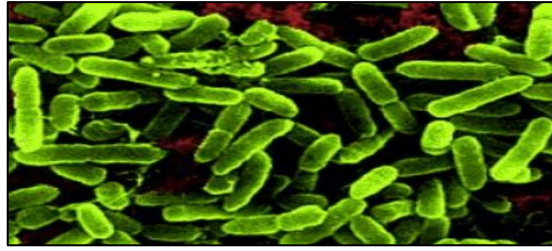


Figure 33: Le *Pseudomonas aeruginosa* sous le microscope électronique (Elmeskini, 2011).

Escherichia coli

En 1885, Theodore Escherich, un scientifique allemand, a identifié pour la première fois une espèce de bactérie présente dans les excréments de nourrissons nourris exclusivement au lait maternel, qu'il a nommée *Bacterium coli* commun. En 1919, Castellani et Chambert ont rendu hommage à Escherich en rebaptisant cette bactérie *Escherichia coli* (Avril, 2000).

Escherichia coli, un bacille à gram négatif et non sporulé (Patrick et al., 1988), est généralement mobile grâce à la présence de flagelles. Ses dimensions varient entre 2 et 6 μm de longueur et entre 1,1 et 1,5 μm de largeur (Percival et al., 2004). C'est l'agent infectieux le plus courant parmi les isolats cliniques responsables d'infections chez l'homme. Certaines souches d'*Escherichia coli* se distinguent par leur résistance à plusieurs antibiotiques, ce qui est désigné sous le terme de multirésistance. Cette résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui un problème majeur de santé publique, notamment en milieu hospitalier (Liazid, 2012).

Présente principalement dans le tractus gastro-intestinal humain et animal, certaines souches d'*E. Coli* sont virulentes et peuvent déclencher des infections digestives, urinaires ou méningées chez l'homme et certains animaux. D'autres souches, faisant partie de la flore commensale, peuvent entraîner des infections opportunistes, surtout chez les individus immunodéprimés (Patrick et al., 1988).

De nombreuses études corroborent le rôle pathogène de cette bactérie dans les infections intestinales des nouveau-nés, ainsi que dans divers troubles touchant diverses espèces animales, en particulier les volailles, qui ont été l'objet de recherches approfondies (Fedde, 1998).

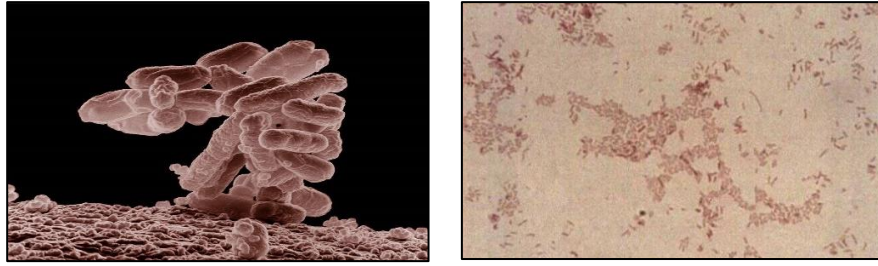


Figure 34: *Escherichia Coli* sous microscope électronique (Haouzi ,2013 ; Eudier, 2011).

I.13.2.2 Bactérie a gram positive

Staphylococcus aureus

Ainsi, en 1878, Robert Koch en Allemagne et Louis Pasteur en 1880 en France observent des amas de cocci dans des échantillons de pus d'origine humaine (provenant de furoncles et d'ostéomyélites). La même année, en Écosse, Alexander Ogston propose le terme "Staphylococcus" (staphylê : grappe et kokkos : grain) pour désigner ces bactéries qui se regroupent en amas irréguliers ressemblant à une grappe de raisin (Hennekinne ,2009).

En 1884, le chirurgien allemand Anton J. Rosenbach identifia deux souches distinctes de Staphylocoques, qu'il nomma en fonction de la couleur de leurs colonies : *S. aureus* (dorées) et *S. albus* (blanches) (Hill, 1981).

Selon la deuxième édition du "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", le *Staphylococcus aureus* est classé parmi les bactéries à Gram positif (Garritty et al., 2007).

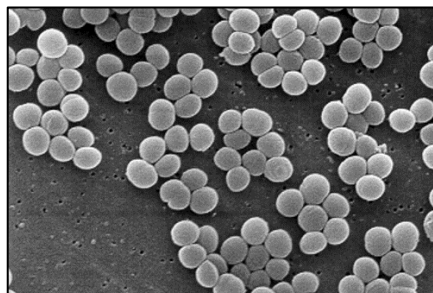


Figure 35: Image MEB de *Staphylococcus aureus* (Mungkalasiri, 2009).

Bacillus cereus

Les espèces du genre *Bacillus* sont de grands bacilles droits, aux extrémités carrées ou arrondies, de tailles variées (allant de 0,5 x 1,2 µm à 2,5 x 10 µm). Elles sont sporulées et présentent une coloration GRAM positive ou variable (souvent positive uniquement dans les cultures très jeunes). Ces bacilles sont généralement mobiles grâce à une ciliature pérित्रiche, bien que certaines espèces, comme *Bacillus mycoides*, soient immobiles (Camille, 2014).

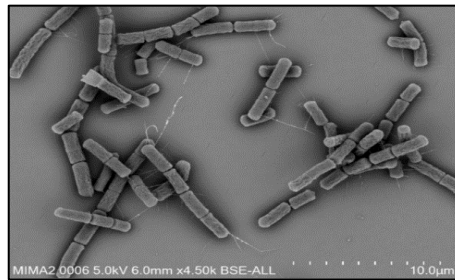


Figure 36: Les cellules de *B. cereus* obtenus par microscopie électronique à balayage (Ramarao et al., 2020).

Partie 2

Étude expérimentale



Chapitre I

Matériel et méthodes



Matériel et méthode

I.14 Matériel végétale

Notre travail a porté sur le screening phytochimique de plante médicinale : *Papaver rhoeas* L. et ainsi que le dosage des polyphénols totaux et l'évaluation de leurs activités antibactérienne, antioxydante

Cette étude a été réalisée au sein des laboratoires pédagogiques du département des Sciences biologiques et agricoles du Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila.

Dans cette étude nous nous sommes intéressés aux parties aériennes du coquelicot rouge à savoir les feuilles.

Il s'agit des fleurs de *Papaver rhoeas* L. : récoltées au mois de Avril 2024 au niveau de la zone de Boufouh - wilaya de Mila, cette dernière est caractérisée par un climat ensoleillé et nuageux et qui a pour coordonnées géographiques 36°28'24 latitude Nord et 6°12'50 longitude Est, et une altitude de 505.06 m.



Figure 37: Le coquelicot (*Papaver rhoeas* L.) (photo personnelle, 2024).

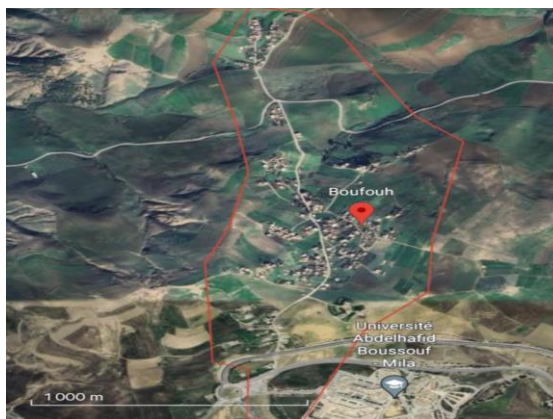


Figure 38: Localisation géographique du lieu de la récolte (**Google Earth**)

I.15 Matériels de laboratoires

L'ensemble des matériels et produits utilisés dans cette étude est dans cette tableaux :

Appareils	Balance, Balance de précision 0.001g, bain-marie, étuve, spectrophotomètre visible, rota vapeur, bec benzène, vortex, autoclave, congélateur, agitateur
Verreries et Petits matériels	Béchers, fioles, éprouvettes graduées, entonnoirs, boîte de pétrie, pipette pasteur, pipettes graduées, erlenmeyers, verre de montre, tubes à essais, papier filtre, couteau, spatule, anse, pince, portoir, papier aluminium, ballon.
Réactifs et produits chimiques	Eau distillée, Méthanol, Ethanol, Chloroforme, Ether de pétrole , Acide gallique , Acide ascorbique , Folin-Ciocaltau , Iodure de potassium , Iode , acide chlorhydrique (HCl) ,Hydroxyde d'ammonium , l'éther d'éthylque , chlorure ferrique (FeCl3) , liqueur de Fehling , KOH , NaOH , NH ₄ OH , H ₂ SO ₄ , NH ₄ OH , anhydride acétique , carbonate de sodium ,Na ₂ CO ₃ ,CuSO ₄ ,wagner,ammoniaque ,muller hintgton , acéton ,DPPH.

I.16 Préparation du matériel végétal

Le matériel végétal est rincé avec l'eau distillée pour enlever la poussière et toutes autres particules contaminants puis sécher à l'air libre à l'abri de la lumière. Nous conservons Feuilles après séchage dans des flacons en verre à l'abri de la lumière et de l'humidité Au congélateur jusqu'à l'utilisation.

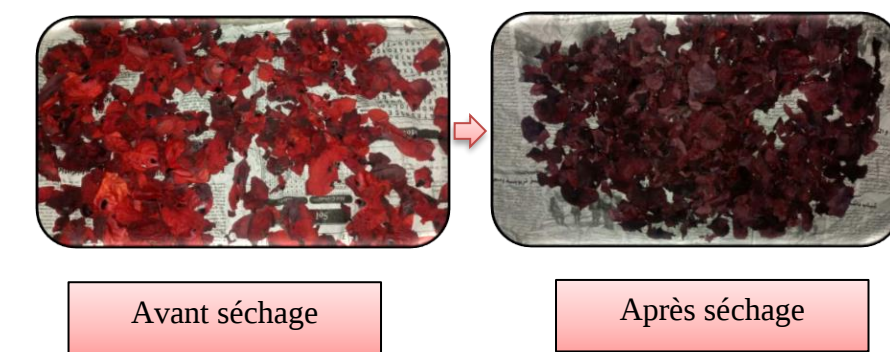


Figure 39: Les fleurs de *Papaver rhoeas* L. avant et après séchage.
(Photo personnelle, 2024).

I.17 Extraction des molécules chimique (Macération)

L'extraction a été réalisée au niveau des laboratoires de biologie du Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf (Mila). Les composés chimiques ont été extraits à partir d'un échantillon sec.

a) Principe

La macération a été utilisé comme méthode d'extraction. Est une méthode conventionnelle fréquemment utilisée dans l'extraction des composés bioactifs. Celle-ci se base sur le prolongement de la matière végétale dans un solvant à une température ambiante, ainsi que le temps requis par l'expérience. Cette étape vise à extraire le maximum des molécules chimiques existante dans la plante, pour cela on utilise des solvants organiques qui accélèrent l'extraction et augmentent le rendement.

La méthode implique de secouer l'échantillon dans un contenant fermé contenant un solvant, puis de le laisser reposer à température ambiante pendant au moins 3 jours avec des secousses régulières. Après cette période, le mélange est ensuite soumis à une pression ou à une filtration.

b) Préparation de l'extrait éthanolique

Pour préparer, on a macéré 5g de matière végétale dans 100ml d'éthanol avec agitation mécanique à température ambiante pendant 3 jours. Ensuite, on a filtré le produit avec du papier filtre de type Whatman. L'extrait filtré est évaporé à l'aide d'un rotavap sous vide. Une fois évaporé, l'extrait est récupéré dans des boîtes de Pétri en verre et conservé au réfrigérateur jusqu'à son utilisation.

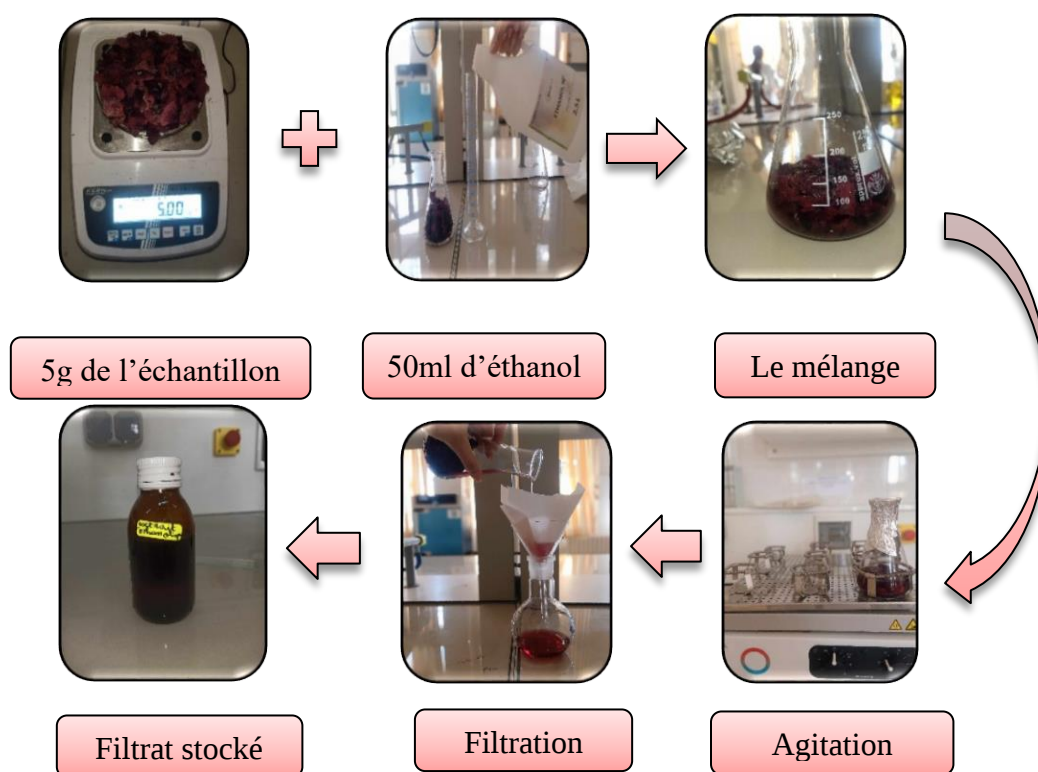


Figure 40: Différentes étapes de préparation de l'extrait éthanolique de *Papaver rhoeas* L. (photo personnelle, 2024)

c) Préparation de l'extrait méthanolique

Pour préparer l'extrait méthanolique, mettez 1g de matière végétale dans un erlenmeyer et ajoutez un mélange de méthanol et d'eau distillée (70/30) (V/V) tout en agitant mécaniquement à température ambiante pendant 3 jours. Ensuite, filtrez le produit obtenu à travers un papier filtre. L'extrait filtré est évaporé à l'aide d'un rotavap sous vide. Une fois évaporé, l'extrait est récupéré dans des boîtes de Pétri en verre et conservé au réfrigérateur jusqu'à son utilisation (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

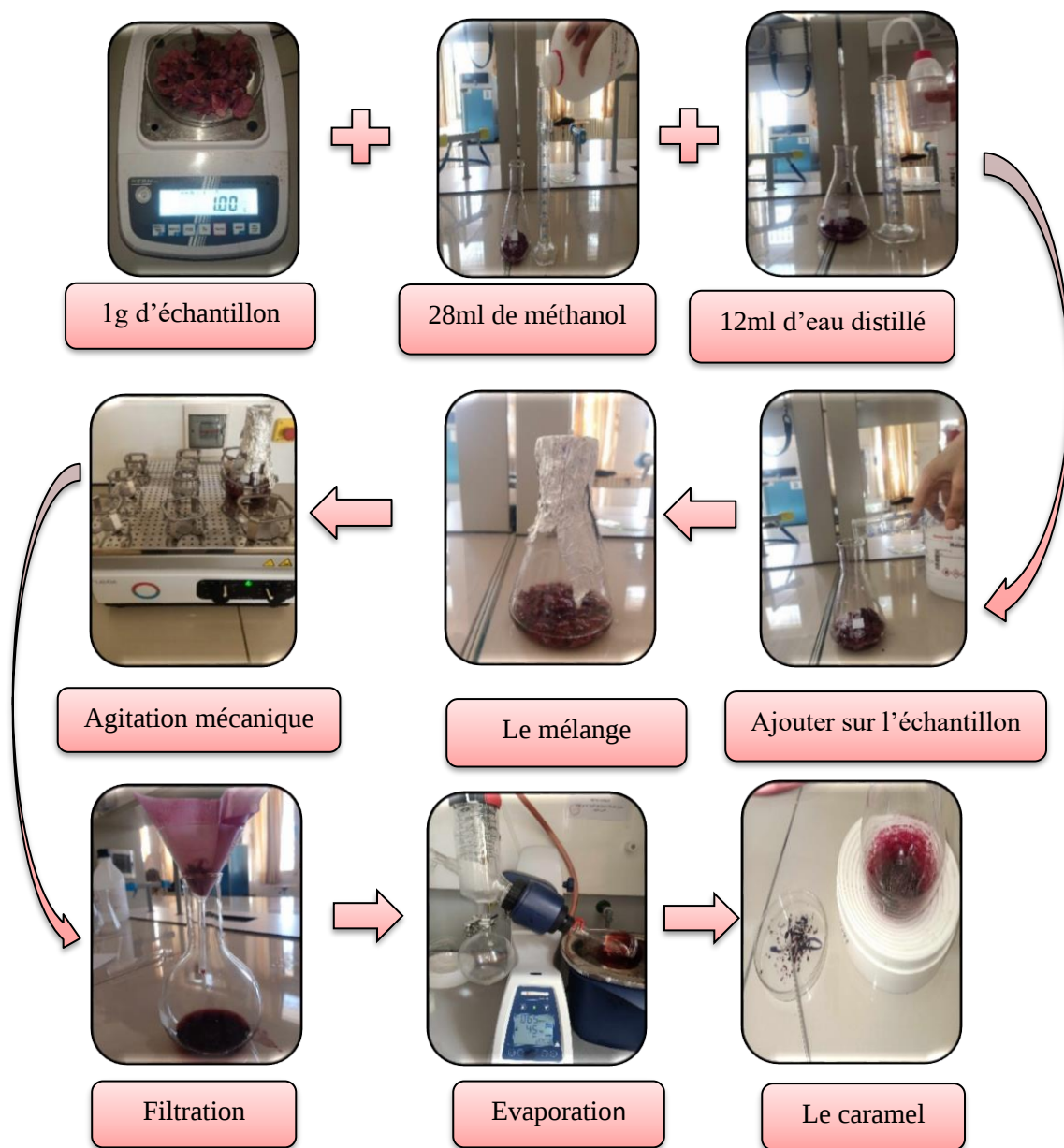


Figure 41: Différentes étapes de préparation de l'extrait méthanolique de *Papaver rhoeas* L. (photo personnelle, 2024).

