

AVIS DE SOUTENANCE DE THESE

Le Doyen de la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz –Fès – annonce que

Mr **HMAMOU Anouar**

Soutiendra : le Samedi 08/06/2024 à 10H00

Lieu : Centre des Etudes Doctorales - USMBA - Amphi 1

Une thèse intitulée :

« Exploration et Valorisation de *Papaver rhoeas* L. de la Région de Fès-Meknès : Caractérisation Phytochimique, Evaluation des Activités Biologiques et Applications Pharmaceutiques »

En vue d'obtenir le **Doctorat**

FD : **Ressources Naturelles, Environnement et Développement Durable**
Spécialité : **Biotechnologie et Chimie Médicinale**

Devant le jury composé comme suit :

Nom et prénom	Etablissement	Grade	Qualité
Pr TALEB Mustapha	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès	PES	Président
Pr HMOUNI Driss	Faculté des Sciences, Kenitra	PES	Rapporteur & Examineur
Pr AINANE Tarik	Ecole Supérieure de Technologie, Khénifra	MCH	Rapporteur & Examineur
Pr BAHHOU Jamila	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès	PES	Rapporteur & Examineur
Pr EL BRAHMI Nabil	Faculté Euro-Méditerranéenne de Pharmacie, Fès	MCH	Examineur
Pr BENZIANE OUARITINI Zineb	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès	MCH	Examineur
Dr KHLIFI Mostafa	Laboratoire LECONDOR, Fès	Dir	Invité
Pr ELOUTASSI Noureddine	Régional des Métiers de l'Education et de la Formation, Fès Meknès	PES	Co-directeur de thèse
Pr LAHKIMI Amal	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès	MCH	Directeur de thèse



Résumé :

La plante *Papaver rhoeas* L. (*P. rhoeas*) est utilisée par la population marocaine pour traiter divers problèmes de santé. Dans cette perspective, l'objectif de ce travail est de caractériser la phytochimie et d'évaluer les activités biologiques des extraits hydro-éthanoliques de la plante *P. rhoeas* de la région de Fès-Meknès. Par la suite, nous avons cherché à explorer et à appliquer les résultats significatifs obtenus dans le domaine pharmaceutique en préparant des formulations pharmaceutiques innovantes. Pour ce faire, nous avons travaillé sur sept échantillons de *P. rhoeas*, comprenant trois extraits de la plante entière provenant de trois provinces différentes, à savoir Taounate (P1E), Fès (P2E) et Séfrou (P3E). En outre, quatre autres extraits de différentes parties de *P. rhoeas* de Taounate ont été examinés, comprenant l'extrait de racines (RE), l'extrait de tiges (SE), l'extrait de feuilles (LE) et l'extrait de fleurs (FE).

Le criblage phytochimique et l'extraction des métabolites secondaires ont été réalisés selon des méthodes standardisées. En outre, la teneur en phénols totaux (TPT), en flavonoïdes totaux (TFT) et en anthocyanes totaux (TAT) dans les extraits de *P. rhoeas* a été quantifiée respectivement par la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu, la méthode du trichlorure d'aluminium et la méthode du pH différentiel. Enfin, une analyse par HPLC-DAD a été réalisée pour identifier les molécules bioactives. Par ailleurs, l'activité antioxydante a été évaluée par le test du DPPH et le test de capacité antioxydante totale (CAT). De plus, l'activité antimicrobienne a été étudiée contre cinq souches pathogènes en utilisant la méthode de diffusion sur disque et la méthode de microdilution. De même, l'activité anti-struvite in vitro des extraits de *P. rhoeas* a été évaluée par observation microscopique suivie d'une analyse par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF). Enfin, les activités anti-inflammatoire, analgésique et antidépressive ont été évaluées in vivo par les méthodes suivantes : la méthode de l'œdème induit par la carragénine, la méthode d'acide acétique et le test de nage forcée (TNF), respectivement.