d) Préparation de l'extrait aqueux

Dans un erlenmeyer, faire macérer 5g de matière végétal dans 50 ml d'eau distillée en agitant mécaniquement à température ambiante pendant 24 heures. Filtrer la solution obtenue à travers un papier filtre de Whatman. Évaporer le filtrat dans une étuve à 40 °C pour éliminer l'eau. Ensuite, le conserver dans un flacon en verre hermétiquement fermé et le stocker à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

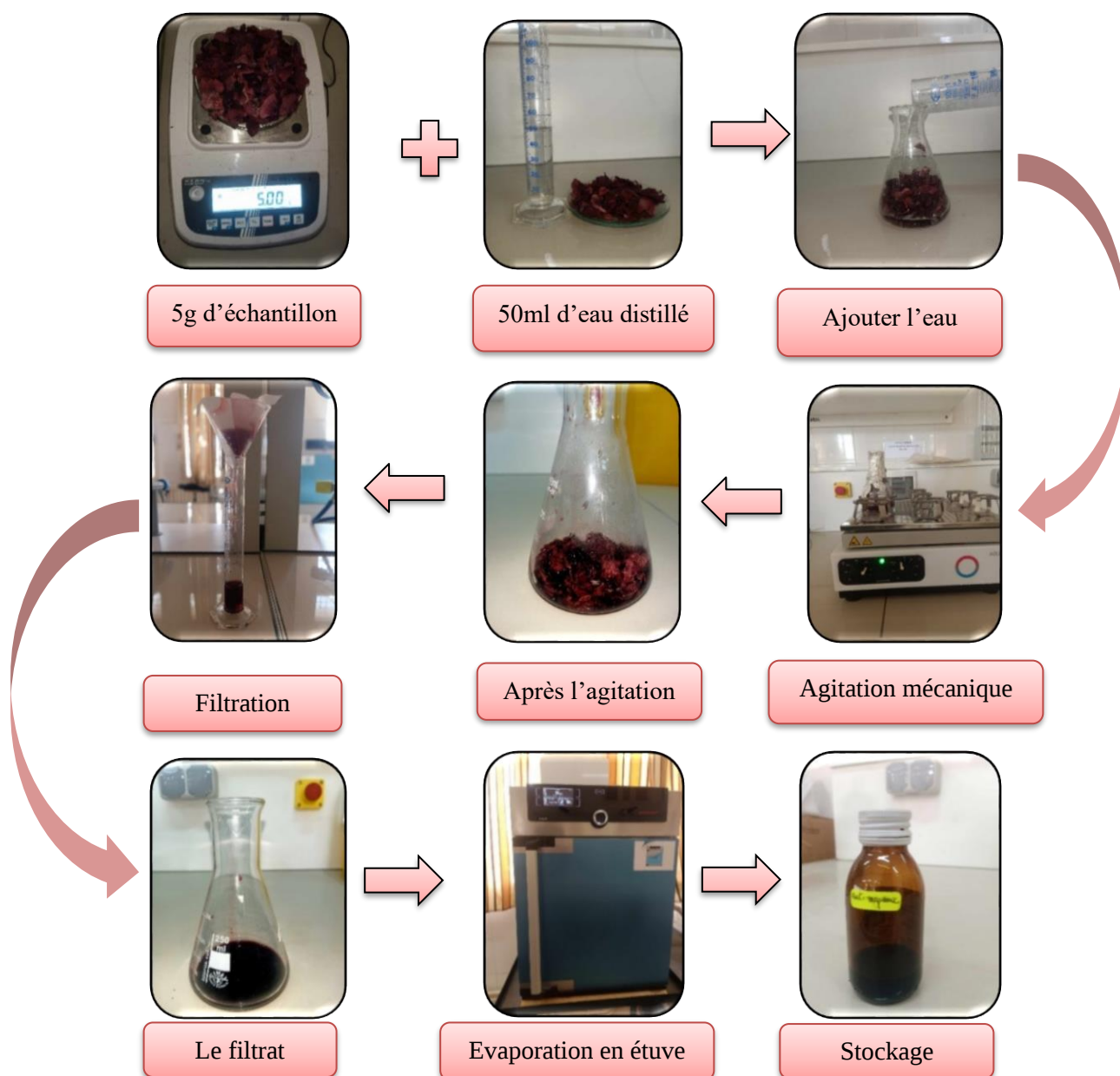


Figure 42: Différentes étapes de préparation de l'extrait aqueuse de *Papaver rhoeas* L. (photo personnelle, 2024)

e) Préparation de l'extrait Chloroformique

Une quantité de 1g de matière végétale a été combinée avec 10ml de chloroforme. Ensuite, le mélange a été chauffé délicatement au bain-marie pendant 3 minutes. Après une filtration à chaud, le volume a été ajusté à 10 ml.

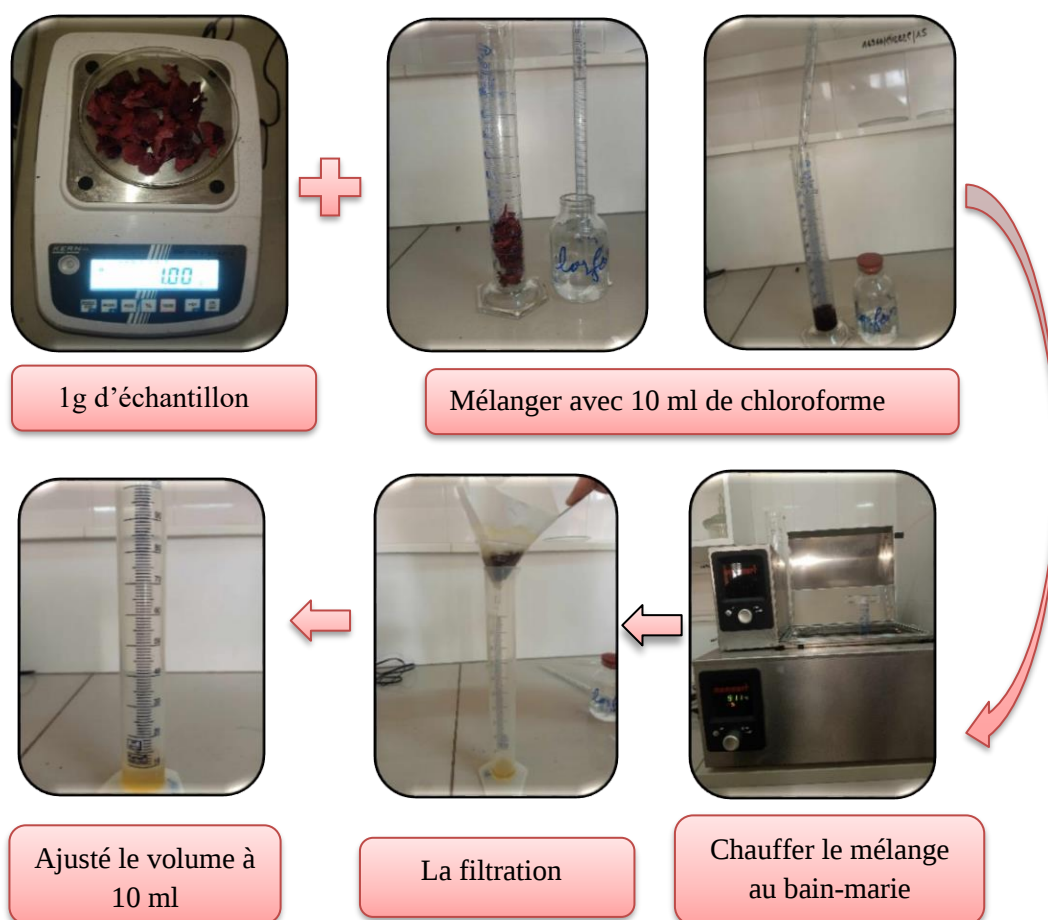


Figure 43: Les étapes de préparation d'extract Chloroformique (photo personnelle, 2024).

Analyse qualitative (screening phytochimique)

Le screening phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives qui permettent d'identifier les différents groupes de substances chimiques présentes dans les organes végétaux. Ce sont des réactions physico-chimiques qui déterminent la présence de substances chimiques (Lendvai et al., 2003).

Au sein du laboratoire du Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila, des tests d'analyses qualitatives ont été réalisés sur la plante étudiée.

Les tests phytochimiques comprenant les lipides, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins, les anthocyanes, les quinones, les stéroïdes, les stérols, les coumarines, les anthraquinones libres et les sucres réducteurs ont été réalisés en employant diverses méthodes chimiques. Ces tests permettent de déceler la présence ou l'absence de différents groupes chimiques dans toutes les parties de la plante grâce à des réactions de

précipitation ou de coloration, utilisant des réactifs spécifiques adaptés à chaque famille chimique particulière.

I.18 Caractéristiques des éléments nutritifs (métabolite primaire)

❖ Test des protéines

La présence de protéines est détectée grâce à la réaction du Biuret. Dans un tube à essai, 1 g de poudre végétale est mélangé à 2 ml de solution aqueuse de NaOH à 20%. À cette solution sont ajoutées 2 à 3 gouttes d'une solution aqueuse de CuSO₄ à 2%. L'observation d'une coloration violette, parfois légèrement rougeâtre, confirme la réaction positive (**Bekro et al., 2007**).

➤ Test des lipides

10g de matière végétale ont été trempés dans 30ml d'éther de pétrole pendant une demi-heure. La solution résultante a été filtrée et l'évaporat filtré sur une plaque chauffante. Ensuite, 3 gouttes d'H₂SO₄ ont été ajoutées au résidu huileux. La présence de lipides est confirmée par une coloration violette (**Afaq et al., 2005**).

I.19 Caractéristiques des métabolites secondaires

I.19.1 Identification des groupes chimiques à partir de l'extrait éthanolique

➤ Détection des flavonoïdes

Dans un tube à essai, versez 5 ml de l'extrait éthanolique, puis ajoutez quelques gouttes d'HCl et quelques copeaux de magnésium (Mg). La présence de flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une coloration rose ou rouge (**Trease et WC, 1987**).

➤ Détection des alcaloïdes

Effectuer rapidement un essai avec le réactif de Wagner en ajoutant 1 ml d'extrait dans un tube à essai, suivi de quelques gouttes du réactif. La formation d'un précipité rouge-orangé ou brun rougeâtre confirme un résultat positif (**Vijay et al., 2013**).

➤ Détection des coumarines

Mélanger 20g de matière végétal dans 40 ml d'éthanol pendant 2 à 3 heures. Après macération et filtration, ajouter 5ml de KOH (10 %) et 5 ml d'HCl (10 %) à 5ml du filtrat. La présence de coumarines est indiquée par des précipités rouge-brun (**Trease et WC, 1987**).

➤ **Détection des glycosides**

1ml d'extrait brut est mélangé avec 2ml d'eau distillée et chauffé à 70°C dans un bain-marie avec l'ajout de 20 gouttes de liqueur de Fehling. Un test positif est indiqué par l'apparition d'un précipité rouge brique (**Trease et WC, 1987**).

➤ **Détection des stérols**

Mettre 5 ml d'extrait éthanolique à analyser dans un bécher, puis ajouter 5 ml d'anhydride acétique, 5 ml de chloroforme et 1 ml d'acide sulfurique concentré le long de la paroi sans agitation. Laisser reposer pendant 20 minutes. La présence de stérols est indiquée par la formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des liquides et une coloration violette de la couche supérieure (**Trease et WC, 1987**).

I.19.2 Identification des groupes chimique à partir de l'extrait aqueux

➤ **Détection des tanins**

Les tannins, qu'ils soient hydrolysables (galliques et ellagiques) ou non hydrolysables (catéchiques), sont des polymères de polyphénols. On peut les détecter en ajoutant 2 à 3 gouttes d'une solution de chlorure ferrique FeCl_3 1% à 1 ml d'extrait d'alcool mélangé à 2 ml d'eau distillée : une coloration bleu-noir indique la présence de tanins galliques, tandis qu'une coloration brun verdâtre indique la présence de tanins catéchiques (**Trease et WC, 1987 ; Dohou et al., 2003**).

➤ **Détection des saponosides**

Faites tremper 2g de matière végétale de notre plante dans 80ml d'eau distillée pendant quelques minutes, puis filtrez et agitez. La présence de mousse persistante dans le liquide indique la présence de saponines (**Kalla et Belkacemi, 2017**).

➤ **Détection des stéroïdes**

On verse 5 ml d'anhydride acétique et 5 ml de l'extrait dans un bécher, puis on transfère ce mélange dans un tube à essai où l'on ajoute 0,5 ml de H_2SO_4 concentré. L'observation d'une coloration violette suivie d'un changement progressif vers le bleu puis le vert signale une réaction (**Harborne, 1998**).

➤ **Détection des anthocyanes**

On mélange 5 ml d'extrait aqueux avec 5 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) pour créer un milieu acide, et avec 5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) pour obtenir un milieu

basique. La présence d'anthocyanes est révélée par une coloration rouge en milieu acide et bleu violacé en milieu basique (**Mibindzou, 2004**).

I.19.3 Identification des groupes chimique à partir de l'extrait Méthanolique

➤ Détection des terpénoïdes

Dans un tube à essai, on a ajouté 2,5 ml d'extrait de méthanol, 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré. La présence de terpénoïdes est confirmée par l'apparition d'un anneau brun rougeâtre en interphase (**Trease et WC, 1987**).

1) Identification des groupes chimiques à partir d'extrait Chloroformique

➤ Détection des anthraquinones libres

Ajouter 1 ml de la solution extractive à 1 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) dans un tube à essai, puis agiter. Une coloration rouge plus ou moins intense signale la présence d'anthraquinones libres (**Diallo, 2000**).

➤ Détection des quinones

2 g de la poudre dans un bécher contenant 2 ml d'acide chlorhydrique et 2 ml de chloroforme pendant trois heures. Le filtrat a été mélangé avec 5 ml d'ammoniaque. La présence de quinones est indiquée par une coloration rouge (**Afaq et al., 2005**).

I.19.4 Rendement de l'extrait brut

Le rendement de l'extrait brut est défini comme le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse de la matière végétale traitée.

- La formule donnée par **Harborne, 1998** permet de calculer le rendement d'extraction :

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

- **R%** = Rendement en %
- **Me** =Masse de l'extrait après évaporation du solvant
- **Mv** =Masse de la matière végétale utilisé pour l'extraction.

Analyse quantitative

I.20 Détermination des polyphénols totaux (PPT) par colorimétrie (méthode de Folin- Ciocalteu)

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé dans les laboratoires de biologie des laboratoires du Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf (Mila).

L'analyse quantitative des polyphénols a été réalisée par spectrophotométrie selon la méthode Folin-Ciocalteu (**Škerget et al., 2005**), par extraits méthanolique de *Papaver rhoeas* L.

a) Principe

Les polyphénols sont quantifiés par spectrophotométrie à l'aide de la méthode de Folin-Ciocalteu. Ce réactif jaune contient un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Lorsque les polyphénols s'oxydent, ils réduisent ce réactif en un complexe bleu composé d'oxyde de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}), dont l'absorption maximale se situe autour de 765 nm. L'intensité de cette coloration bleue est proportionnelle à la concentration des composés phénoliques dans l'échantillon (**Youla et Latrous., 2017**).

Le phénol standard utilisé dans cette méthode est l'acide gallique.

b) Mode opératoire

La méthode de Folin-Ciocalteu a été employée pour évaluer la concentration totale en composés phénoliques, tel que décrit par **Heimler et al., (2005)**. Dans cette méthode, 0.5 ml d'eau distillée et 125 μ l du réactif de Folin-Ciocalteu ont été combinés avec 125 μ l d'extrait d'échantillon. Après 6 minutes de repos, 1.25 ml d'une solution aqueuse de Na_2CO_3 à 7% a été ajoutée, puis le mélange a été ajusté à un volume final de 3 ml avec de l'eau distillée. Après un repos de 90 minutes, l'absorption a été mesurée à 760 nm par rapport à de l'eau pure comme blanc. La concentration des composés phénoliques totaux a été calculée en équivalents d'acide gallique (mg d'acide gallique/g d'échantillon) en se basant sur une courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

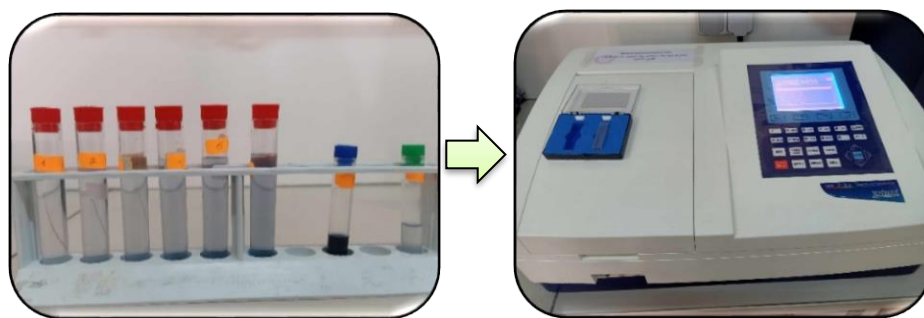


Figure 44: La mesure de la dilution de solution mère par spectrophotométrie (photo personnelle, 2024).

c) Préparation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Le test de Folin-Ciocalteu a été ajusté pour évaluer les polyphénols totaux des échantillons, avec des ajustements comprenant l'utilisation de 0.3 ml de solution de Folin-Ciocalteu, 2 ml de solution de Na_2CO_3 à 7%, une température de réaction de 30°C , et une durée de réaction de 90 minutes.

29,42 milligrammes d'acide gallique ont été soigneusement pesés et dissous dans de l'eau distillée dans des fioles jaugées de 100 ml. Des volumes de 0 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,15 ; 0,2 ; 0,25 et 0,3 ml de cette solution ont été prélevés et placés dans des flacons volumétriques de 10 ml respectifs. Chaque flacon a été complété à 10 ml avec de l'eau distillée. Ensuite, l'absorbance de la solution réactionnelle à 760 nm a été mesurée et soustraite du blanc réactif (Heimler et al., 2005 ; Mag et al., 2012).

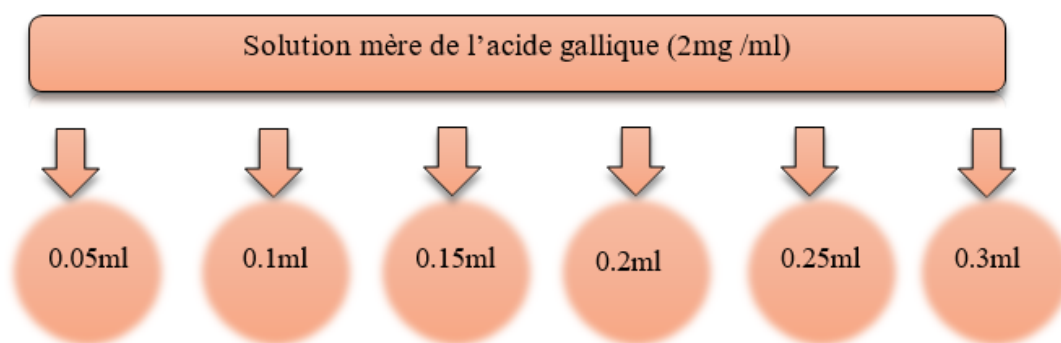


Figure 45: Dilution de la solution mère de l'acide gallique.

200 microlitres d'une solution d'acide gallique (à une concentration de 2 mg/ml) ont été mélangés avec 1 millilitre de réactif Folin-Ciocalteu (à 10%) dilué dans de l'eau et 800 microlitres de carbonate de sodium à 7,5% (Na_2CO_3) dans un tube à essai. Après

agitation et un délai de 2 heures, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (Haddouchi et al., 2014).

Activités biologiques

I.21 Etude de l'activité antioxydante

I.21.1 Étude de l'Activité anti-radicalaire (DPPH)

a) Principe

La méthode la plus utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydant, c'est la méthode de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle).

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle, également connu sous le nom de DPPH, a été l'un des premiers radicaux libres utilisés pour examiner comment la structure affecte l'activité antioxydant des composés phénoliques (Blois, 1958 ; Brand-William, 1995). Il contient un électron non apparié sur un atome d'azote, ce qui lui permet de rester sous forme monomérique à température ambiante en raison de la délocalisation de ce radical, évitant ainsi la formation de dimères.

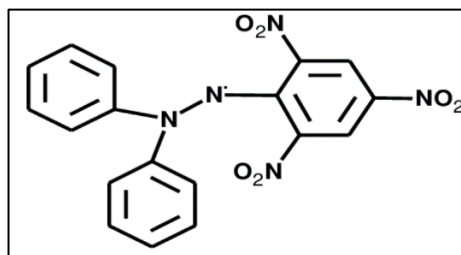
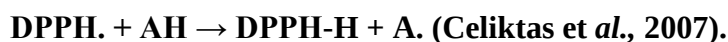


Figure 46: Structure chimique du radical libre DPPH (2,2 DiPhényl-1-Picryl-Hydrazyle) (Popovici et al., 2009).

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre stable employé pour évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques. Ce composé possède un électron non apparié sur un atome d'azote du pont N-N (Bentabet et al., 2014). En présence de piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) de couleur violette est réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune (Tepe et al., 2005). L'absorbance est mesurée à 517 nm. Ce radical est un oxydant pouvant être réduit par un antioxydant (AH) selon la réaction suivante :



La figure suivante montre le mécanisme de réduction du radical DPPH :

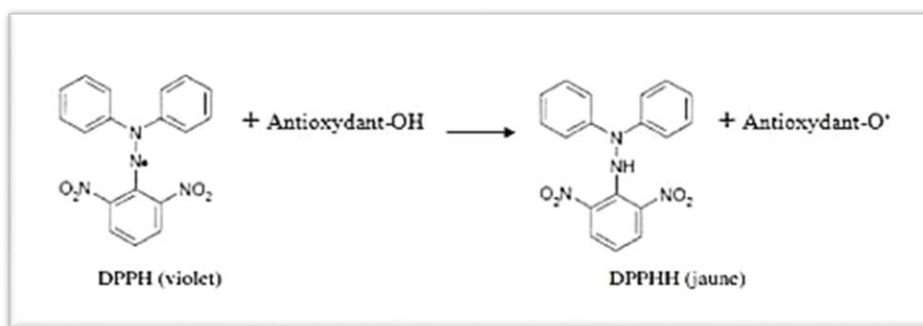


Figure 47: Equation du radical DPPH transformé en DPPH (Talbi et al., 2015).

b) Préparation de la solution DPPH

On prépare la solution DPPH ($C=0.025\text{g/l}$), dans un erlenmeyer, on mélange 1,2 mg de DPPH ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$, Mr : 394,33) dans 50ml de méthanol

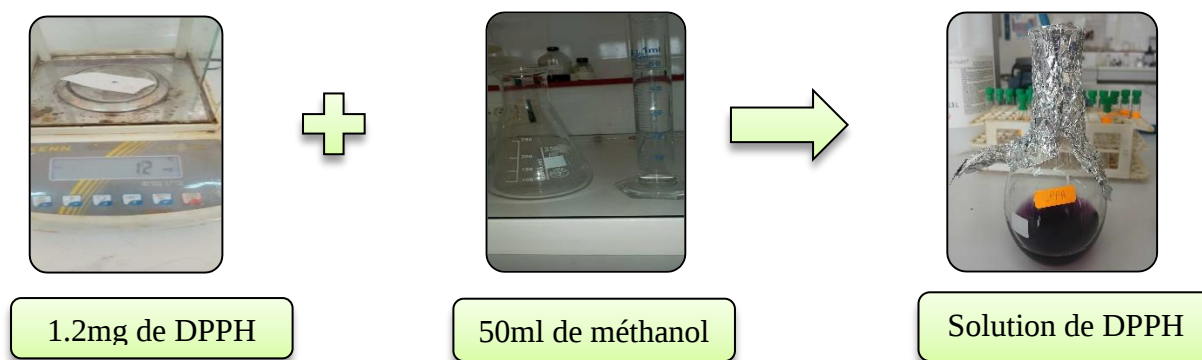


Figure 48: Préparation de la solution DPPH (photo personnelle, 2024).

La solution mère de l'extrait est préparée, et différentes concentration des échantillons à tester sont préparées dans du méthanol.

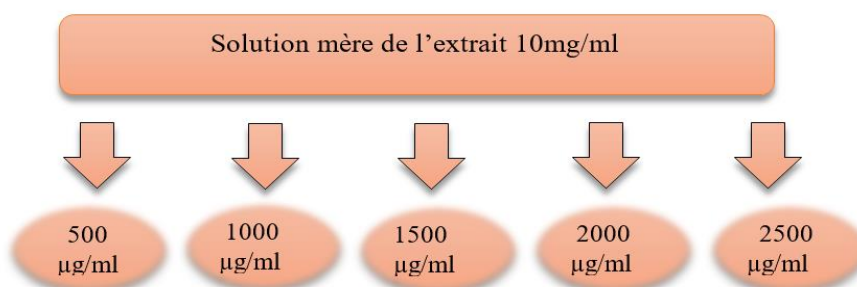


Figure 49: Dilution de la solution mère de l'extrait.

On prend 50µl d'extrait de chaque concentration et ajouter 1950µl de solution de DPPH, chaque échantillon avec son blanc spécifique, dans le blanc on remplace le DPPH par le méthanol (**Haddouchi et al., 2014**).

- **L'échantillon :** 50µl de l'extrait +1950µl de DPPH.
- **Le blanc :** 50µl de l'extrait +1950µl de méthanol.
- **Contrôle :** 50µl de méthanol +1950µl de DPPH.

Les mélanges ont été incubés pendant une heure dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance des échantillons a été mesurée à une longueur d'onde de $\lambda=517$ nm à l'aide d'un Spectrophotomètre.

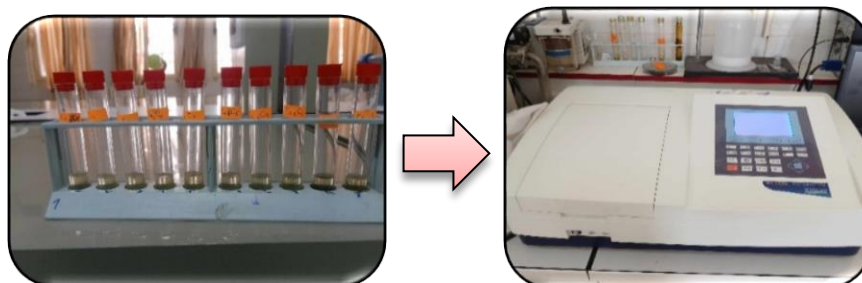


Figure 50: La mesure de la dilution de solution mère par spectrophotométrie (**photo personnelle,2024**).

L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$A.A \% = \frac{\text{Abs (contrôle)} - \text{Abs (échantillon)}}{\text{Abs (contrôle)}} \times 100$$

- **A.A% :** L'ACTIVITE ANTI-RADICAL %
- **ABS (CONTROLE) :** L'ABSORBANCE DE CONTROLE
- **Abs (échantillon) :** L'absorbance de l'échantillon.

c) Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique :**➤ Mode opératoire :**

Nous pesons 2 mg d'acide ascorbique, puis le diluons dans 1 ml de méthanol pour créer une solution mère. Ensuite, différentes concentrations des échantillons à tester sont préparées dans le méthanol, comme illustré dans le schéma suivant :

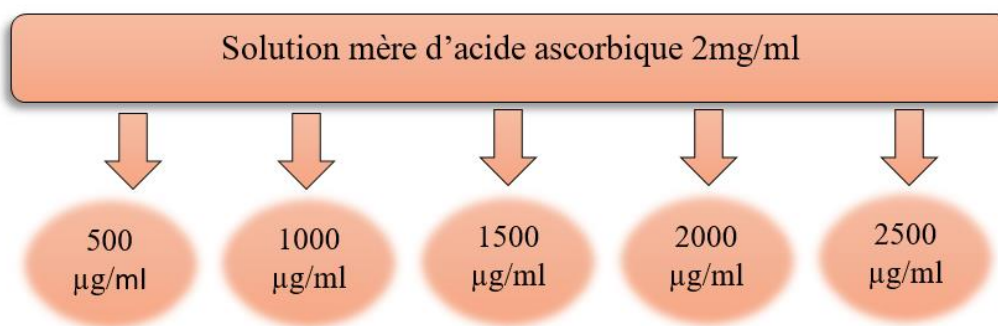


Figure 51: Dilution de la solution mère de l'acide ascorbique.

Nous prélevons 50 µl d'acide ascorbique à chaque concentration, auxquels nous ajoutons 1950 µl de solution DPPH. Chaque échantillon est associé à son propre blanc, où le DPPH est remplacé par du méthanol (**Haddouchi et al., 2014**).

- **L'échantillon :** 50µl de l'acide ascorbique +1950µl de DPPH.
- **Le blanc :** 50µl de l'acide ascorbique+1950µl de Méthanol.

Les échantillons ont été laissés à reposer dans l'obscurité à température ambiante pendant une heure, puis les absorbances ont été mesurées à une longueur d'onde de 517 nm ($\lambda=517$ nm).

NB :

- Chaque échantillon a été analysé trois fois, avec un blanc spécifique pour chacun
- Toutes les opérations ont été réalisées dans des conditions de faible luminosité ou dans l'obscurité.
- Les échantillons ont été agités en utilisant le vortex.

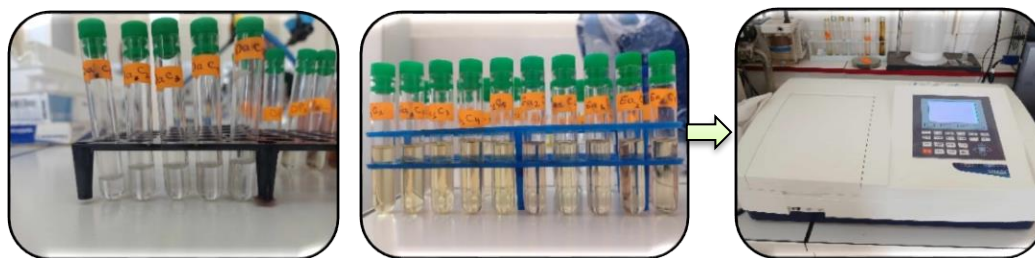


Figure 52: La mesure de la dilution d'acide ascorbique par spectrophotométrie (**Photo personnelle, 2024**).

➤ Concentration inhibitrice de 50 %

L'IC₅₀, ou concentration inhibitrice de 50 % (ou EC₅₀ pour concentration efficace à 50 %), représente la quantité de l'échantillon examiné nécessaire pour réduire de moitié la concentration de radical DPPH. Ces valeurs sont obtenues par régression linéaire à partir des graphiques représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des diverses concentrations des fractions testées (**Bertoncelj et al., 2007 ; Marxen et al., 2007 ; Scherer et Godoy, 2009; Fabri et al., 2009**).

I.22 Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de *Papaver Rhoeas* L in vitro vis à-vis des différentes souches bactériennes (*Staphylocoque aureus* (6538ATCC), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) *Bacillus cereus* (ATCC 6633)) a été réalisée par la méthode de diffusion de disque où les disques sont imbibés de 10 µl de chaque extrait (**Sökmen et al., 2004**). Dans le laboratoire pédagogique du centre universitaire Mila.

➤ Méthode de diffusion des disques

La méthode de diffusion sur disque est souvent utilisée comme première étape d'analyse pour évaluer l'activité antibactérienne, avant d'utiliser des méthodes plus détaillées. Cette méthode implique des paramètres variables tels que le volume de liquide appliqué sur les disques de papier, l'épaisseur de la couche de gélose, et l'utilisation éventuelle d'un solvant, ces paramètres variant considérablement d'une étude à l'autre (**Manou et al., 1998 ; Burt, 2004**). Pour évaluer l'activité antibactérienne de nos extraits, nous mesurons le diamètre de la zone d'inhibition (en mm) autour des disques contenant l'extrait testé contre les germes pathogènes après une incubation de 24 heures à 37°C.

➤ **Le principe :**

Cette méthode implique l'utilisation d'un disque de papier imprégné d'extrait à diverses concentrations, placé sur une gélose préalablement ensemencée avec le germe à tester. La croissance bactérienne est inhibée à une certaine distance du disque en fonction de sa sensibilité à l'extrait diffusé. La limite de cette zone d'inhibition est repérée visuellement, correspondant à l'endroit où la croissance bactérienne commence (**Messiaen et Cassini, 1981**).

La zone d'inhibition est interprétée en se référant à une règle basée sur les diamètres indiqués dans un tableau, permettant de classer les germes comme sensibles, intermédiaires ou résistants (**Biondi et al., 1993**).

Cette méthode est considérée comme étant fiable et reproductible. Elle joue un rôle crucial en tant qu'étape préliminaire pour des études approfondies, en fournissant des résultats principalement qualitatifs (**Dima, 2016**). De plus, elle permet de mettre en lumière l'effet antimicrobien des composés phénoliques et d'évaluer la résistance ainsi que la sensibilité des souches microbiennes (**Amara et Boughérara, 2017**).

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

Le milieu de culture optimal pour cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé de la manière suivante : Dissoudre 38 g de gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée, puis chauffer la solution à 100 °C jusqu'à ébullition en la mélangeant avec un agitateur.

La solution de milieu Muller-Hinton est transférée dans des flacons en verre, stérilisés dans un autoclave à 120 °C pendant 15 minutes, puis versée dans des boîtes de Pétri stériles.

Le milieu MH utilisé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits de *Papaver rhoeas* L.

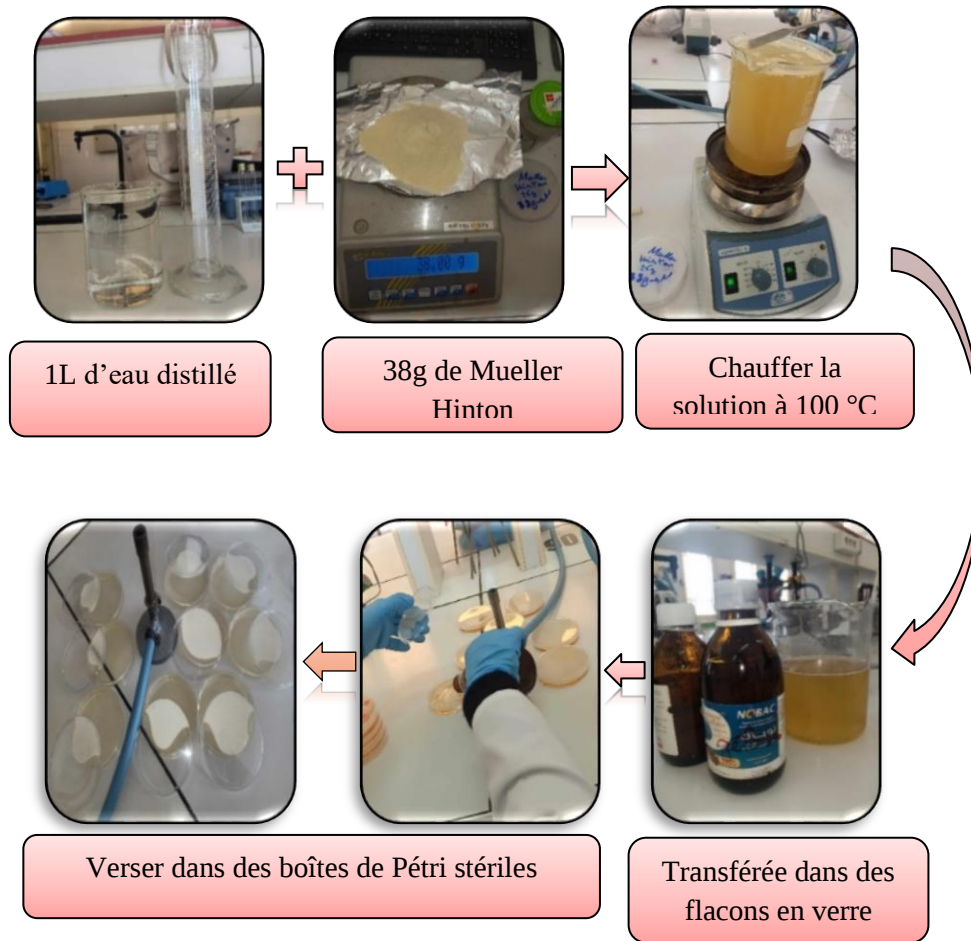


Figure 53: Différentes étapes de préparation de milieu MH (Mueller Hinton) (Photo personnelle, 2024).