Les résultats obtenus montrent que l'échantillon P1E présente le rendement optimal, tandis que l'échantillon P3E se distingue par sa richesse en composés phénoliques et son puissant effet antioxydant, en comparaison avec les échantillons P1E et P2E. Par ailleurs, les trois échantillons possèdent une activité antimicrobienne significative. L'échantillon LE présente le meilleur rendement d'extraction à hauteur de 18,77 %. En outre, les résultats du criblage phytochimique indiquent que les quatre parties étudiées de *P. rhoeas* contiennent des alcaloïdes, des phénols, des flavonoïdes, des tanins, des saponines, des coumarines et des terpénoïdes. De plus, les alcaloïdes sont les métabolites secondaires les plus abondants dans les quatre parties, atteignant un rendement maximal de 14,91 % $\pm$ 0,09 pour l'échantillon LE. Par ailleurs, la TPT dans les échantillons LE et FE (24,24 mg GAE/g et 22,10 mg GAE/g, respectivement) est deux fois plus élevée que dans RE et SE, tandis que la TFT dans les quatre extraits est très similaire. De plus, les résultats de l'analyse par HPLC-DAD montrent la présence de quatre molécules bioactives dans nos extraits, à savoir la camphorquinone, la naringinine, la quercétine et l'acide gallique. En outre, les échantillons LE et FE présentent une meilleure activité antioxydante avec une concentration inhibitrice médiane (CI₅₀) de 0,50 mg/ml et 0,52 mg/ml respectivement, ainsi qu'une CAT de 6,60 mg EAA/g et 5,53 mg EAA/g respectivement. De plus, les extraits de quatre parties de *P. rhoeas* ont montré une activité antimicrobienne remarquable. Notamment, l'échantillon SE a présenté un effet antimicrobien significatif contre toutes les souches testées, avec une faible concentration minimale inhibitrice (CMI) de 0,78 mg/ml contre *Escherichia coli* ATCC 25922. Par ailleurs, les résultats de l'activité anti-struvite montrent que les échantillons LE et RE ont une inhibition significative de la cristallisation de la struvite, comparable à celle de la Cystone. En outre, les résultats des activités pharmacologiques in vivo montrent que l'échantillon RE (400 mg/kg) présente la meilleure activité anti-inflammatoire avec un pourcentage d'inhibition de 95,45 $\pm$ 6,42 %. De même, il présente la meilleure activité analgésique avec un nombre de contractions abdominales de 11 $\pm$ 1,73, tandis que celui des rats traités avec de l'aspirine était de 10,33 $\pm$ 0,57. Par ailleurs, l'échantillon FE à 300 mg/kg présente un effet antidépresseur similaire à celui du diazépam (5 mg/kg). Enfin, la formulation pharmaceutique que nous avons préparée sous forme de crème présente une stabilité significative et montre des effets analgésiques et anti-inflammatoires remarquables chez les rats traités et ne présente aucun effet irritant ou sensibilisant pour la peau humaine.

Les résultats obtenus dans ce travail suggèrent un fort potentiel thérapeutique de cette plante, ouvrant la voie à des applications pharmaceutiques innovantes. Des études futures pourraient approfondir ces découvertes et explorer davantage les formulations pharmaceutiques en vue d'une utilisation clinique éventuelle.

Mots clés : *Papaver rhoeas* L. ; criblage phytochimique ; métabolites secondaires ; phénols ; flavonoïdes ; HPLC-DAD ; anthocyanes ; antimicrobien ; antioxydant ; anti-struvite ; anti-inflammatoire ; analgésique ; antidépresseur ; formulation pharmaceutique.

EXPLORATION AND VALORIZATION OF PAPAVER RHOEAS L. FROM THE FEZ-MEKNES REGION: PHYTOCHEMICAL CHARACTERIZATION, EVALUATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES AND PHARMACEUTICAL APPLICATIONS.

Abstract:

The plant *Papaver rhoeas* L. (*P. rhoeas*) is utilized by the Moroccan population to address various health issues. With this objective, the aim of this study is to characterize the phytochemistry and evaluate the biological activities of hydro-ethanolic extracts of the *P. rhoeas* plant from the Fez-Meknes region. Subsequently, we aimed to explore and apply the significant results obtained in the pharmaceutical field by formulating innovative pharmaceutical preparations. To achieve this, we investigated seven samples of *P. rhoeas*, encompassing three extracts of the entire plant from three different provinces, namely Taounate (P1E), Fez (P2E), and Sefrou (P3E). Additionally, four other extracts from various parts of *P. rhoeas* from Taounate were examined, including root extract (RE), stem extract (SE), leaf extract (LE), and flower extract (FE).