➤ Préparation de l'eau physiologie

Préparer comme suit :

Dissoudre 4,5 g de chlorure de sodium (NaCl) dans 500 ml d'eau distillée. Faire bouillir en remuant jusqu'à dissolution complète, puis placer dans des flacons complètement fermés et préalablement stérilisés dans un autoclave 120° pendant 10 minutes

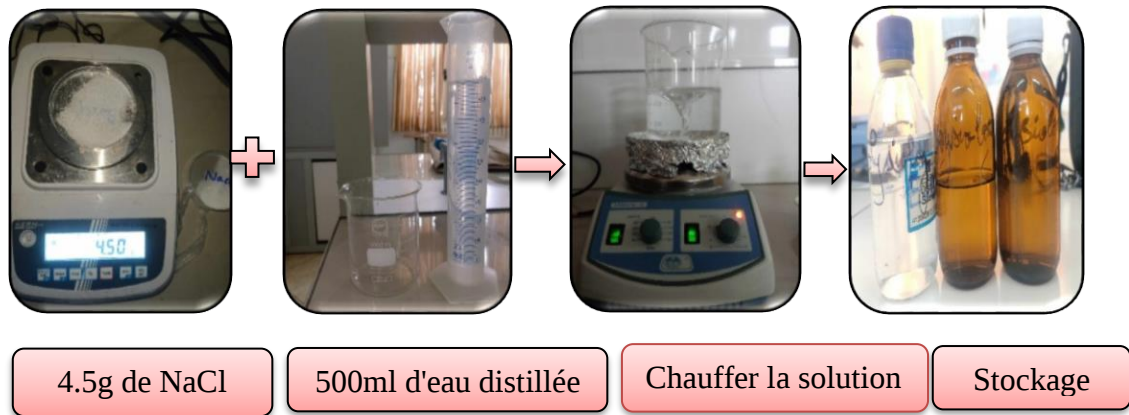


Figure 54: Différentes étapes de préparation de l'eau physiologie (photo personnelle,2024).

➤ **Préparation des disques d'aromatogramme**

Les disques sont préparés à partir de papier Whatman n°3 d'un diamètre de 6 mm. Ils sont ensuite placés dans des tubes en verre, stérilisés dans un autoclave à 120°C pendant 20 minutes et conservés jusqu'à leur utilisation.

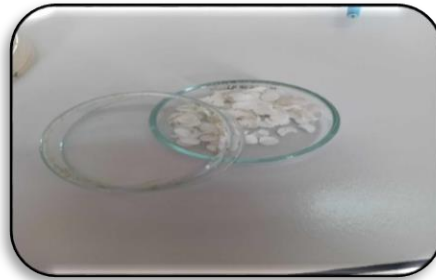


Figure 55: Préparation des disques (Photo personnelle,2024).

➤ **Préparation de l'inoculum :**

Immerger les échantillons de souche à tester dans un milieu nutritif et les incuber à 37°C pour évaluer leur viabilité. Après 24 heures, la suspension a été ajoutée goutte à goutte sur un gel nutritif puis placée dans une étuve à 37°C pendant 24 heures.

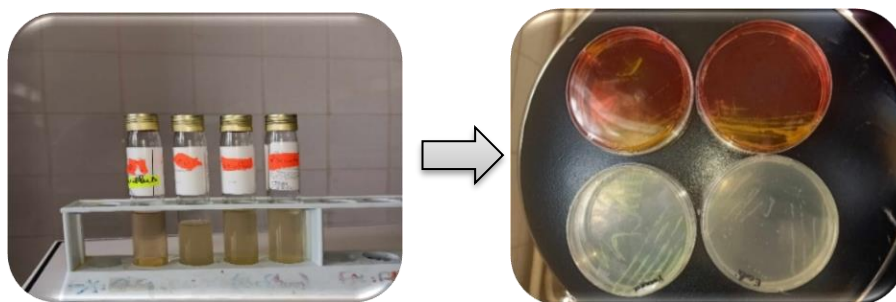


Figure 56: L'ensemencement et L'incubation des souches bactériennes dans la gélose nutritive (Photo personnelle,2024).

Après l'incubation, suspendre à nouveau les colonies bien isolées dans une solution saline à 0,9% de NaCl (eau physiologique) pour obtenir une densité optique de 0,08 à 0,1 à 625 nm, ce qui correspond à environ 108 UFC/ml (Gulluce et al., 2007).

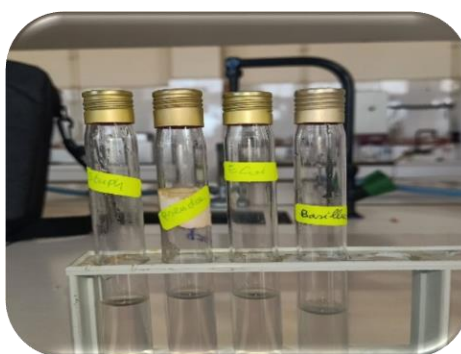


Figure 57: Les suspensions préparées (photo personnelle,2024).

➤ **Préparation des dilutions des extraits**

L'extrait éthanolique et l'extrait méthanolique de la plante *Papaver rhoeas* L. ont été traités avec du diméthylsulfoxyde (DMSO), les dilutions des extraits ont été préparés pour l'analyse selon les méthodes suivantes :

- **Solution mère (SM)** : 100 mg de l'extrait dans 1ml de DMSO (100%).
- **T^{1/2}** : 0,5ml d'extrait de SM avec 0.5ml de DMSO (50%)
- **T^{1/4}** : 0.5ml d'extrait de T^{1/2} avec 0.5ml de DMSO (25%)
- **T^{1/8}** : 0.5ml d'extrait de T^{1/4} avec 0.5ml de DMSO (12.5%)
- **T^{1/16}** : 0.5ml d'extrait de T^{1/4} avec 0.5ml de DMSO (6,25%).



Figure 58: Différentes concentrations des extraits méthanolique et éthanolique (photo personnelle, 2024).

➤ **Application :**

Pour l'application de l'activité antibactérienne des extraits de *Papaver rhoeas* L., nous avons passé par plusieurs étapes qui sont :

➤ **Ensemencement et dépôt des disques**

L'ensemencement se fait en utilisant la méthode de l'écouvillonnage sur des boîtes de Pétri. Un écouvillon est immergé dans la suspension bactérienne, puis essoré en pressant fermement contre la paroi interne du tube. Ensuite, l'écouvillon est frotté sur toute la surface du milieu gélosé, de haut en bas, en réalisant des stries serrées. L'opération est réalisée deux fois en pivotant la boîte de 70° à chaque répétition. Ensuite, l'ensemencement est terminé en passant une dernière fois l'écouvillon sur toute la surface du milieu gélosé. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.

Un disque d'environ 6 mm a été retiré à l'aide d'une pince stérile, puis imprégné de différentes concentrations de 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml et 12,5 mg/ml. Les disques ainsi préparés ont été placés dans des boîtes de Pétri, sans les appliquer. Dans chaque boîte de Pétri, un disque imprégné de 10 µl de DMSO a été ajouté comme témoin négatif. Les boîtes ont ensuite été incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures (Murray et al., 1995, Gulluce et al., 2007).

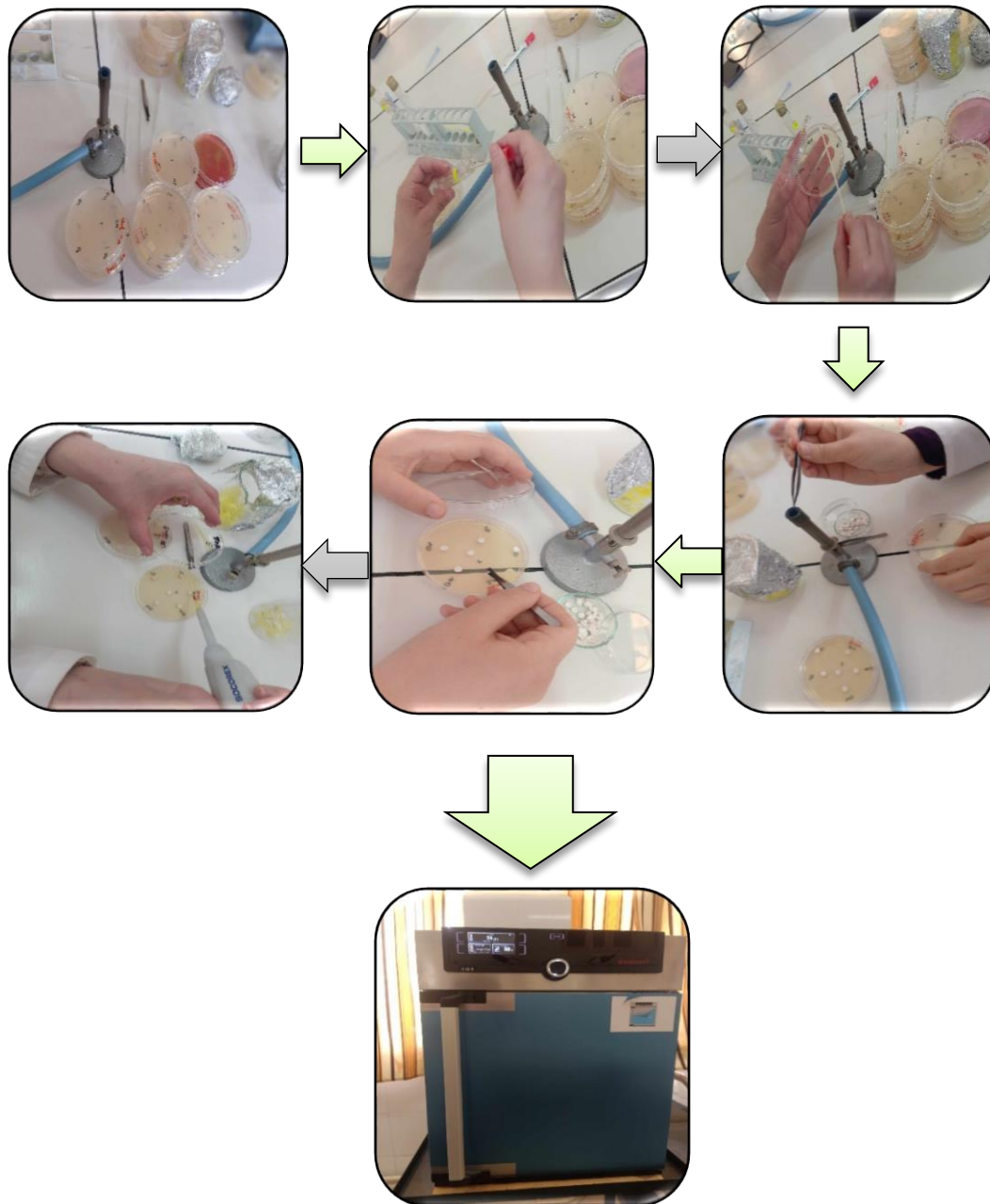


Figure 59: Différentes étapes d'activité antibactérienne (photo personnelle, 2024).

➤ **Lecture**

Après l'incubation, l'extrait a induit la formation d'une zone transparente en forme de cercle autour du disque, indiquant une inhibition de la croissance bactérienne (Najjaa *et al.*, 2007).

Les résultats sont interprétés en mesurant la zone d'inhibition à l'aide d'une règle (mm) placée à l'extérieur de la boîte. Une plus grande zone d'inhibition indique une plus grande sensibilité à la déformation, comme indiqué dans le tableau (Choi et al., 2006).

Tableau 6: Évaluation de l'effet antibactérien selon le diamètre d'inhibition.

Observation	Non sensible	Sensible	Très sensible	Extrêmement sensible
Signe	(-)	(+)	(++)	(+++)
Diamètre d'inhibition	<8 mm	8 à 14 mm	15 à 20 mm	>20 mm

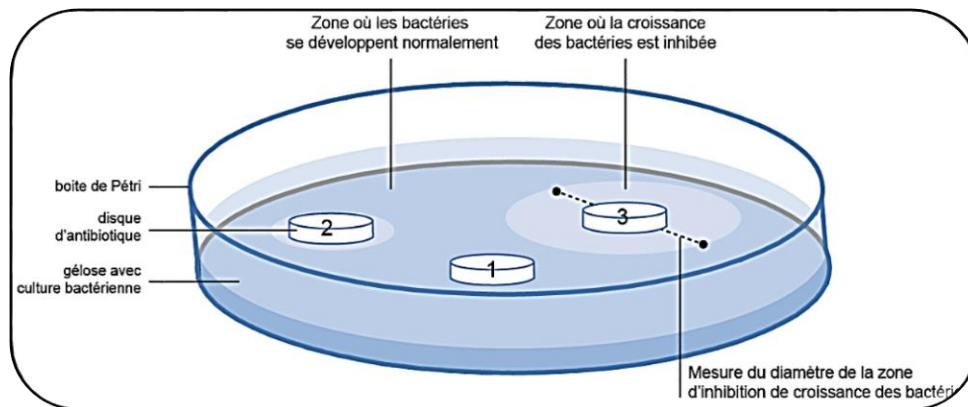


Figure 60: Détermination de la zone d'inhibition par la méthode de diffusion des disques (Zaika, 1988).

Chapitre II

Résultats et discussion



Résultats et discussion

I.23 Analyse qualitative (screening phytochimique)

L'authenticité d'une espèce végétale est un facteur crucial à prendre en compte (Lewis et Ausubel, 2006), et elle doit être établie avant d'entreprendre toute évaluation biologique ou l'utilisation d'un extrait de plante à des fins médicales ou pharmaceutiques. De nombreux éléments génétiques et environnementaux peuvent influencer le profil des composés phytochimiques dans un extrait végétal spécifique, ce qui à son tour affecte son activité biologique (Lewis et Ausubel, 2006). Cette considération s'étend également au processus d'extraction, incluant les conditions et notamment le choix du solvant utilisé, car ces facteurs ont un impact sur le profil phytochimique des extraits (Jayaweera, 1980).

La caractérisation phytochimique de ces extraits de plante est cruciale pour garantir des résultats précis et reproductibles. Cependant, la composition de ces extraits peut être altérée par le choix de la méthode analytique utilisée (comme HPLC, absorption UV-visible, GC-MS ou d'autres détecteurs), ce qui influe sur leur résolution (Tzeng et al., 2015). L'identification des composés bioactifs est également essentielle, mais elle représente un défi car l'activité phytochimique observée peut résulter d'une synergie complexe entre différents composés provenant de divers extraits. Ceci complique le processus d'identification (Shah, 2012).

❖ Résultat d'analyse phytochimique :

Dans cette étude qualitative, nous avons entrepris une évaluation préliminaire de la composition phytochimique de plante : *Papaver rhoeas* L. dans le but de détecter la présence de certains composants chimiques. Les méthodes de caractérisation comprennent des tests de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, ainsi que des observations de changement de couleur induit par l'utilisation de réactifs spécifiques. Les résultats des tests phytochimiques effectués sur la plante étudiée sont synthétisés dans le tableau suivant :

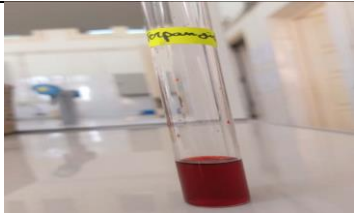
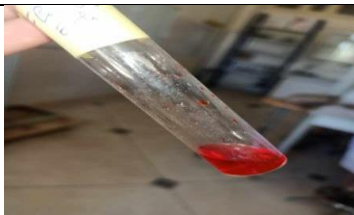
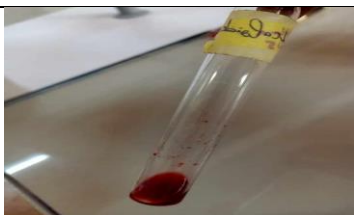
- ❖ (-) : absence
- ❖ (+/-) : trace
- ❖ (+) : petite quantité
- ❖ (+++) : Importante quantité.

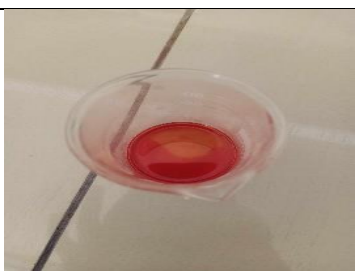
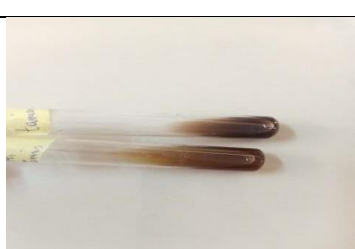
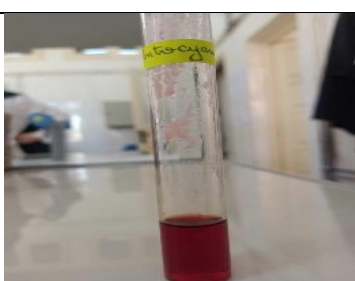
❖ Les métabolites primaires

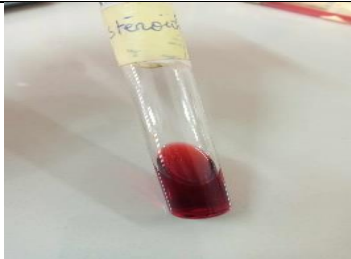
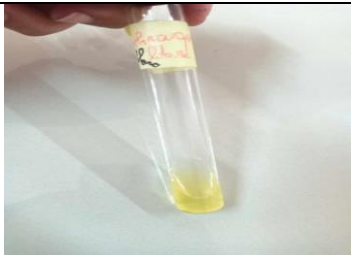
Tableau 7: Les résultats de l'étude phytochimique des métabolites primaires.

Test des lipides	Test des protéines
(+/-)	(-)
L'apparition d'une coloration violette qui confirme la présence des lipides mais avec une faible quantité.	L'absence de la coloration violette, avec une teinte rougeâtre indique que le <i>Papaver rhoeas</i> L. ne contient pas des protéines
	

❖ **Métabolite secondaire****Tableau 8:** Les résultats de l'étude phytochimique des métabolites secondaires.

Terpénoïdes	(+)	L'apparition d'un anneau brun rougeâtre en interphase indique la présence des terpénoïdes.	
Flavonoïdes	(+++)	l'apparition d'une coloration rouge indique la présence des flavonoïdes avec grande quantité.	
Alcaloïdes	(-)	L'absence d'un précipité rouge-orangé indique que le <i>Papaver rhoeas</i> L. ne contient pas des Alcaloïdes	

Coumarines	(-)	L'absence d'un précipité rouge brun indique que le <i>Papaver rhoeas</i> L. ne contient pas des coumarines	
Glycosides	(+++)	La formation d'un précipité rouge brique indique la présence des glycosides.	
Stérols	(-)	L'absence de l'anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux phases indique que le <i>Papaver rhoeas</i> L. ne contient pas des stérols.	
Tanins	(+++)	L'apparition d'une coloration brun verdâtre indique la présence des tanins catéchiques	
Saponosides	(+)	L'apparition d'une mousse persistante confirme la présence des saponines	
Anthocyanes	(+++)	La couleur rouge indique la présence d'anthocyanes en grande quantité.	

Stéroïdes	(-)	L'absence d'une coloration violet clair, vire au bleu puis au vert, indique que le <i>Papaver rhoeas</i> L. ne contient pas des stéroïdes.	
Anthraquinones libres	(-)	L'absence d'une coloration rouge, indique que le <i>Papaver rhoeas</i> L. ne contient pas des anthraquinones libres.	
Quinones	(+++)	L'apparition de La couleur rouge indique la présence des quinones en grande quantité.	

Discussion

D'après le tableau précédant, les résultats des tests phytochimiques révèlent que :

La réponse positive des tests photochimiques dans les extraits de *Papaver rhoeas* L. avec des réactifs spécifiques à chaque type de métabolite à confirmer la présence de métabolites secondaires importants

Le tableau montre que les principaux composés trouvés en grande quantité dans la plante sont : Les flavonoïdes, les glycosides, les tanins, les anthocyanes, et les quinons.

Tandis que d'autres composés tels que les saponosides, les terpénoïdes, les lipides sont présents en petites quantités.

En outre, notre plante se caractérise par l'absence totale des anthraquinones libre, les stéroïdes, les stérols, les coumarines, les alcaloïdes, et les protéines.

Nos résultats concernant la présence de flavonoïdes, tanins, saponosides et terpénoïdes concordent avec ceux obtenus par (Hmamou et al., 2023). Il est également incompatible avec les résultats obtenus des coumarines et alcaloïdes.

Les résultats concernant la présence d'anthocyanes sont en accord avec les siens (**Doğan et Bağcı, 2014**).

Une étude de screening phytochimique de l'extrait (eau-ethanol) des feuilles de la plante *Papaver rhoeas* L. par (**Ould Mokhtar, 2020**) a montré que cette plante contient : des saponosides en plus des flavonoïdes d'une part, et l'absence de stérols dans le des extraits en revanche. Cela correspond à nos résultats. L'absence des terpénoïdes et la présence d'alcaloïdes dans les résultats de (**Ould Mokhtar, 2020**), et cela est à l'opposé de nos résultats.

Une étude phytochimique menée par (**Hamouchene et Aoudjit, 2021**) sur les extraits aqueux, acétoniques, acétate d'éthyle et dichlorométhaniques des feuilles et des pétales de la plante *Papaver rhoeas* L. a révélé la présence des flavonoïdes, des tannins (gallique et condensé) et d'anthocyanes. Ces résultats concordent avec les nôtres.

Et la différence dans les résultats obtenus est due à :

La concentration de ces métabolites varie selon le solvant utilisé et la méthode d'extraction. Il a été clairement observé que l'eau, suivie de l'acétone, sont des solvants polaires efficaces pour extraire une large gamme de métabolites secondaires (**Grauso et al., 2019**). En revanche, l'acétate d'éthyle et le dichlorométhane restent des solvants potentiels pour l'extraction de certains métabolites, mais sont moins efficaces que l'eau et l'acétone.

Analyse quantitative

I.24 Rendement des extraits bruts

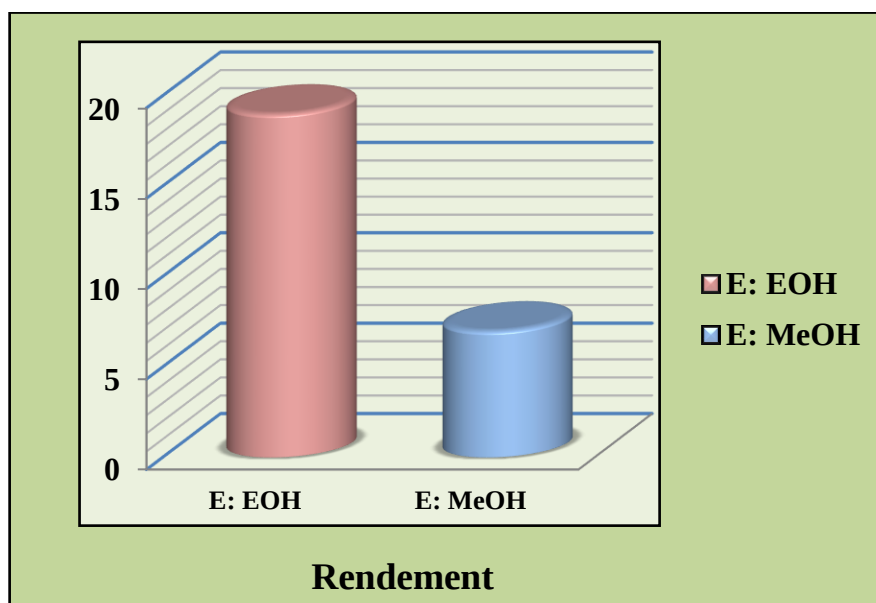
Les extraits bruts obtenus après évaporation à sec ont été pesés pour déterminer le poids sec. Les résultats ont été exprimés en pourcentage massique. Le rendement de l'extrait brut est déterminé en comparant le poids de l'extrait sec au poids de la matière végétale sèche réduite en poudre. Ce rendement est calculé à l'aide de l'équation suivante :

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

Les rendements d'extraction de *Papaver rhoeas* L. sont reportés dans le tableau 9 et représentés par la figure 60.

Tableau 9: Rendement en extraits bruts.

Extrait	Rendement
Ethanolique	$(192.95-192) / 5 \times 100 = 19 \%$
Méthanolique	$(192.35-192.28/1 \times 100 = 7\%$

**Figure 61:** Rendement de l'extrait brut.

A partir de cet histogramme et d'après les résultats obtenus montrent que le rendement de l'extrait éthanolique (19 %) est nettement supérieur à celui de l'extrait méthanolique (7 %). Ainsi, l'extraction à l'éthanol offre le meilleur rendement.

Ainsi, le rendement d'extraction dépend de nombreux facteurs tels que le solvant, le pH, la température, la durée d'extraction et la composition de l'échantillon (**Lehoute et Laib, 2015**).

- **Discussion :**

Cependant, il est compliqué de comparer nos résultats de manière stricte avec ceux de la littérature, car le rendement est relatif et dépend de plusieurs facteurs. Ces facteurs incluent l'espèce végétale étudiée, la partie de la plante utilisée pour l'extraction, les conditions de séchage et de stockage, la teneur en métabolites secondaires de chaque espèce, la nature et la polarité du solvant utilisé pour l'extraction ou le fractionnement, ainsi que la méthode d'extraction employée (**Saidi, 2019**).

I.25 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux dans les différents extraits a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocaltau. Ce réactif colorimétrique est la méthode quantitative la plus couramment employée et la plus rapide pour mesurer la quantité totale de composés phénoliques polaires présents dans les feuilles de *Papaver rhoeas* L. (Abaza et al., 2015). La teneur en composés phénoliques de l'extrait a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage Figure 61, dont l'équation est : $y = 17924x - 615,93$. Cette teneur est exprimée en microgrammes équivalents en acide gallique par milligramme d'extrait. La densité optique a été mesurée à une longueur d'onde de 760 nm. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 61.

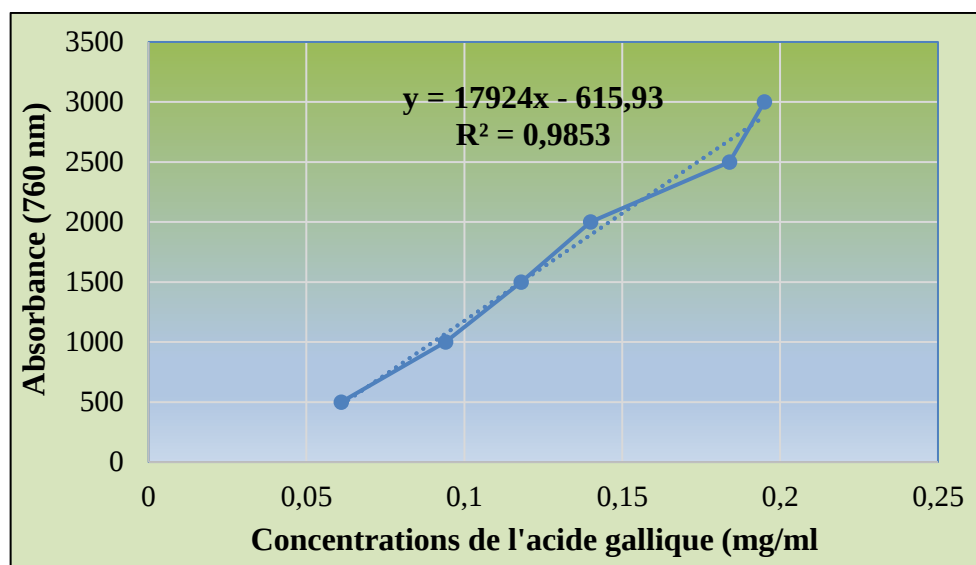


Figure 62: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Tableau 10: Teneur en polyphénols totaux.

La moyenne	7.98
Ecarte type	0.052

On a remarqué d'après les résultats de la figure ci-dessus, la teneur en polyphénols dans l'extrait du *Papaver rhoeas* L. 7.98 ± 0.052 mg EAG/g.

Les résultats du dosage des polyphénols des fleurs de *Papaver rhoeas* L. dans l'extrait méthanolique montrent une quantité considérable de polyphénols, estimée à 7.98 ± 0.052 mg EAG/g. Cette quantité reste inférieure à celle trouvée par (Afqir et al., 2024),

qui ont enregistré des teneurs de $15,86 \pm 0,65$ mg EAG/g, ainsi qu'à celle trouvée par (Marsoul et al., 2020), avec $95,4 \pm 2,42$ mg EAG/g. Tandis que trouvé par (Dif et al., 2015) $11,12 \pm 0,623$ mg EAG/g.

Les résultats obtenus par (Ould Mokhtar, 2020) indiquent que le taux de composés phénoliques totaux est le plus élevé dans l'extrait à l'éthanol $100,88 \pm 8,65$ mg EAG/g et l'extrait aqueux $100,05 \pm 4,38$ mg EAG/g, tandis que l'extrait à l'acétone présente le taux le plus faible $78,79 \pm 5,90$ mg EAG/g. Cela peut être expliqué par le fait que, dans le cas des extractions aqueuse et à l'éthanol, les substances extractibles agissent en synergie, conduisant à des taux plus élevés par rapport à l'extraction à l'acétone. Ont également signalé que le solvant utilisé pour l'extraction des échantillons de feuilles avait un effet significatif sur la teneur totale en phénols des extraits (Oliveira et al., 2009).

Nos résultats sont inférieurs à ceux de (Dif et al., 2015) sur l'extrait hydroalcoolique, où les pétales ont montré une forte concentration en phénols totaux ($31,86 \pm 1,31$ mg EAG/g), alors que les sépales et les racines ont une concentration plus faible ($3,15 \pm 0,28$ mg EAG/g, $1,99 \pm 0,04$ mg EAG/g, respectivement). Les feuilles présentaient une concentration modérée ($11,12 \pm 0,623$ mg EAG/g). Ces résultats mettent en évidence la répartition inégale des polyphénols dans les différentes parties de la plante (Gehin et al., 2006 ; Bouterfas, 2011).

(Jaouadi et al., 2022) Ont découvert que l'extrait aqueux des pétales de *Papaver rhoeas* L. contenait une teneur totale en polyphénols de ($62,43 \pm 2,1$ mg EAG/g), ce qui est nettement supérieur à celle trouvée dans l'extrait aqueux des capsules, évaluée à ($30,54 \pm 1,6$ mg EAG/g), Et les deux résultats sont supérieurs à ceux que nous avons trouvés.

Les résultats de (Kostic et al., 2010) concernant le contenu phénolique de différents extraits des pétales de *Papaver rhoeas* L. ont révélé une estimation de ($19,91 \pm 0,44$ mg GAE/g) pour l'extrait aqueux. Pour l'extrait méthanol, la teneur était de ($12,40 \pm 0,91$ mg GAE/g), tandis que pour l'extrait méthanol-eau, elle était de ($9,734 \pm 0,42$ mg GAE/g). L'extrait éthanolique a montré une teneur de ($13,127 \pm 1,55$ mg GAE/g), similaire à celle trouvée dans l'extrait éthanol-eau, qui était de ($14,307 \pm 0,25$ mg GAE/g). Ces résultats sont meilleurs que ceux que nous avons obtenus.

Selon les résultats de (Isbilir et Sagiroglu, 2012), la teneur totale en polyphénols dans différents extraits de feuilles de *Papaver rhoeas* L. était la plus élevée dans l'extrait

d'éthanol (**100,88 ± 8,65 mg GAE /g**) et l'extrait d'eau (**100,05 ± 4,38 mg GAE /g**), tandis que l'extrait d'acétone présentait la plus faible teneur (**78,79 ± 5,90 mg GAE /g**). Leurs résultats sont bien meilleurs que ceux que nous avons trouvés.

Ces variations de résultats peuvent s'expliquer par la faible spécificité du réactif de « Folin Ciocalteu », ce qui constitue le principal inconvénient de ce dosage colorimétrique. Il a été démontré que ce réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes hydroxyles, affectant non seulement les composés phénoliques, mais aussi certains sucres et protéines (**Saidi, 2019**).

De même, la variation de la quantité de polyphénols peut être attribuée à plusieurs facteurs, comme le démontrent diverses études. En effet, la teneur en polyphénols dans une plante fluctue à la fois qualitativement et quantitativement, ce qui peut être dû à divers éléments :

- Facteurs climatiques et environnementaux : la situation géographique (**Javanmardi et al., 2002**), la sécheresse, la nature du sol, les agressions et les maladies, etc... (**Bentabet et al., 2014**)
- La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur en phénols totaux (**Bentabet et al., 2014**).
- La saison de récolte, le séchage, la durée de stockage de la plante et le traitement qu'elle subit (**Benedec et al., 2012**).
- Le patrimoine génétique (**Özcan et Chalchat, 2002**) et le stade de développement de la plante (**Bentabet et al., 2014**).

La richesse en composés polyphénoliques du *Papaver rhoeas* L. confirme ses nombreuses utilisations traditionnelles.

I.26 Activité antioxydant

Pour évaluer l'activité anti radicalaire de notre extrait, nous avons employé la méthode basée sur le DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), un radical relativement stable avec une bande d'absorbance à 517 nm.

Cette méthode repose sur un changement de couleur, suivi par une mesure de l'absorbance à des longueurs d'onde spécifiques. Selon (**Mohtar et al., 2020**), les valeurs IC₅₀ représentent la concentration minimale d'antioxydant nécessaire pour obtenir une

inhibition de 50 %. La capacité d'une plante à neutraliser les radicaux DPPH est souvent utilisée comme indicateur de son potentiel antioxydant (Sadaf et al., 2021).

L'activité antiradicalaire des extraits des plantes étudiées est évaluée par leur capacité à réduire le radical libre DPPH, exprimée en pourcentage d'inhibition. L'IC₅₀ est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, car il indique la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre de 50%.

Une faible valeur d'IC₅₀ (ou un pourcentage d'inhibition élevé) indique une forte activité antioxydante. Cette activité est mesurée en comparaison avec l'acide ascorbique, utilisé comme antioxydant de référence.

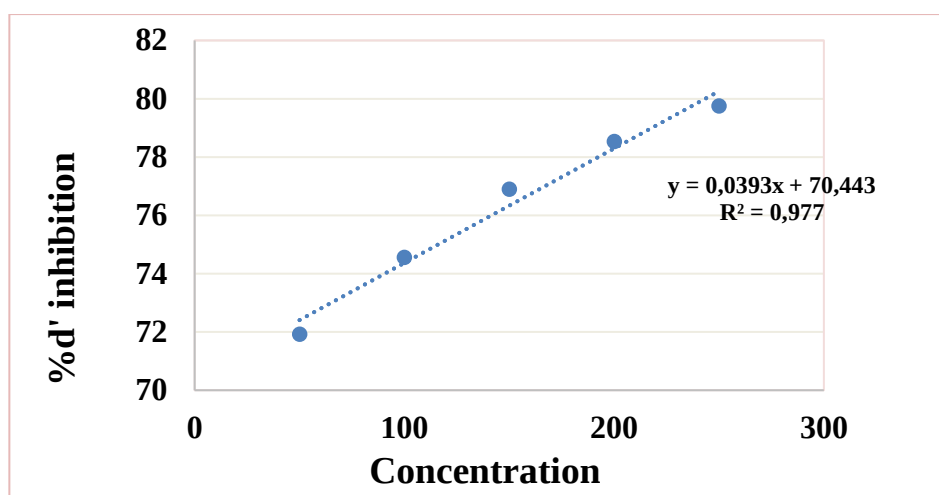


Figure 63: Pourcentage d'inhibition de la plante selon la concentration.

L'effet des extraits sur les résultats de l'IC₅₀ est illustré dans le tableau suivant :

Tableau 11: Effet extrait méthanolique sur l'IC₅₀.

	IC ₅₀	Ecartype
Extrait	0,07291	0,001
Acide ascorbique	0.09405	0.00105

Les résultats de cette étude (Tableau 11) montrent que l'extrait méthanolique de *Papaver rhoeas* L. possède une activité antioxydante nettement inférieure à celle de l'acide ascorbique face au radical libre DPPH.

À partir des résultats obtenus, l'extrait méthanolique de *Papaver rhoeas* L. présente une valeur d'IC₅₀ de **0,07291 mg/ml**, ce qui démontre une capacité antioxydante inférieure à celle trouvée par (Afqir et al., 2024), qui était de **0,0266 mg/ml**.

(Jaouadi et al., 2022) ont démontré que l'extrait aqueux de pétales de pavot présentait une valeur de IC₅₀ est **0.028 mg/ml**, Cette valeur est meilleure que nos résultats.

En revanche, nos résultats indiquent que notre extrait méthanolique possède une capacité antioxydante supérieure à celle rapportée par (Hasplova et al., 2011), qui était de **1,4 mg/ml**.

Les résultats que nous avons obtenus sont nettement supérieurs à ceux obtenus par (Isbilir et al., 2012), qui a utilisé des extraits aqueux, acétoniques et éthanoliques des feuilles de *Papaver rhoeas* L. L'extrait aqueux avait une valeur d'IC₅₀ de **1,39 mg/ml**, l'extrait éthanolique de **3,11 mg/ml**, et l'extrait acétonique présentait la valeur la plus élevée avec **5,49 mg/ml**.

Et la différence dans les résultats obtenus est due à :

Il est bien établi que les composés phénoliques présentent généralement des effets piégeurs significatifs contre le radical libre DPPH (Kazazic et al., 2016). Selon des études antérieures, les actions antiradicalaires des différents extraits de *P. rhoeas* peuvent être corrélées à leurs divers constituants chimiques, tels que les alcaloïdes, les polyphénols et les phytostérols (Jabbar et al., 2022). De plus, (Trichopoulou et al., 2000) ont révélé une capacité antioxydante significative de l'extrait de feuilles de *Papaver*, qu'ils ont attribuée à leur teneur en flavonoïdes efficaces, notamment la quercétine, l'isorhamnétine, le kaempférol et la myricétine. (Kostic et al., 2010) ont indiqué que les propriétés antioxydantes des plantes peuvent également être liées aux pigments végétaux présents dans les principaux composants de chaque extrait. Le pigment rouge des fleurs de *P. rhoeas* L. est dû aux anthocyanes, qui peuvent agir comme antioxydants naturels.