Phytochemical screening and extraction of secondary metabolites were conducted using standardized methods. Furthermore, the content of total phenols (TPT), total flavonoids (TFT), and total anthocyanins (TAT) in *P. rhoeas* extracts was quantified using the Folin-Ciocalteu reagent method, the aluminum trichloride method, and the differential pH method, respectively. Finally, an HPLC-DAD analysis was performed to identify the bioactive molecules. Antioxidant activity was assessed using the DPPH test and the total antioxidant capacity (TAC) test. Additionally, antimicrobial activity was evaluated against five pathogenic strains using the disk diffusion method and the microdilution method. Similarly, the in vitro anti-struvite activity of *P. rhoeas* extracts was evaluated by microscopic observation followed by Fourier transform infrared spectrometry (FTIR) analysis. Finally, the anti-inflammatory, analgesic, and antidepressant activities were assessed in vivo using the carrageenan-induced edema method, the acetic acid method, and the forced swimming test (TNF), respectively.

The results indicate that sample P1E has the highest yield, while sample P3E stands out for its richness in phenolic compounds and its potent antioxidant effect, compared with samples P1E and P2E. All three samples also exhibited significant antimicrobial activity. Sample LE showed the highest extraction yield at 18.77%. Additionally, the results of the phytochemical screening indicate that the four parts of *P. rhoeas* studied contain alkaloids, phenols, flavonoids, tannins, saponins, coumarins, and terpenoids. Moreover, alkaloids were the most abundant secondary metabolites in all four parts, reaching a maximum yield of $14.91\% \pm 0.09$ for the LE sample. Furthermore, the TPT in the LE and FE samples (24.24 mg GAE/g and 22.10 mg GAE/g, respectively) is twice as high as in RE and SE, while the TFT in the four extracts is very similar. In addition, the results of the HPLC-DAD analysis show the presence of four bioactive molecules in our extracts, namely camphorquinone, naringenin, quercetin, and gallic acid. Additionally, the LE and FE samples exhibit superior antioxidant activity with a median inhibitory concentration (IC₅₀) of 0.50 mg/ml and 0.52 mg/ml, respectively, as well as a CAT of 6.60 mg EAA/g and 5.53 mg EAA/g, respectively. Furthermore, extracts from the four parts of *P. rhoeas* showed remarkable antimicrobial activity. Particularly, the SE sample demonstrated a significant antimicrobial effect against all the strains tested, with a low minimum inhibitory concentration (MIC) of 0.78 mg/ml against *Escherichia coli* ATCC 25922. Moreover, the results of the anti-struvite activity demonstrate that the LE and RE samples have a significant inhibition of struvite crystallization, comparable to that of Cystone. Additionally, the results of the in vivo pharmacological activities reveal that the RE sample (400 mg/kg) exhibits the best anti-inflammatory activity, with a percentage inhibition of $95.45 \pm 6.42\%$. Similarly, it demonstrated the best analgesic activity with a number of abdominal contractions of 11 ± 1.73 , while that of rats treated with aspirin was 10.33 ± 0.57 . Furthermore, the FE sample at 300 mg/kg showed an antidepressant effect similar to that of diazepam (5 mg/kg). Finally, the pharmaceutical formulation prepared in cream form exhibited significant stability and demonstrated remarkable analgesic and anti-inflammatory effects in treated rats, with no irritant or sensitizing effects on human skin.

The results obtained in this work suggest a strong therapeutic potential for this plant, paving the way for innovative pharmaceutical applications. Future studies could expand on these findings and further explore pharmaceutical formulations for potential clinical use.

Key Words: *Papaver rhoeas* L.; phytochemical screening; secondary metabolites; phenols; flavonoids; HPLC-DAD; anthocyanins; antimicrobial; antioxidant; anti-struvite; anti-inflammatory; analgesic; antidepressant; pharmaceutical formulation.