I.27 Activité antibactérienne

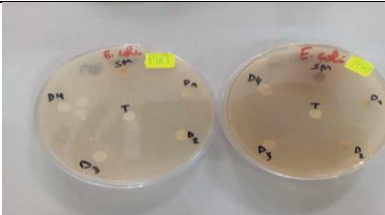
Les résultats de l'activité antibactérienne d'extraits issus de la plante *Papaver rhoeas* L. sont représentés successivement dans les tableaux suivant :

Légende :

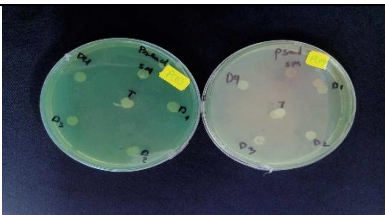
- (-) Non sensible
- (+) Sensible
- (++) Très sensible

1) Bactéries a gram négatif

➤ *E. coli*

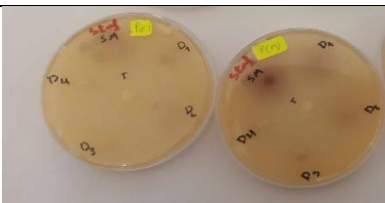
Dilutions	E éthanolique	E méthanolique	Observation
SM	-	-	
D1	-	-	
D2	-	-	
D3	-	-	
D4	-	-	

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

Dilutions	E éthanolique	E méthanolique	Observation
SM	-	-	
D1	-	-	
D2	-	-	
D3	-	-	
D4	-	-	

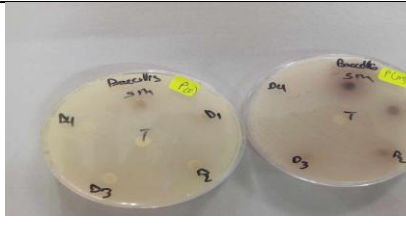
1) Bactéries à gram positif

➤ *Staphylocoques aureus*

Dilutions	E éthanolique	E méthanolique	Observation
SM	-	-	
D1	-	-	
D2	-	-	
D3	-	-	
D4	-	-	

➤ *Bacillus cereus*

Dilutions	E éthanolique	E méthanolique	Observation
SM	-	-	

D1	-	-	
D2	-	-	
D3	-	-	
D4	-	-	

Nous ne remarquons aucune activité pour *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*. Ce qui ne démontre aucune sensibilité de ces souches à notre extrait, mais ce résultat incompatible pour **(Hamouchene et Aoudjit, 2021)**.

Les résultats obtenus par **(Çoban et al., 2017)** à partir des extraits de la partie aérienne de la plante *Papaver rhoeas* L. ont montré que l'effet antibactérien de l'extrait chloroformique est présent sur les souches de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. En revanche, l'extrait méthanolique a un effet antibactérien uniquement sur *Staphylococcus aureus*, ce qui est en contradiction totale avec nos résultats. Aucun effet n'a été observé pour les souches d'*Escherichia coli* et de *Pseudomonas aeruginosa*, ce qui correspond à nos résultats.

Les résultats de l'étude menée par **(Ünsal et al., 2009)** ont montré que l'effet antibactérien des extraits d'éther de pétrole, d'éther diéthylique, d'acétone et de chloroforme est présent sur les souches de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. En revanche, l'extrait éthanolique n'a d'effet antibactérien que sur les souches de *Staphylococcus aureus*, ce qui contredit totalement nos résultats. En ce qui concerne *Pseudomonas aeruginosa*, aucune activité n'a été observée dans les cinq extraits, ce qui est conforme à nos résultats.

D'après les résultats de l'activité antibactérienne obtenus par **(Jaouadi et al., 2022)**, l'extrait éthanolique de pavot a montré une activité antibactérienne significative, qui a été localisée par des zones d'inhibition avec un diamètre de : 24 mm sur (*E. coli*), 20 mm sur (*Pseudomonas*), 12 mm sur (*staphylococcus*).

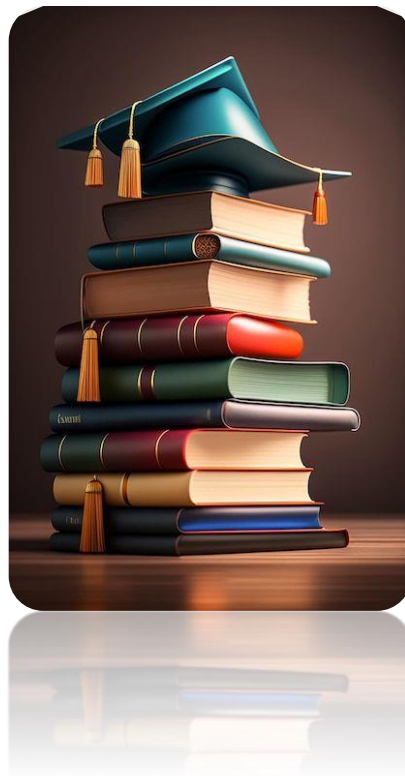
Cette différence peut être attribuée à l'emplacement géographique et au climat environnant de La région **(Daoudi et al., 2015)**. Et le moment de récolter la plante. Le coquelicot rouge de champ d'Elkseur (Bejaia) semble bénéficier de conditions plus favorables, ce qui se traduit par une efficacité contre les souches bactériennes plus élevée par rapport à celui de notre coquelicot ; cette efficacité varie selon la nature des bactéries.

Selon (**Hayouni et al., 2007**), la résistance des quatre souches bactériennes peut être attribuée à la capacité de l'agent antibactérien à diffuser dans l'agar. L'hypersensibilité des quatre souches d'Aureus peut s'expliquer par la sensibilité des bactéries Gram (+) aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH et les extraits naturels, en raison de l'absence de membrane externe. Il a été prouvé que les polyphénols, tels que les flavonoïdes comme la catéchine (**Shan et al., 2007**), sont des substances antibactériennes importantes.

D'après les résultats obtenus et ceux de la bibliographie, on peut dire que le même type de *Papaver rhoeas* L. n'a pas la même activité antibactérienne. Cela est dû à plusieurs facteurs : la méthode d'extraction, la qualité du solvant, la méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne, la concentration et la charge de disque. La faible activité de ces extraits peut s'expliquer soit par l'absence de molécules fortement antimicrobiennes dans ces extraits, soit par leur faible capacité à se diffuser uniformément à travers l'agar. Il est également notable que l'activité antibactérienne varie d'une souche à l'autre. Cette activité peut être importante, faible ou nulle en fonction de la concentration de l'échantillon et du degré de sensibilité des souches (**Falleh et al., 2008**).

Les propriétés antimicrobiennes des plantes sont attribuées à des composés bioactifs comme les alcaloïdes, les saponines, les tannins, les flavonoïdes, les stéroïdes et les anthraquinones (**Al-Ghamdi et al., 2020**).

Conclusion



L'utilisation des plantes médicinales connaît une croissance notable dans la plupart des pays du monde. Cette tendance repose principalement sur l'idée que les plantes offrent un moyen naturel de traitement pour soulager la souffrance et améliorer la santé humaine.

En Afrique, notamment en Algérie, les plantes médicinales représentent des ressources essentielles pour une grande partie des populations rurales et urbaines. L'Algérie, riche en diversité florale, possède un véritable réservoir phylogénétique qui a inspiré notre travail de recensement et de recherche bibliographique sur les espèces endémiques ayant fait l'objet d'études phytochimiques antérieures.

Notre étude s'est concentrée sur l'espèce *Papaver rhoeas* L.

Le rendement des extraits bruts par macération dans différents solvants montre une variation significative en fonction du solvant utilisé. Le rendement le plus élevé a été obtenu avec l'extrait éthanolique de *Papaver rhoeas* L. (19%) par rapport à l'extrait méthanolique (7%).

Le screening phytochimique des principales classes de métabolites secondaires a révélé une présence abondante de flavonoïdes, saponosides, glycosides, anthocyanes, quinones et tanins chez *Papaver rhoeas* L. En revanche, les autres classes de métabolites secondaires sont absentes ou présentes en faibles quantités. Concernant les principales classes de métabolites primaires, les lipides sont présents en faible quantité tandis que les protéines sont totalement absentes.

Les résultats du dosage quantitatif des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu ont révélé que l'extrait méthanolique de *Papaver rhoeas* L. est riche en polyphénols, avec la valeur de **(7.98 mg EAG/g)**.

Dans la partie biologique de notre étude, nous avons évalué l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique en utilisant la méthode de réduction du radical libre 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH). Les résultats montrent que l'extrait de *Papaver rhoeas* L. présente un pouvoir antioxydant puissant avec la valeur **0,07291 mg/ml**, principalement attribuable à sa composition et à sa richesse en composés phénoliques.

Par la méthode de diffusion sur disque, l'activité antibactérienne des extraits méthanolique et éthanolique de *Papaver rhoeas* L. a été testée sur quatre souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*). Les résultats ont montré que les deux extraits de cette plante ne possèdent aucune activité antibactérienne.

Nous concluons que la plante médicinale étudiée contient une quantité adéquate de polyphénols et présente un potentiel antioxydant pouvant être exploité dans des applications thérapeutiques. Les antioxydants jouent un rôle crucial dans la prévention de nombreuses maladies, offrant ainsi des bienfaits pour la santé. Toutefois, cela n'exclut pas la supériorité de certains composés synthétiques utilisés dans la fabrication de nombreux médicaments.

En somme, ces résultats de laboratoire ne représentent que la première étape dans la recherche de substances bioactives naturelles. Des tests supplémentaires seront nécessaires pour confirmer les performances observées.

À l'avenir, il serait intéressant de continuer à étudier les autres espèces endémiques médicinales, afin de créer une plateforme de référence pour les chercheurs intéressés par les plantes médicinales. Cela faciliterait leur travail et encouragerait de potentielles collaborations.

Enfin, nous recommandons la culture de plantes médicinales et alimentaires pour fournir à la population des médicaments et des aliments à moindre coût, tout en préservant certaines espèces intéressantes de la disparition.

Les références bibliographiques





A Weil, J.H. (2005). Biochimie générale. Ed. Dunod, Paris : 191-211.

Abaza, L., Taamalli, A., Nsir, H., & Zarrouk, M. (2015). Olive tree (*Olea europaea* L.) leaves: Importance and advances in the analysis of phenolic compounds. *Antioxidants*, 4(4), 682-698.

Achat, S. (2013). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Avignon.

Afaq, F., Malik, A., Syed, D., Maes, D., Matsui, M. S., & Mukhtar, H. (2005). Pomegranate Fruit Extract Modulates UV-B-mediated Phosphorylation of Mitogen-activated Protein Kinases and Activation of Nuclear Factor Kappa B in Normal Human Epidermal Keratinocytes. *Photochemistry and photobiology*, 81(1), 38-45.

Afqir, H., Belmalha, S., Farihi, A., Elbouzidi, A., Bouhrim, M., Elrherabi, A., & Ouhssine, M. (2024). Comparative Analysis of Phenolic and Flavonoid content, Antioxidant, Antibacterial Activities, and Functional Groups of Chemicals from *Hypericum perforatum* L., and *Papaver Rhoeas* L. Flower Extracts. *Ecological Engineering & Environmental Technology (EEET)*, 25(2).

Akharaiyi, F. C., Boboye, B. (2010). Journal of Nat. Prod. (3) 27-34.

Akroum, S. (2011). Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. *Université Mentouri de Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Doctorat en Sciences*, 113.

Alais, C., Linden, G. (1997). Biochimie alimentaire. Ed. Masson, Paris : 20-54.

Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi pharmaceutical journal*, 21(2), 143-152.

Al-Ghamdi AY., Abdalla MOM., & Fadlelmula AA., (2020). Phytochemical, Total phenolic contents, and antioxidant and antimicrobial activities of *Ocimum basilicum* L. Leaf Extract in AL-BAHA AREA, SAUDI ARABIA. *Int. J. Adv. Res.* 8(03) : 526-533.

Allan, M. (1978). Weeds. New York: Viking Press. 191 p.

Amara, N., & Boughérara, Y. (2017). Activité Antimicrobienne de l'Huile Essentielle du Cyprès Vert (*Cupressus sempervirens* L.). *Algerian Journal of Natural Products*, 5(2), 455-462.

Avril, J. L., Dabernat, H., Denis, F., & Monteil, H. (2000). *Bactériologie clinique* (Vol. 3, pp. 557-559). Ellipses.

B

Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II), pp137.

Bahorun, T. (1998). Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. In *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists* (Vol. 83, pp. 83-94).

Balandrin, M. F., Klocke, J. A., Wurtele, E. S., & Bollinger, W. H. (1985). Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. *Science*, 228(4704), 1154-1161.

Barbosa, D. S. (2007). Green tea polyphenolic compounds and human health. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 2, 407-413.

Bartha, K. Játék. (1937). In a *Magyarság Néprajza*, Királyi Magyar Egyetemi Nyomda: Budapest, Hungary, pp. 453–498.

Basrai, M. A., Hieter, P., & Boeke, J. D. (1997). Small open reading frames: beautiful needles in the haystack. *Genome research*, 7(8), 768-771.

Bekro, Y. A., Mamyrbekova, J. A., Boua, B. B., Bi, F. T., & Ehile, E. E. (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpiniaceae). *Sciences & nature*, 4(2), 217-225.

Belguidoum, M. (2012). Une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre *Zygophyllum*. Mémoire master académique Université kasdi merbah ouargla.

Ben Slimane, M., Bourasse, M.T. (2010). Contribution à l'étude de l'activité antioxydant de la plante acaia arabica. (Ingénieur d'état). Université kasdi-merbah Ouargla.

Bendif, H. (2017). Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae. *Ajuga iva* ,154 p.

Benedec, D., Vlase, L., Hanganu, D., & Oniga, I. (2012). Antioxidant potential and polyphenolic content of Romanian *Ocimum basilicum*. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 7(3), 1263-1270.

Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6), 364-371.

Berkal, G., & Bouchama, S. (2016). Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale : *Euphorbiacharacias* L. Mémoire de Master en Biochimie Moléculaire et Santé. Université des Frères Mentouri Constantine, pp60.

Bertoncelj, J., Doberšek, U., Jamnik, M., & Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food chemistry*, 105(2), 822-828.

Beta, T., Nam, S., Dexter, J. E., & Sapirstein, H. D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal chemistry*, 82(4), 390-393.

Biondi, D., Cianci, P., Geraci, C., Ruberto, G., & Piattelli, M. (1993). Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. *Flavour and fragrance journal*, 8(6), 331-337.

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.

Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA, In : Numéro spécial*, 79-82.

Bokor, J., & Gerő, L. (1893). A Pallas Nagy Lexikona. *Pallas Irodalmi és Nyomdai RT: Budapest, Hungary*.

Bonichon, M. (2017). Analyse d'une protéine biomarqueur d'intoxication par des agents neurotoxiques : développement d'immunoabsorbants et de réacteurs enzymatiques, couplés en ligne à la chromatographie liquide et à la spectrométrie de masse (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).

Borges, F., Roleira, F., Milhazes, N., Santana, L., & Uriarte, E. (2005). Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: occurrence, synthesis and biological activity. *Current medicinal chemistry*, 12(8), 887.

Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), 14.

Boulahbal, F. (2002). Microbiologie S1 clinique. Office des publications universitaires. Alger. P : 126-145 ,150 -166, 167-173.

Boumerfe, Y. S. (2020). pharmacognosie et chimie des produits naturels.

Bouterfas, K. (2011). Étude 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 Abbes*. p, 244.

Bown, D. (2014). The Royal Horticultural Society Encyclopedia of Herbs. Dorling Kindersley.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Bray, L. (1978). The Wild Garden. New York: Mayflower Books.191 p.

Brunet, S. (2008). Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestif des ruminants (Doctoral dissertation, Toulouse 3), p 246.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème édition. *Lavoisier, Paris*, 1120. PP. 101-120,647-673.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie ; phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition Lavoisier. *Paris*. 1234p.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.

Butnariu, M., Quispe, C., Herrera-Bravo, J., Pentea, M., Sarac, I., Küşümler, A. S. ... & Cho, W. C. (2022). Papaver plants: current insights on phytochemical and

nutritional composition along with biotechnological applications. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022, 1-23.



Camille, D. (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire, Recherche de bactéries et de levures-moisissures. Lavoisier.

Carange, J. (2010). Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassins stéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection, (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières).

Celiktas, O. Y., Bedir, E., & Sukan, F. V. (2007). In vitro antioxidant activities of Rosmarinus officinalis extracts treated with supercritical carbon dioxide. *Food Chemistry*, 101(4), 1457-1464.

Chancellor, R. J. (1986). Decline of arable weed seeds during 20 years in soil under grass and the periodicity of seedling emergence after cultivation. *Journal of applied ecology*, 22: 631-637.

Chaturvedula, V. S. P., & Prakash, I. (2011). Bioactive chemical constituents from pomegranate (*Punica granatum*) juice, seed and peel-a review. *Int J Res Chem Environ*, 1(1), 1-18.

Chetibi, Ch., & Diab, S. (2016). Etude de l'activité biologique in vitro et in vivo des extraits Méthanolique et Aqueux des écorces des racines du *Zizyphus lotus*, *Biochimie Moléculaire et Santé*.

Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissède, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.

Choi, Y. M., Noh, D. O., Cho, S. Y., Suh, H. J., Kim, K. M., & Kim, J. M. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT-Food Science and Technology*, 39(7), 756-761.

Çoban, İ., Toplan, G. G., Özbek, B., Gürer, Ç. U., & Sarıyar, G. (2017). Variation of alkaloid contents and antimicrobial activities of *Papaver rhoeas* L. growing in Turkey and northern Cyprus. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 1894-1898.

Connolly J.D., Hills R.A. (1992). Dictionnaire of terpenoids. Ed. Chapman and Hall. CRC Press, New York. USA. 2156p

Cowan, M. (1999). Plant products as antimicrobial agents *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 12. No. 4: 564-570, 582.

Cuendet, M. (1999). Recherche de nouveaux composés capteur de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : *Fragraea blumei* (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : *Bartsia alpina* (Scrophulariaceae), *Loiseleuria procumbens* (Ericaceae) et *Campanula ba* (Doctoral dissertation, Université de Lausanne, Faculté des sciences), 24p.

D

D'Amelia, V., Aversano, R., Chiaiese, P., & Carputo, D. (2018). The antioxidant properties of plant flavonoids: their exploitation by molecular plant breeding. *Phytochemistry Reviews*, 17, 611-625.

Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (éd). *Paris*, p317.

Daoudi, A., Sabiri, M., Bammou, M., Zair, T., Ibijbjen, J., & Nassiri, L. (2015). Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica* : *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of Applied Biosciences*, 87, 8094-8104.

Das, K., & Gezici, S. (2018). Secondary plant metabolites, their separation and identification, and role in human disease prevention. *Ann. Phytomed. Int. J*, 7, 13-24.

De Luna, S. L. R., Ramírez-Garza, R. E., & Saldívar, S. O. S. (2020). Environmentally friendly methods for flavonoid extraction from plant material: Impact of their operating conditions on yield and antioxidant properties. *The Scientific World Journal*, 2020.

Delattre, J., Beaudoux, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales, Paris. p14, 93,94, 405.

Di Sanzo, P., De Martino, L., Mancini, E., & Feo, V. D. (2013). Medicinal and useful plants in the tradition of Rotonda, Pollino National Park, Southern Italy. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9, 1-9.

Diallo, D. (2000). Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Mimosaceae), *Trichilia emetica* (Meliaceae) (Doctoral dissertation, Université de Lausanne, Faculté des sciences).

Dif, M. M., Benchiha, H., Mehdadi, Z., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., & Bouterfas, K. (2015). Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes. *Phytothérapie*, 13, 314-319.

Dogan, G., & Bagci, E. (2014). Essential oil composition of *Papaver rhoeas* L. corn poppy Papaveraceae from Turkey. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 42(4), 545-549.

Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Idrissi Hassani, L. M., Badoc, A., Gmira, N., & Douhou, N. (2003). Phytochemical screening of an Ibero-Moroccan endemic, *thymelaea lythroides*. *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*, 142, 61-78.

Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*. Rev, 82, 47-95.

Duke, J. A., & Ayensu, E. S. (1985). Medicinal plants of china. Medicinal plants of the world. *Reference Publications, Algonac, MI, Inc, 1*, 362.

Ďuračková, Z., Djrolo, F., Hounge, H., Avode, G., Attoulou, V., Addra, B., Kodjoh, N., Avimadj, M., & Gvozdjaková, A. (2008). Oxidants, antioxidants and oxidative stress. *Mitochondrial medicine: Mitochondrial metabolism, diseases, diagnosis and therapy*, pp. 19-43.

E

Earle, F. R., & Jones, Q. (1962). Analyses of seed samples from 113 plant families. *Economic Botany*, 221-250.

Ekici, L. (2014). Effects of concentration methods on bioactivity and color properties of poppy (*Papaver rhoeas* L.) sorbet, a traditional Turkish beverage. *LWT-Food Science and Technology*, 56(1), 40-48.

Elmeskini, K. (2011). Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de Doctorat Université Mohammed V – Rabat, P : 4.

Eudier, J.P. (2011). La bactérie Escherichia Coli. [En ligne].

F

Fabri, R. L., Nogueira, M. S., Braga, F. G., Coimbra, E. S., & Scio, E. (2009). Mitracarpus frigidus aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects. *Bioresource Technology*, 100(1), 428-433.

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., & Boulaaba M. (2008). Resistant human pathogens (antimicrobial activity of ficus carica latex). *Pak. J. Pharm. Sci.* P: 53-58.

Farahmandazad, H. (2015). Recovery and purification of anthocyanins from purple-blue potato.

Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., & Guo, Z. (1986). Place des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin of the World Health Organization*, 64(2), 159-164.

Favier, A. (1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann Biol Clin*, 55(1) : 9-16.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*, pp. 108-117.

Fedde, M. R. (1998). Relationship of structure and function of the avian respiratory system to disease susceptibility. *Poultry science*, 77(8), 1130-1138.

Fetoni, A. R., Paciello, F., Rolesi, R., Paludetti, G., & Troiani, D. (2019). Targeting dysregulation of redox homeostasis in noise-induced hearing loss: oxidative stress and ROS signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, 135, 46-59.

G

Garrity, G. M., Johnson, K. L., Bell, J., & Searles, D. B. (2007). Bergey's manual of systematic bacteriology, 2ème édition. *Castenholz, New York*, p50.

- Gehin, A., Guyon, C., & Nicod, L. (2006).** Glyphosate-induced antioxidant imbalance in HaCaT: The protective effect of Vitamins C and E. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 22(1), 27-34.
- Georgieva, S., Boyadzhiev, L., & Angelov, G. (2010).** Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. *Revue de génie industriel*, 5, 124-132.
- Ghizlane, H., & Aziz, B. (2016).** Pharmacological properties of some medicinal plants, its components and using fields. In *Fruits, Vegetables, and Herbs* (pp. 41-56). Academic Press.
- Giuffrè, A. M., Louadj, L., Poiana, M., & Macario, A. (2012).** Composition en sterols des huiles extraites d'olives de cultivars de la province de Reggio Calabria (Sud d'Italie). *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 89, 177-183.
- Gonullu, H., Karadas, S., Dulger, A. C., & Ebinc, S. (2014).** Hepatotoxicity associated with the ingestion of Papaver Rhoeas. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*, 64(10), 1189-1190.
- Gras, A., Serrasolses, G., Vallès, J., & Garnatje, T. (2019).** Traditional knowledge in semi-rural close to industrial areas: ethnobotanical studies in western Gironès (Catalonia, Iberian Peninsula). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 15, 19.
- 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. *Phytochemical Analysis*, 30(5), 535-546.
- Guarrera, P. M. (2003).** Food medicine and minor nourishment in the folk traditions of Central Italy (Marche, Abruzzo and Latium). *Fitoterapia*, 74(6), 515-544.
- Guarrera, P. M. (2006).** Household dyeing plants and traditional uses in some areas of Italy. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2, 1-9.
- Guignard, J. L. (2000).** Les composés aromatiques. *Biochimie Végétale*. Edition Dunod. Pp : 116- 124
- Guignard. J. L. (2000).** Les métabolites secondaires In *Biochimie végétale*. Paris. PP : 161, 177, 178.
- Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M. Ü. N. E. V. V. E. R., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A. T. A. L. A. Y. ... & Ozkan, H. İ. C. A. B. İ. (2007).** Antimicrobial and

antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food chemistry*, 103(4), 1449-1456.

Günaydin, Y. K., Dündar, Z. D., Çekmen, B., Akıllı, N. B., Köylü, R., & Cander, B. (2015). Intoxication due to *Papaver rhoeas* (corn poppy): five case reports. *Case Reports in Medicine*, 2015.

Günther, K. F. (1975) a. Beiträge zur Morphologie und Verbreitung der Papaveraceae: 1. Teil: Infloreszenzmorphologie der Papaveraceae; Wuchsformen der Chelidoniaeae. *Flora*, 164(2-3), 185-234.

Günther, K. F. (1975) b. Beiträge zur Morphologie und Verbreitung der Papaveraceae: 2. Teil: Die Wuchsformen der Papavereae, Eschscholieae und Platystemonoideae. *Flora*, 164(4-5), 393-436.

Guo, L., Xie, M. Y., Yan, A. P., Wan, Y. Q., & Wu, Y. M. (2006). Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC–MS. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 386, 1881-1887.

Gürbüz, İ., Üstün, O., Yesilada, E., Sezik, E., & Kutsal, O. (2003). Anti-ulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. *Journal of ethnopharmacology*, 88(1), 93-97.

Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine*, 27(1), 1-93.

Gutteridge, J. M., & Halliwell, B. (1993). Invited review free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free radical research communications*, 19(3), 141-158.

H

Haddouchi, F., Chaouche, T. M., Ksouri, R., Medini, F., Sekkal, F. Z., & Benmansour, A. (2014). Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of aqueous methanolic extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *saxatile*. *Chinese journal of natural medicines*, 12(6), 415-422.

Haïoun, A., Hamoudi, F. Z., & Ihoul, S. (2015). Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale Algérienne *Anethium graveolens* et leur effet

cardioprotectrice contre la toxicité de la Doxorubicine. Constantine. Université Frères Mentouri Constantine. French. *Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie*, 29-36.

Haleng, J., Picemail, J., Defraigne, J., Charlier, C., & Chapelle, J. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège* 62 :38-628.

Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition reviews*, 52(8), 253-265.

Halliwell, B. (1995). Antioxidant characterization: methodology and mechanism. *Biochemical pharmacology*, 49(10), 1341-1348.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1999). Free Radicals in Biology and Medicine. (3rd edn) Oxford University Press. New York.

Hamouchene, L., Aoudjit, B. (2021). Extraction des métabolites biologiquement actifs des parties aériennes d'une espèce de la famille Papaveraceae « Le coquelicot rouge », p53.

Hamvai, V. (1968). Játék éspedagógia. *Pedagógiai Szemle*, 18, 441–450.

Hanf, M. (1982). *Les adventices d'Europe : leurs plantules, leurs semences*. BASF Aktiengesellschaft. 496 ,382-383.

Haouzi, R. (2013). Etude biologique des effets des microondes sur Escherichia Coli. Mémoire. Université des sciences et de la technologie d'Oron Mohamed Boudiaf, 60 P.

Harbone, J.P. (1998). Phytochemical methods, A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Chapman & Hall, Londres.

Harris, A. L. (2002). Hypoxia—a key regulatory factor in tumour growth. *Nature reviews cancer*, 2(1), 38-47.

Hart, T., & Shears, P. (1997). Atlas de Poche de Microbiologie. Flammarion. *Médecine-Sciences*, 9, 165-212.

Hasplova, K., Hudecova, A., Miadokova, E., Magdoleno-Va, Z., Galova, E., Vaculikova, L., & Dusinska, M. (2011). Biological activity of plant extract isolated from Papaver rhoeas on human lymphoblastoid cell line. *Neoplasma*, 58(5), 386.

Haughton, C. L. (1978). Green Immigrants. New York: Harcourt Brace Jovanovich. P 450.

Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food chemistry*, 105(3), 1126-1134.

Heimler, D., Vignolini, P., Dini, M. G., & Romani, A. (2005). Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 3053-3056.

Hellal, Z. (2011). Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri), p 78.

Heller, R., Esnault, R., Lance, C. (2004). *Physiologie végétale 1*. Nutrition. Dunod, Paris, 1998 pour la cime présentation, p. 288-305 _ (Sciences Sup).

Hennekinne, J. A. (2009). Nouvelles approches pour la caractérisation des toxi-infections alimentaires à staphylocoques à coagulase positive. *Thèse de Doctorat, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech*. 183p.

Hernandez Ochoa, L. R. (2005). *Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combiné «solvant/actif» d'origine végétale* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique (Toulouse), p 255.

Heywood, V. H. (1993). Flowering Plants of the World. New York: Oxford University Press. p 335.

Hill, L. R. (1981). Taxonomy of the staphylococci. *The staphylo-cocci*. Aberdeen University Press, Ltd., Aberdeen, 33-62.

Hillenbrand, M., Zapp, J., & Becker, H. (2004). Depsides from the petals of *Papaver rhoeas*. *Planta medica*, 70(04), 380-382.

Hmamou, A., El-Assri, E. M., El Khomsi, M., Kara, M., Alshawwa, S. Z., Al Kamaly, O. ... & Lahkimi, A. (2023). *Papaver rhoeas* L. stem and flower extracts: Anti-struvite, anti-inflammatory, analgesic, and antidepressant activities. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 31(8), 101686.

Holm, L., Doll, J., Holm, E., Pancho, J. V., & Herberger, J. P. (1997). World weeds: natural histories and distribution. John Wiley & Sons.1, 129 p.

Hopkins, W. G. (2003). Physiologie végétale. 2ème édition. *De Boeck, Bruscelles*, 61-476.

Hopkins, W. G. (2003). Physiologie végétale. Edition. *De Boeck, Iarcier S. A*, P 267-284.

Hosokawa, K., Shibata, T., Nakamura, I., & Hishida, A. (2004). Discrimination among species of *Papaver* based on the plastid *rpl16* gene and the *rpl16-rpl14* spacer sequence. *Forensic science international*, 139(2-3), 195-199.

I

Isbilir, S. S., & Sagiroglu, A. (2012). An assessment of in vitro antioxidant activities of different extracts from *Papaver rhoeas* L. leaves. *International Journal of Food Properties*, 15(6), 1300-1308.

J

Jabbar, A. A., Abdullah, F. O., Abdulrahman, K. K., Galali, Y., & Sardar, A. S. (2022). GC-MS Analysis of Bioactive Compounds in Methanolic Extracts of *Papaver decaisnei* and Determination of Its Antioxidants and Anticancer Activities. *Journal of Food Quality*, 2022(1), 1405157.

Jacques, B., & André, R. (2004). Biochimie métabolique Ed ellipses. *Paris. Pp*, 217-219.

Jaouadi, R., Elimem, M., Kalboussi, M., Lahfef, C., Hammadi, J., Mhamdi, S., & Rouz, S. (2022). *Papaver rhoeas* L. aqueous extracts: Antioxidant activity and insecticidal effect against *Tribolium castaneum* (Coleoptera; Tenebrionidae).

Javanmardi, J., Khalighi, A., Kashi, A., Bais, H. P., & Vivanco, J. M. (2002). Chemical characterization of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(21), 5878-5883.

Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., & Stevens, P. (2002). Botanique systématique : une perspective phylogénétique. *De Boeck Supérieur*, p84.

Juhász, A., falutársadalma, A. (2015). In Néprajzi Tanulmányok Apátfalváról ; Bárkányi, I., Ed ; Móra Ferenc Múzeum : Szeged, Hungary ; pp. 89–138.

K

Kabouche, Z., & Bensouici, C. (2015). Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes du genre Sedum.

Kadereit, J. W. (1990). Some suggestions on the geographical origin of the central, west and north European synanthropic species of *Papaver* L. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 103(3), 221-231.

Kadereit, J. W. (1993). Papaveraceae. In *Flowering Plants· Dicotyledons: Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid Families* (pp. 494-506). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Kalav, Y. N., & Sariyar, G. (1989). Alkaloids from Turkish *Papaver rhoeas*. *Planta medica*, 55(05), 488-488.

Kalla, A., & Belkacemi, D. (2017). Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien.

Kaufmann, S.H. (1997). Host response to intracellular pathogens. Ed. Springer; R.G. Lands, New York; Austin, p345, 348

Kazazic, M., Djapo, M., & Ademovic, E. (2016). Antioxidant activity of water extracts of some medicinal plants from Herzegovina region. *Int. J. Pure App. Biosci*, 4(2), 85-90.

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.

Kohen, R., & Nyska, A. (2002). Invited review: oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*, 30(6), 620-650.

Kong, J. M., Chia, L. S., Goh, N. K., Chia, T. F., & Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64(5), 923-933.

Kosić, I. V., Juračak, J., & Łuczaj, Ł. (2017). Using Ellenberg-Pignatti values to estimate habitat preferences of wild food and medicinal plants: an example from northeastern Istria (Croatia). *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 13, 31.

Kostic, D. A., Mitic, S. S., Mitic, M. N., Zarubica, A. R., Velickovic, J. M., Dordevic, A. S., & Randelovic, S. S. (2010). Phenolic contents, antioxidant and antimicrobial activity of *Papaver rhoeas* L. extracts from Southeast Serbia. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(17), 1727-1732.

Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées (Doctoral dissertation, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS).

Kültür, Ş. (2007). Medicinal plants used in Kırklareli province (Turkey). *Journal of ethnopharmacology*, 111(2), 341-364.

L

Labbé, D., Morale, I. D. L. A., & Des Médulloblastomes, E. D. P. I. (2008). Les flavonoïdes d'origine alimentaire et le cancer.

Laraoui, H. (2007). Etude phytochimique de l'extrait chloroformique de *bupleurum atlanticum* (Doctoral dissertation, Batna, Université El Hadj Lakhdar. Faculté des Sciences Batna), p 35.

Lavigne, J. P. (2007). Effet des antibiotiques, mécanismes de résistance. 1er cycle-PCEM 2-MB7-Bactériologie-Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.

Leclerc, H., Gaillard, J. L., & Simonet, M. (1995). *Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien*. Doin Editeurs, Paris.

Lehout, R., Laib .M. (2015). Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso. *Biochimie moléculaire et santé*. Algérie : Université de Frère Mentouri Constantine, 71.

Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., & Prost, M. (2001). Stress oxydant et pathologies humaines : Bilan et perspectives préventives. *La Presse médicale* (1983), 30(21), 1076-1081.

Lendvai, B., Zelles, T., Rozsa, B., & Vizi, E. S. (2003). A vinca alkaloid enhances morphological dynamics of dendritic spines of neocortical layer 2/3 pyramidal cells. *Brain research bulletin*, 59(4), 257-260.

Lewis, K., & Ausubel, F. M. (2006). Prospects for plant-derived antibacterials. *Nature biotechnology*, 24(12), 1504-1507.

Lhuillier, A. (2007). Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook. f. ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae) (Doctoral dissertation), p 43.

Liaqid, A. (2012). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du CHU de Tlemcen. *Mémoire de Magister, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen Faculté*, 95p.

Linden, G. (1981). Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires : Principe des techniques d'analyse Vol. II. *Collection Science et Technique Agroalimentaire. Paris*, P 434.

Louis, MO, USA. (2008). The Editorial Committee of Flora of China. Flora of China; Science Press: Beijing, China; Missouri Botanical Garden Press: St; Volume 7, pp. 278–280.

Lucchetti, L., Zitti, S., & Taffetani, F. (2019). Ethnobotanical uses in the Ancona district (Marche region, Central Italy). *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 15, 1-33.

Łuczaj, Ł., Jug-Dujaković, M., Dolina, K., Jeričević, M., & Vitasović-Kosić, I. (2019). The ethnobotany and biogeography of wild vegetables in the Adriatic islands. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 15, 18.

Mabberley, D. J. (2008). Mabberley's Plant-book: a portable dictionary of plants, their classifications and uses (No. Ed. 3). Cambridge university press.

Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne. 192 p.

Machlin, L. J. (1988). Free radical tissue damage and the protective role of antioxidant nutrients, one, 441-445.

Mag, P., Liao, H., Dong, W., Shi, X., Liu, H., Yuan, K., (2012). Analysis and comparison of the active components and antioxidant activities of extracts from *Abelmoschus esculentus* L. *Pharmacogn Mag* 8(30):156-61. doi: 10.4103/0973-1296.96570.

Mammeri, H., & Amiens, C. H. U. (2013). Mode d'action des antibiotiques. *Service de bactériologie, CHU Amiens. P, 2.*

Manou, I., Bouillard, L., Devleeschouwer, M. J., & Barel, A. O. (1998). Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under a challenge test. *Journal of applied microbiology*, 84(3), 368-376.

Marsoul, A., Ijjaali, M., Oumous, I., Bennani, B., & Boukir, A. (2020). Determination of polyphenol contents in *Papaver rhoeas* L. flowers extracts (soxhlet, maceration), antioxidant and antibacterial evaluation. *Materials Today: Proceedings*, 31, S183-S189.

Marxen, K., Vanselow, K. H., Lippemeier, S., Hintze, R., Ruser, A., & Hansen, U. P. (2007). Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements. *Sensors*, 7(10), 2080-2095.

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.

McMullen, T. P., Vilchèze, C., McElhaney, R. N., & Bittman, R. (1995). Differential scanning calorimetric study of the effect of sterol-side chain length and structure on dipalmitoylphosphatidylcholine thermotropic phase behavior. *Biophysical journal*, 69(1), 169-176.

Meddour, A., Yahia, M., Benkiki, N., & Ayachi, A. (2013). Etude de l'activité Antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du Capparis spinosa L. *Lebanese Science Journal*, 14(1), 49-60.

Mehdi. S. (2008). La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassan ii de Settat .THESE. [En ligne] .Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : UNIVERSITE MOHAMMED VFACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 48-51p

Menvielle-Bourg, F. J. (2005).La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale. *Phytothérapie*, 3(3), 118-121.

Messiaen, C. M., & Cassini, R. (1981).Ttaxonomy of Fusarium .In" Fusarium; Disease, Biology and Taxonomy" .Pennsylvania State University Park, 427-445.

Meziani, M. (2012). Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et Pseudomonas .Mémoire de Magister .Université Mentori.Constantine P : 30 ,32.

Mibindzou Mouellet, A. (2004). Screening phytochimique de deux especes de plantes : crotalia retusa L (Papilionaceae) et hallea ciliata Aubrev et Pellegr. (Rubiaceae) recoltees au Gabon. Thèse de doctorat, Mali, 58 p.

Midoun, T. (2011). Extraction Des Composes Phenoliques Et Etude Leurs Activités Antioxydante Par La Voltametrie Cyclique. *Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Master, Spécialité : chimie appliquée. Université Kasdi Merbah Ouargla.*

Milane, H. (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques (Doctoral dissertation, Université Louis Pasteur (Strasbourg) (1971-2008)) ,268p.

Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M., & Rice-Evans, C. A. (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS letters*, 384(3), 240-242.

Mitich, L. W. (2000). Corn poppy (Papaver rhoeas L.) 1. *Weed Technology*, 14(4), 826-829.

Mohammedi, Z. (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat (Tlemcen : Université de Tlemcen), p169.

Mohtar, L. G., Messina, G. A., Bertolino, F. A., Pereira, S. V., Raba, J., & Nazareno, M. A. (2020). Comparative study of different methodologies for the determination the antioxidant activity of Venezuelan propolis. *Microchemical Journal*, 158, 105244.

Morales, P., Ferreira, I. C., Carvalho, A. M., Sánchez-Mata, M. C., Cámara, M., Fernández-Ruiz, V., & Tardío, J. (2014). Mediterranean non-cultivated vegetables as dietary sources of compounds with antioxidant and biological activity. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1), 389-396.

Moreau, B. (2003). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy1 (France) : 165.

Motti, R., Bonanomi, G., Emrick, S., & Lanzotti, V. (2019). Traditional herbal remedies used in women's health care in Italy: A review. *Human Ecology*, 47, 941-972.

Motti, R., Bonanomi, G., Lanzotti, V., & Sacchi, R. (2020). The contribution of wild edible plants to the Mediterranean Diet: An ethnobotanical case study along the coast of Campania (Southern Italy). *Economic Botany*, 74, 249-272.

Moussard, C. (2006). Biochimie structurale et métabolique. De Boeck Supérieur.

Mungkalasiri, J. (2009). Elaboration par DLI-MOCVD de dépôts nano composites TiO₂-M (M= Ag, Cu) et propriétés antibactériennes de ces surfaces solides (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Toulouse-INPT), p14.

Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C. and Tenover, R.H. (1995). "Manual of Clinical Micro-biology". 6Th ed., ASM Press, Washington D.C.

N

Najjaa, H., Neffati, M., Zouari, S., & Ammar, E. (2007). Essential oil composition and antibacterial activity of different extracts of *Allium roseum* L., a North African endemic species. *Comptes Rendus Chimie*, 10(9), 820-826.

O

Oh, J. H., Ha, I. J., Lee, M. Y., Kim, E. O., Park, D., Lee, J. H. ... & Kim, C. K. (2018). Identification and metabolite profiling of alkaloids in aerial parts of *Papaver*

rhoeas by liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 41(12), 2517-2527.

Oh, J., Shin, Y., Ha, I. J., Lee, M. Y., Lee, S. G., Kang, B., & Kim, D. (2018). Transcriptome profiling of two ornamental and medicinal Papaver herbs. *International journal of molecular sciences*, 19(10), 3192.

Oliveira I.; Coelho V .; Baltasar, R .; Pereira, JA; Baptista, P., (2009). Capacité de nécrophage arbousier (*Arbutus unedo* L.) laisse sur les radicaux libres. *Food and Chemical Toxicology*, 47.

Oliveriau, F. (1996). Les plantes messicoles des plaines françaises. *Le Courrier de l'environnement de l'INRA*, 28(28), 5-18.

Opara, E. C. (2002). Oxidative stress, micronutrients, diabetes mellitus and its complications. *The journal of the Royal Society for the Promotion of Health*, 122(1), 28-34.

Ortutay, G. (1977). Magyar Néprajzi Lexikon; Akadémiai Kiadó: Budapest, Hungary, Volume I.

Orzechowski, A., Ostaszewski, P., Jank, M., & Berwid, S. J. (2002). Bioactive substances of plant origin in food-impact on genomics. *Reproduction Nutrition Development*, 42(5), 461-477.

Osalou, A. R., Rouyandezagh, S. D., Alizadeh, B., Er, C., & Sevimay, C. S. (2013). A comparison of ice-cold water pretreatment and α -bromonaphthalene cytogenetic method for identification of Papaver species. *The Scientific World Journal*, 2013.

Ouis, N., Bakhtaoui, H. (2017). L'étude phytothérapie des plantes médicinales dans la région Relizane.Mémoire. Université d'ABOU-BEKR BEL KAID de Tlemcen

Ould Mokhtar, R. (2020). Caractérisation des extraits issus de Papaver Rhoeas et valorisation potentielle de ces extraits dans des applications tinctoriales (Doctoral dissertation, université ibn khaldoun-tiaret).

Özcan, M., & Chalchat, J. C. (2002). Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. *Czech J. Food Sci*, 20(6), 223-8.

P

Paris, M., Hurabielle, M., & Paris, R. R. (1981). Abrégé de matière médicale : Monographies (2. partie) : plantes actives sur le système nerveux, sur l'appareil digestif, plantes cardiotoniques, plantes antiparasitaires, plantes insecticides, antibiotiques et antitumoraux d'origine végétale. p.457. Masson. Paris. pp :102-103-104-107.

Patadiya, N. (2020). Steroids: classification, nomenclature and stereochemistry. *International Journal of Universal Pharmacy and Bio Sciences*, 9(5), 28-38.

Patrick, B., Jean, L., & Michel, S. (1988). Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. *Médecine–Sciences Flammarion. Paris*. P 100-108-274.

Percival, S., Chalmers, R., Embrey, M., Hunter, P., Sellwood, J., & Wyn-Jones, P. (2004). *Microbiology of waterborne diseases*. Ed Elsevier Academic Press. Pp71-132.

Peter, M. (2008). *Profil et métabolisme des acides gras dans les tissus de la perche comme Perca fluviatilis L* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine).

Pinke, G., Kapcsándi, V., & Czúcz, B. (2022). Iconic arable weeds: The significance of corn poppy (*Papaver rhoeas*), cornflower (*Centaurea cyanus*), and field larkspur (*Delphinium consolida*) in Hungarian ethnobotanical and cultural heritage. *Plants*, 12(1), 84.

Pocidalo, J. J. (1989). Des infections d'origine microbiennes ou virale. *Brisset C et Stoufflet J (Directeurs) Santé et médecine, l'état des connaissances et des recherches. Editions La Découverte/INSERM/ORSTOM*.

Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4(8).

Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (2003). Microbiologie, 2nd French edn. *Editions De Boeck Université : Bruxelles*, 668-696.

R

Ramarao, N., Tran, S. L., Marin, M., & Vidic, J. (2020). Advanced methods for detection of *Bacillus cereus* and its pathogenic factors. *Sensors*, 20(9), 2667.

Ranfa, A., & Bodesmo, M. (2017). An Ethnobotanical investigation of traditional knowledge and uses of edible wild plants in the Umbria Region, Central Italy. *J. Appl. Bot. Food Qual*, 90, 246-258.

Rey, J. P., Levesque, J., Pousset, J. L., & Roblot, F. (1992). Analytical studies of isorhoeadine and rheagenine in petal extracts of *Papaver rhoeas* L. using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 596(2), 276-280.

Richter, G. (1993). Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie. . Presses polytechnique et universitaire romandes CH. Lausanne. PP : 266-293, 317-321.



Sachse, A., & Wolf, G. (2007). Angiotensin II–induced reactive oxygen species and the kidney. *Journal of the American Society of Nephrology*, 18(9), 2439-2446.

Sadaf, H. M., Bibi, Y., Ishaque, M., Nisa, S., Qayyum, A., Safdar, N., & Chung, G. (2021). Determination of ROS Scavenging, Antibacterial and Antifungal Potential of Methanolic Extract of *Otostegia limbata* (Benth.) Boiss. *Plants*, 10(11), 2360.

Sağdıç, O., Kuşçu, A., Özcan, M., & Özçelik, S. (2002). Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157: H7. *Food Microbiology*, 19(5), 473-480.

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 (Doctoral dissertation).

Šamec, D., Karalija, E., Šola, I., Vujčić Bok, V., & Salopek-Sondi, B. (2021). The role of polyphenols in abiotic stress response: The influence of molecular structure. *Plants*, 10(1), 118.

Sanago, R. (2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali) : 53.

Santana, L., Uriarte, E., González-Díaz, H., Zagotto, G., Soto-Otero, R., & Méndez-Álvarez, E. (2006). A QSAR model for in silico screening of MAO- A inhibitors.

Prediction, synthesis, and biological assay of novel coumarins. *Journal of medicinal chemistry*, 49(3), 1118.

Sarin, R. (2003). Enhancement of opium alkaloids production in callus culture of *Papaver rhoeas* linn. *Indian J. Biotechnol.* 2, 271–272.

Sarni-Manchado, P., & Cheynier, V. (Eds.). (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Techniques & documentation. Paris, p 2-25.

Scarim, C. B., Jornada, D. H., Machado, M. G. M., Ferreira, C. M. R., Dos Santos, J. L., & Chung, M. C. (2019). Thiazole, thio and semicarbazone derivatives against tropical infective diseases: Chagas disease, human African trypanosomiasis (HAT), leishmaniasis, and malaria. *European journal of medicinal chemistry*, 162, 378-395.

Sch"on, M. (2005). Hajósi Sváb Népi Elbeszélések; Cumania Alapítvány: Kecskemét, Hungary.

Schauenberg, P., & Paris, F. (1974). Guide des plantes medicinales-2.

Scherer, R., & Godoy, H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2 , 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food chemistry*, 112(3), 654-658.

Seaman, F. C. (1982). Sesquiterpene lactones as taxonomic characters in the Asteraceae. *The botanical review*, 48, 121-594.

Seenivasan, P. (2006). In vitro antibacterial activity of som plant essential oils. *Jornal of complementary and alternative medicine*, 9,6,39.

Sendl, A., Schliack, M., Löser, R., Stanislaus, F., & Wagner, H. (1992). Inhibition of cholesterol synthesis in vitro by extracts and isolated compounds prepared from garlic and wild garlic. *Atherosclerosis*, 94(1), 79-85.

Shafiee, A., Lalezari, I., Assadi, F., & Khalafi, F. (1977). Alkaloids of *Papaver orientale* L. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 66(7), 1050-1052.

Shah, S. L., Mali, V. R., Zambare, G. N., & Bodhankar, S. L. (2012). Cardio protective activity of methanol extract of fruit of *Trichosanthes cucumerina* on doxorubicin-induced cardiotoxicity in Wistar rats. *Toxicology international*, 19(2), 167 –172.

Shan, B., CAI, Y. Z., Brooks, J. D., & Corke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of food microbiology*, 117(1), 112-119.

Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E. ... & Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 694.

Shimizu, H., Kiyohara, Y., Kato, I., Kitazono, T., Tanizaki, Y., Kubo, M. ... & Iida, M. (2004). Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study. *Stroke*, 35(9), 2072-2077.

Simpson, J. A. and E.S.C. Weiner. (1989). The Oxford English Dictionary. 2nd ed, Volume 12. Oxford, UK : Clarendon Press. pp. 122–123.

Singleton, P. (1999). Bactériologie, Edition Duodot 4ème édition Paris.

Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., & Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*, 89(2), 191-198.

Slavík, J., Slavíková, L., & Bochořáková, J. (1989). Alkaloids from *Papaver rhoeas* var. *chelidonioides* O. KUNTZE, *P. confine* JORD. and *P. dubium* L. *Collection of Czechoslovak chemical communications*, 54(4), 1112-1125.

Sobiesiak, M. (2017). Chemical structure of phenols and its consequence for sorption processes. In *Phenolic compounds-natural sources, importance and applications*. IntechOpen.

Sofowora, A. (1996). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Ed. KARTHALA, Paris, technique et documentation Lavoisier, Paris, P 378.

Sökmen, M., Serkedjieva, J., Daferera, D., Gulluce, M., Polissiou, M., Tepe, B., & Sokmen, A. (2004). In vitro antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(11), 3309-3312.

Soulimani, R., Younos, C., Jarmouni-Idrissi, S., Bousta, D., Khalouki, F., & Laila, A. (2001). Behavioral and pharmaco-toxicological study of *Papaver rhoeas* L. in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 74(3), 265-274.

Sparg, S., Light, M. E., & Van Staden, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of ethnopharmacology*, 94(2-3), 219-243.

Stankovic, M. (2020). *Medicinal plants and natural product research* (p. 231). MDPI-Multi disciplinary Digital Publishing Institute.

Strange, R. (1977). *A History of Herbal Plants*. London: Angus and Robertson. 304 p.

Stryer, L. (1988). "Biochemistry", 3^e édition, chapitre 2, W. H Freeman and company, New York, p 15.

T

Talbi, H., Boumaza, A., El-Mostafa, K., Talbi, J., & Hilali, A. (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6(4), 1111-1117.

Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., & Polissiou, M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food chemistry*, 90(3), 333-340.

Tony, H., Paul, S. (1999). *Atlas de poche de microbiologie*. Édition 2^{ème}. Paris.

Touitou, P. Y. (2006). Biochimie : structure des glucides et lipides. *Faculté de médecine Pierre et Marie Curie, Université de Paris*.

Trease, E., & WC, E. (1987). *Pharmacognosie*, Billiaire Tindall. London 13th Edition. P 61-62. Karumi Y, Onyeyili PA and Ogugbuaja, 2004, 179-182.

Trichopoulou, A., Vasilopoulou, E., Hollman, P., Chamalides, C., Foufa, E., Kaloudis, T., & Theophilou, D. (2000). Nutritional composition and flavonoid content of edible wild greens and green pies: a potential rich source of antioxidant nutrients in the Mediterranean diet. *Food Chemistry*, 70(3), 319-323.

Turker, N., Aksay, S., & Ekiz, H. İ. (2004). Effect of storage temperature on the stability of anthocyanins of a fermented black carrot (*Daucus carota* var. L.) beverage: shalgam. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(12), 3807-3813.

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

Tzeng, C. W., Tzeng, W. S., Lin, L. T., Lee, C. W., Yen, M. H., Yen, F. L., & Lin, C. C. (2015). *Artocarpus communis* induces autophagic instead of apoptotic cell death in

human hepatocellular carcinoma cells. *The American Journal of Chinese Medicine*, 23, 528–540.

U

Ünsal, Ç., Özbek, B., Sarıyar, G., & Mat, A. (2009). Antimicrobial activity of four annual Papaver species growing in Turkey. *Pharmaceutical biology*, 47(1), 4-6.

V

Valls, J., Millán, S., Martin, M. P., Borràs, E., & Arola, L. (2009). Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of Chromatography A*, 1216(43), 7143-7172.

Vermerris, W. (2006). Phenolic compound biochemistry, Florida: 144-147.

Vijay, P., Nivedita, B. A., & Bellundagi, A. (2013). Ethanobotany and qualitative phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. *Int J Chem Pharm Sci*, 4, 59-63.

W

Wichtl. M., Anton. R., Bernard. M., & Czygan.F.C (2003). Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, Tec & Doc ; Ed. Médicales internationales.

Wu, W., Jin, Y., Bai, F., & Jin, S. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*. In *Molecular medical microbiology* (pp. 753-767). Academic Press.

Y

Youla, A., Latrous.I. E. (2017). Contribution à l'étude phytochimique des flavonoïdes chez l'espèce (*Melissa Officinalis* L.) et évaluation de leur pouvoir antibactérien.

Yu, F., & Utsumi, R. (2009). Diversity, regulation, and genetic manipulation of plant mono-and sesquiterpenoid biosynthesis. *Cellular and molecular life sciences*, 66, 3043-3052.

Z

Zaika, L. L. (1988). Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination 1. *Journal of food safety*, 9(2), 97-118.

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

Zemanek, A., Zemanek, B., Klepacki, P., & Madeja, J. (2009). The poppy (Papaver) in old Polish botanical literature and culture. *Plants and culture: seeds of the cultural heritage of Europe. Edipuglia, Bari*, 217-226.

Zenk, M. H., & Juenger, M. (2007). Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 68(22-24), 2757-2772.

Les annexes



Annexe

➤ Appareillage :



Balance



Rota vapeur



La haute



**Balance de
précision**



Plaque chauffante



Réfrigérateur



L'étuve



Autoclave



Spectrophotomètre



**Agitateur
mécanique**



Bain marie



Vortex



Bec benzène

➤ **Réactifs utilisés pour le screening phytochimique**

❖ **KOH (10%)**

Eau distillée	100ml
KOH	5.6g

❖ **Réactif de Wagner**

Iodure de potassium	2 g
Iode	1,27 g
Eau distillée	100ml

❖ **FeCl₃ (1%)**

Eau distillée	100ml
FeCl ₃	1,62 g

❖ FeCl₃ (2%)	
Eau distillée	100ml
FeCl ₃	3,24 g
❖ HCl (10%)	
Eau distillée	50ml
HCl 37%	4, 15 g
❖ NaOH (20%)	
Eau distillée	100ml
NaOH	20g
❖ CuSO₄ (2%)	
Eau distillée	100ml
CuSO ₄	2g
❖ NH₄OH	
90 ml d'eau distillée	10ml NH ₄ OH
4.5ml d'eau distillée	0.5ml NH ₄ OH

Annexe Tableaux

Tableau : Pourcentage d'inhibition d'extrait de la plante selon la concentration.

Concentration (µg/ml)	Pourcentage d'inhibition %	
	<i>Papaver rhoeas</i> L.	Acide ascorbique
50	71.92	93.55
100	74.56	93.82
150	76.9	94.40
200	78.53	93.60
250	79.75	93.89

Tableau : IC₅₀ d'extrait de *Papaver rhoeas* L. et l'acide ascorbique.

IC ₅₀ (µg/ml)	<i>Papaver rhoeas</i> L.	Acide ascorbique
	72.91±1	94.05±1.05